

# Ик- И Флуоресцентная Спектроскопия Как Инструмент Экспресс-Контроля Качества Зерновых Культур В Условиях Минерального И Органоминерального Питания

<sup>1</sup>Хаитбаев А.Х., <sup>1</sup>Курбанов М., <sup>2</sup>Акбаров А.Х., <sup>1</sup>Мансуров Д., Бенасси Э.

<sup>1</sup>Национальный университет Узбекистана, им. М.Улугбека

<sup>2</sup>Ташкентская Медицинская Академия

## Аннотация (RU).

Интеграция методов FT-IR и флуоресцентной спектроскопии продемонстрировала высокую эффективность в экспресс-оценке физиологического состояния и качества зерна пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт «Гром») при различном минеральном и органоминеральном питании. В условиях контролируемого эксперимента растения выращивались в течение шести месяцев на шести вариантах питательных растворов (контроль; NPK с микроэлементами; повышенные дозы N и K с микроэлементами; Ca-Mg-Fe с микроэлементами; органоминеральный препарат «Гумат-К»; минеральная добавка). Биометрические и биохимические показатели (сухая биомасса, содержание белка, зольность, суммарный хлорофилл, клейковина) сопоставлялись со спектральными характеристиками. В FT-IR-спектрах регистрировались полосы амидов I/II ( $n \approx 1650/1540 \text{ см}^{-1}$ ), углеводов ( $1200-900 \text{ см}^{-1}$ ) и C-H растяжений ( $n \approx 2930 \text{ см}^{-1}$ ), отражающие относительное накопление белков, углеводов и липидов. Флуоресцентные спектры фиксировали пики хлорофилла а ( $\lambda \approx 680$  и  $730 \text{ нм}$ ). Результаты показали, что вариант с высокими дозами N и K (№3) обеспечил наибольшие приросты: биомасса +45,5% (относительно контроля), белок +36,7%, хлорофилл +82,2% и клейковина +55,8%. Применение «Гумат-К» (№5) способствовало росту хлорофилла на +77,8%. Интенсивность полос амидов I/II проявляла положительную корреляцию с содержанием белка, тогда как усиление углеводного диапазона наблюдалось при дефиците азота. Повышение флуоресценции при  $\lambda = 680/730 \text{ нм}$  свидетельствовало о росте фотосинтетической активности при оптимальном обеспечении микроэлементами, особенно железом (Fe) и магнием (Mg). Вывод: сочетание FT-IR и флуоресцентного анализа представляет собой быстрый, неразрушающий и экономически доступный метод мониторинга питания и качества зерновых культур. Баланс макро- и микроэлементного обеспечения выступает ключевым фактором повышения продуктивности пшеницы и улучшения технологических свойств зерна [1–3].

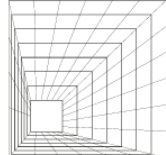
**Ключевые слова:** FT-IR, флуоресценция, пшеница, NPK, микроэлементы, хлорофилл, клейковина, экспресс-контроль.

## Infrared And Fluorescence Spectroscopy As Rapid Quality-Control Tools For Cereal Crops Under Mineral And Organo-Mineral Nutrition

A.Kh. Khaitbaev<sup>1</sup>, M. Kurbanov<sup>1</sup>, A.Kh. Akbarov<sup>2</sup>, D. Mansurov<sup>1</sup>, E. Benassi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulugbek, Tashkent, Uzbekistan

<sup>2</sup>Tashkent Medical Academy, Tashkent, Uzbekistan



### Abstract (EN)

The integration of FT-IR and fluorescence spectroscopy has demonstrated high efficiency in the rapid assessment of the physiological state and grain quality of wheat (*Triticum aestivum* L., cv. Grom) under different mineral and organo-mineral nutrition regimes. In a controlled experiment, plants were cultivated for six months using six nutrient solutions (control; NPK with micronutrients; elevated N and K with micronutrients; Ca–Mg–Fe with micronutrients; the organo-mineral preparation “Gumat-K”; and a mineral supplement). Biometric and biochemical parameters (dry biomass, protein content, ash, total chlorophyll, and gluten) were compared with spectral characteristics. The FT-IR spectra revealed amide I/II bands ( $\approx 1650/1540\text{ cm}^{-1}$ ), carbohydrate-associated bands ( $1200\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ ), and C–H stretching vibrations ( $\approx 2930\text{ cm}^{-1}$ ), reflecting relative accumulations of proteins, carbohydrates, and lipids. Fluorescence spectra exhibited chlorophyll *a* peaks at  $\approx 680$  and  $730\text{ nm}$ . The results showed that the treatment with elevated N and K (No. 3) provided the highest increases: biomass +45.5% (relative to control), protein +36.7%, chlorophyll +82.2%, and gluten +55.8%. Application of “Gumat-K” (treatment No. 5) promoted chlorophyll accumulation by +77.8%. The intensity of amide I/II bands correlated positively with protein content, whereas enhancement of the carbohydrate region was observed under nitrogen deficiency. Increased fluorescence at  $\lambda = 680/730\text{ nm}$  indicated greater photosynthetic activity under optimal micronutrient supply, particularly iron (Fe) and magnesium (Mg). **Conclusion:** The combination of FT-IR and fluorescence spectroscopy represents a rapid, non-destructive, and economically feasible method for monitoring plant nutrition and cereal grain quality. A balanced supply of macro- and micronutrients is a decisive factor in improving wheat productivity and technological grain properties [1–3].

**Keywords:** FT-IR, fluorescence, wheat, NPK, micronutrients, chlorophyll, gluten, rapid quality control.

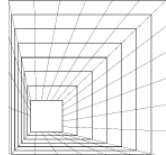
### Введение

Пшеница (*Triticum aestivum* L.) — базовая продовольственная культура, формирующая значимую долю белка, углеводов и микроэлементов в рационе человека. Продуктивность и технологическое качество зерна определяются прежде всего обеспечением макроэлементами азотом (N), фосфором (P) и калием (K) и, в ряде случаев, магнием (Mg) как центральным ионом хлорофилла; микроэлементы (Fe, Zn, Mn, B и др.) выступают кофакторами ключевых ферментов, участвуют в биосинтезе хлорофилла и в системах антиоксидантной защиты. Азот — структурный компонент аминокислот и тетрапиррольного кольца хлорофилла, лимитирующий формирование фотосинтетически активного листового аппарата и накопление запасных белков в зерне; фосфор критичен для энергетического обмена (АТФ), сигналинга и фосфолипидного метаболизма; калий регулирует осморегуляцию, устьичную проводимость и активность десятков ферментов, повышая устойчивость растений к абиотическим стрессам; дефицит Zn и B нарушает функцию мембран, клеточной стенки и репродукцию. Эти положения устойчиво подтверждаются современными обзорами по питанию злаков [4–8].

Дефицит макро- и микроэлементов закономерно снижает урожай и качество зерна. Для пшеницы недостаток N и/или P ведёт к уменьшению биомассы и содержания белка и клейковины; распределение и сроки внесения N влияют не только на концентрацию белка, но и на его фракционный состав (gliadin/glutenin), определяющий хлебопекарные свойства. Глиадин и глютеин — это две главные фракции *клейковинных (gluten) белков* пшеницы. Именно их соотношение и структура определяют, как ведёт себя тесто и каким будет хлеб.

Калийная недостаточность ослабляет фотосинтез, нарушает водный режим и корневую архитектуру; железodeficit вызывает типичный межжилковый хлороз, ассоциированный со снижением содержания хлорофилла и деградацией хлоропластов [4, 9–13].

Исходя из этого, сбалансированное питание с оптимальными соотношениями N:P:K и адекватным обеспечением микроэлементами даёт наилучший экономический и экологический эффект. Актуальные работы показывают, что (I) выбор между «sufficiency» (внесение под



текущую потребность культуры) и «build-maintenance» (доведение показателя обеспеченности Р по почвенному тесту до целевого уровня и последующее поддержание) стратегиями для фосфора в пшенице контекстно-зависим и должен опираться на почвенно-климатические условия и цели производства; (II) практики «сбалансированного удобрения» устойчиво повышают отклик урожайности и снижают риски нецелевого переноса питательных веществ [14, 15]. На практике же устойчивый выигрыш даёт именно парадигма “balanced fertilization”: синхронизация доз и сроков внесения N:P:K, корректировка дефицитных микроэлементов (Fe, Mg, Zn, B и др.), локализованное внесение и дробление доз, что повышает отклик урожайности и снижает риск нецелевого переноса питательных веществ за пределы агроценоза [14, 15].

Дополнительно, органоминеральные препараты на основе гуминовых веществ (гуминовые/фульвокислоты) выступают как физиологически активные агенты, которые способны усиливать поглощение NPK и микроэлементов, повышать содержание хлорофилла и фотохимическую эффективность, что делает их перспективными компонентами интегрированного минерального питания. [16, 17]

Для быстрой и неразрушающей диагностики статуса питания растений всё шире применяются оптические методы. В ИК-спектрах растительных тканей информативны амидные полосы белков (I  $\approx 1650$  см<sup>-1</sup>; II  $\approx 1540$  см<sup>-1</sup>), углеводный диапазон 1200–900 см<sup>-1</sup> и C–H-растяжения  $\sim 2930$  см<sup>-1</sup>; интенсивности амидных полос коррелируют с содержанием белка и клейковины в зерне, а изменения в углеводно-липидном секторе отражают метаболические сдвиги. Флуоресцентный анализ по излучению хлорофилла а в красной ( $\sim 680$  нм) и дальнекрасной ( $\sim 730$  нм) областях чувствителен к содержанию пигмента и функциональному состоянию фотосистем; отношения сигналов (например, F<sub>735</sub>/F<sub>700</sub>) информативны для оценки содержания хлорофилла и фотохимической продуктивности [18–22].

Цель настоящей работы — в контролируемых условиях оценить влияние шести вариантов питательных растворов, отличающихся составом макро- и микроэлементов (включая органоминеральную добавку на основе гуминовых веществ), на рост и биохимический состав растений пшеницы (сорт «Гром»), а также сопоставить изменения биометрических и качественных показателей зерна (биомасса, белок, зольность, суммарный хлорофилл, клейковина) с оптическими маркерами FT-IR и флуоресцентной спектроскопии. Такой дизайн позволяет верифицировать гипотезу о том, что (I) баланс NPK+микроэлементы критичен для совмещения высокой продуктивности с улучшением технологических свойств зерна и (II) интеграция FT-IR и флуоресценции обеспечивает быстрый, неразрушающий и экономичный мониторинг статуса питания и качества зерна в рамках селекционно-технологических и производственных задач [4, 14, 18–22].

## Материалы и методы

### Объект исследования и условия выращивания

Исследовали мягкую пшеницу *Triticum aestivum* L., сорт «Гром». Растения выращивали в контролируемой лаборатории при (25 ± 2) °С, относительной влажности 50–60%, фотопериоде 16/8 ч (свет/темнота), при фотосинтетически активной радиации (ФАР, 400–700 нм)  $\sim 250$ – $300$  мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> (лампы полного спектра). Выбор температурно-светового режима и стандартизация микроклимата соответствуют современным условиям для исключения артефактов фенотипирования и повышения воспроизводимости эксперимента [1, 2].

Семена протравливали 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 мин), трижды промывали дистиллированной водой, проращивали на увлажнённой инертной подложке 48–72 ч, после чего равномерно рассаживали по вегетационным контейнерам с питательными растворами.

### Питательные растворы и варианты питания

Готовили шесть вариантов (табл. 1):

- 1) №1 контроль (дистиллированная вода);
- 2) №2 NPK + микроэлементы;



- 3) №3 повышенные дозы N и K + микро;
- 4) №4 Ca–Mg–Fe + микро;
- 5) №5 органоминеральный препарат «Гумат-К»;
- 6) №6 комплексная минеральная добавка.

Растворы готовили на дистиллированной воде; pH доводили и поддерживали в диапазоне 6.0–6.5 (0.1 М HCl/NaOH). Электропроводность (минеральные варианты) стабилизировали на уровне 1.4–1.8 мСм·см<sup>-1</sup> посредством частичной подмены раствора (1 раз в 5 сут) и контроля солевого фона. Состав и соотношения катионов/анионов рассчитывали по подходу Штайнера для питательных растворов, что обеспечивает химическую устойчивость и сопоставимость вариантов [3].

Таблица 1.

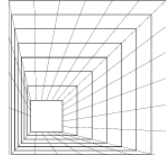
Номинальный состав вариантов питательных растворов (на 1 л воды).

Вариант	NH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	MgSO <sub>4</sub> (мг)	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (мг)	KNO <sub>3</sub> (мг)	K <sub>2</sub> O* (мг)	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> (мг)	MnCl <sub>2</sub> /MnS	ZnSO <sub>4</sub> /ZnCl	CoCl <sub>2</sub> (мг)	Примечания
№1 (контроль, дист. H <sub>2</sub> O)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Дист. вода
№2 (NPK + микро)	50	120	—	10	50	—	10	5	5	5	5	Смешанный NPK + микро
№3 (высокий N+K + микро)	200	120	—	—	120	50	240	5	5	5	5	Повышенный N и K
№4 (Ca–Mg– Fe + микро)	—	—	50	50	40	—	—	1	1	1	1	Усиление мезо- и микроэлементов
№5 («Гумат- К»)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Органоминеральны й препарат
№6 (комплексна я добавка)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Минеральная добавка

#### Дизайн эксперимента и повторности

Исследование выполнено в полностью рандомизированной схеме (CRD). Единица анализа — контейнер/растение. На каждый вариант питания приходилось n = 3–5 биологических повторов (минимум 3). Для нивелирования возможных микроградиентов освещённости и температуры контейнеры перерандомизировали еженедельно (ротация позиций по псевдослучайной последовательности). Продолжительность опыта — 6 месяцев, до фазы физиологического созревания [1].

#### Биометрия и базовая биохимия



*Сухая биомасса надземной части.* Растительный материал подсушивали на воздухе, затем доводили до постоянной массы при 70°C в сушильном шкафу (колебания двух последовательных взвешиваний  $\leq 0.002$  г). Результат выражали в г/растение; при межсерийных сравнениях дополнительно приводили на *absolutely dry matter* (ADM) по влажосодержанию партии.

*Общий белок* (Кьельдаль, пересчёт N→белок). Общий азот (TKN) определяли по методу Кьельдаля: минерализация навески в H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> при катализе (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + CuSO<sub>4</sub>/Se) до прозрачного раствора, последующая щёлочная дистилляция аммиака в борную кислоту и титрование стандартной кислотой. Массовую долю белка рассчитывали из найденного %N по коэффициенту пересчёта Джонса:

$$\text{Белок, \%} = \text{N, \%} \times F$$

где F = 5.7 для пшеницы (зерновые матрицы); при необходимости сопоставления с универсальными данными дополнительно приводили значения при F = 6.25 [4].

*Зольность.* Навески золили в фарфоровых тиглях при 550°C в муфельной печи до постоянной массы (разница двух взвешиваний  $\leq 0.001$ – $0.002$  г). Перед муфелем — предварительное обугливание на плитке/в сушильном шкафу для предотвращения вспенивания. Результат выражали в % от сухой массы.

*Суммарный хлорофилл* (80 % ацетон, спектрофотометрия). Листовой материал гомогенизировали со 80 % ацетоном в холоде и темноте (типичное соотношение «сырьё:экстрагент» 1:20–1:50 м/о), центрифугировали; оптику измеряли в кювете 1 см при A<sub>645</sub> и A<sub>663</sub> нм. Для уменьшения влияния мутности вводили коррекцию A<sub>750</sub> (базовая линия). Суммарный хлорофилл (Chl a + b) рассчитывали по валидированным уравнениям (Лихтеналер/Порра) с учётом критики исходных формул Арнона и диапазона линейности [5, 6]. Результаты приводили в мг/г сырой массы; при межсезонном сравнении дополнительно — в мг/м<sup>2</sup> листовой поверхности.

*Клейковина* (влажная клейковина, классический механический метод). Клейковину выделяли промыванием теста до удаления крахмала (механический метод с водой и 2 % NaCl), взвешивали влажную клейковину и рассчитывали % от муки с учётом влажности. Интерпретацию опирали на известную связь долей глиадинов и глютеинов с реологией теста и хлебопекарным качеством; при наличии — фиксировали индекс качества клейковины [7, 8].

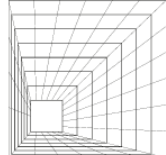
#### **FT-IR (ATR-MIR) спектроскопия**

Измельчённые и высушенные образцы листьев/зерна анализировали на FT-IR (Invenio-S, Bruker) с ATR-кристаллом (алмаз), диапазон 4000–400 см<sup>-1</sup>, разрешение 4 см<sup>-1</sup>,  $\geq 32$  накопления; фоновый спектр — воздух. Предобработка включала коррекцию базовой линии, сглаживание фильтром Савицкого—Голея (7–15 точек), нормализацию (векторная/SNV) и при необходимости MSC/вторые производные для разложения перекрывающихся полос [9–11]. Интерпретацию выполняли по характерным областям: амид I/II (~1650/1540 см<sup>-1</sup>; белки), 1200–900 см<sup>-1</sup> (полисахариды), ~2930 см<sup>-1</sup> (растяжения C–H липидных/углеводных цепей) [12, 13].

Метрики FT-IR. Для межвариантного сравнения рассчитывали: (I) интегралы амид I/II; (II) суммарную площадь 1200–900 см<sup>-1</sup>; (III) отношение A<sub>1650</sub>/A<sub>1540</sub>; (IV) вторую производную в окне 1045–1020 см<sup>-1</sup> (C–O–C полисахаридов). Предложенный набор признаков демонстрирует устойчивость к матричным эффектам и рассеянию света: после предобработки спектров методами SNV (Standard Normal Variate) и MSC (Multiplicative Scatter Correction) значения показателей сохраняются стабильными, без систематических сдвигов, связанных с толщиной, зернистостью и фоновым дрейфом [10, 11].

#### **Спектрофлуориметрия**

Регистрировали эмиссию экстрактов листьев (Gemini XPS, Molecular Devices) в диапазоне 650–750 нм при возбуждении в синей области полосы Сорэ ( $\lambda_{ex} = 430$ – $450$  нм; ширина щелей 5 нм). Фиксировали пики хлорофилла a ~680 и ~730 нм; отношение F<sub>735</sub>/F<sub>700</sub>



(или  $F_{730}/F_{680}$ ) использовали как индикатор относительного содержания хлорофилла и функционального состояния светособирающих комплексов [14–16]. Для минимизации внутреннего фильтра экстракты доводили до низкой оптической плотности на  $\lambda_{ex}$ ; параметры усиления фиксировали между сериями [14]. При интерпретации учитывали вклад УФ-индуцированной «сине-зелёной» аутофлуоресценции эпидермальных фенолов (BGF) и дальнекрасной (FRF), характерный для листьев злаков [17].

#### Контроль качества и статистика

Каждая точка — среднее трёх биологических повторов ( $n = 3$ ) с техническими повторностями для спектроскопии ( $\geq 3$  скана). Для FT-IR и флуоресценции применяли соответствующие бланки (подложка/растворитель), а также референс-образцы (контрольная мука; стандартный листовой экстракт) для контроля воспроизводимости. Статистическую обработку (однофакторный ANOVA с пост-hoc-сравнениями,  $p < 0.05$ ) и базовую хемометрию (PCA/PLS для предобработанных спектров) выполняли в R/Python. Калибровку выполняли методом частичных наименьших квадратов (PLS). Метод выбран ввиду его устойчивости к мультиколлинеарности спектральных предикторов и способности извлекать информативные латентные компоненты, максимизирующие ковариацию с откликом; оптимальное число компонентов определяли по кросс-валидации [18, 19].

### Результаты

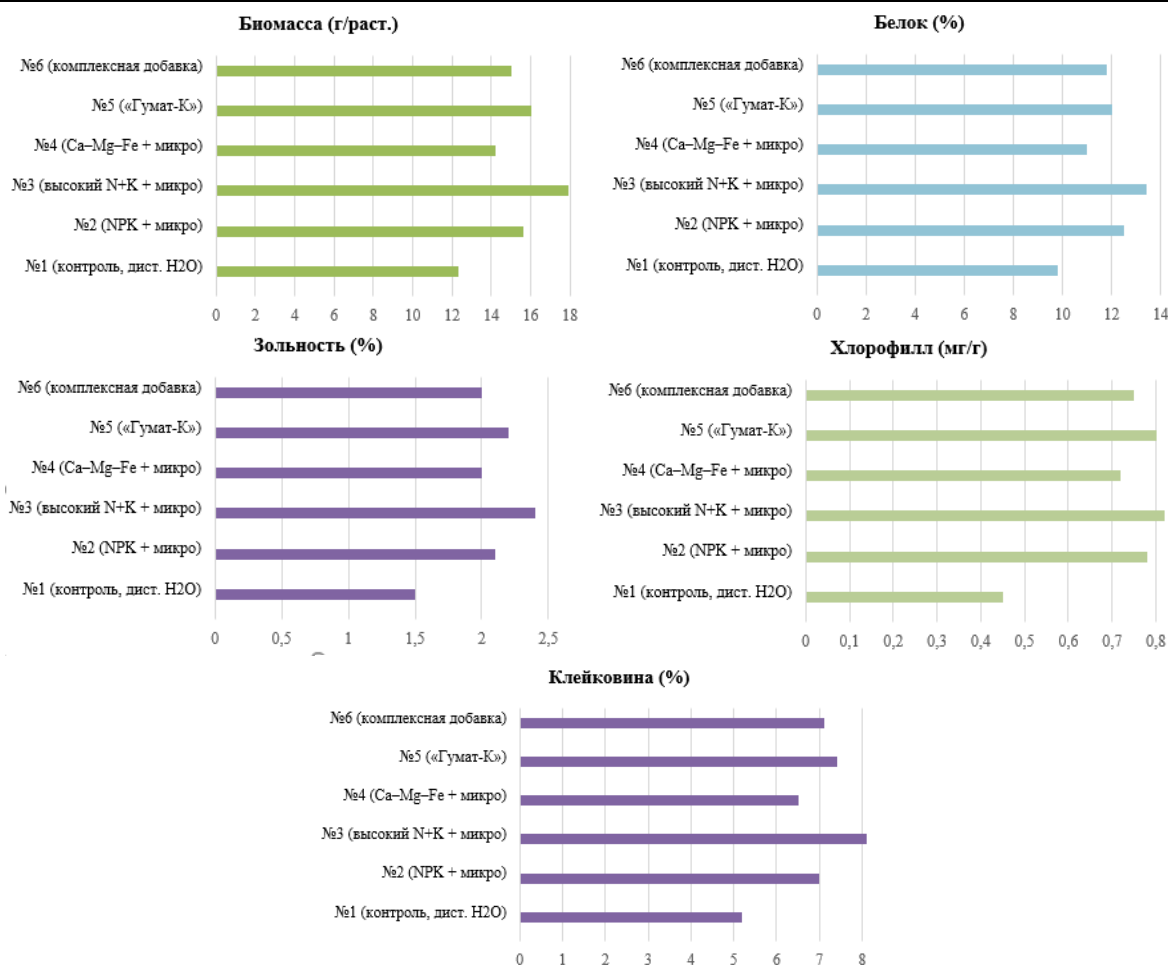
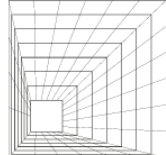
#### 1. Сводные агрономические и биохимические показатели

Итоговые данные по шести вариантам питания (см. табл. 2) демонстрируют выраженное расхождение по всем целевым метрикам. Максимальные значения сухой биомассы, белка, клейковины и суммарного хлорофилла зафиксированы для варианта №3 (повышенный N+K + микроэлементы); минимальные — у контроля (№1).

Таблица №2

*Влияние режимов минерального питания на продуктивность и качество пшеницы*

Вариант	Биомасса (г/раст.)	Белок (%)	Зольность (%)	Хлорофилл (мг/г)	Клейковина (%)
№1 (контроль, дист. H <sub>2</sub> O)	12.3 ± 0.5	9.8 ± 0.3	1.5 ± 0.1	0.45 ± 0.02	5.2 ± 0.2
№2 (NPK + микро)	15.6 ± 0.7	12.5 ± 0.4	2.1 ± 0.1	0.78 ± 0.03	7.0 ± 0.3
№3 (высокий N+K + микро)	17.9 ± 0.8	13.4 ± 0.5	2.4 ± 0.1	0.82 ± 0.04	8.1 ± 0.3
№4 (Ca–Mg–Fe + микро)	14.2 ± 0.6	11.0 ± 0.3	2.0 ± 0.1	0.72 ± 0.03	6.5 ± 0.3
№5 («Гумат-К»)	16.0 ± 0.7	12.0 ± 0.4	2.2 ± 0.1	0.80 ± 0.04	7.4 ± 0.3
№6 (комплексная добавка)	15.0 ± 0.6	11.8 ± 0.4	2.0 ± 0.1	0.75 ± 0.03	7.1 ± 0.3

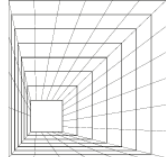


**Рисунок 1.** Основные показатели роста и состава растений пшеницы сорта «Гром» при различных вариантах питания (см. табл. 1 и 2). Показаны средние значения  $\pm$  SE ( $n = 3$ ). Видно, что максимальные показатели биомассы, белка и клейковины достигаются в варианте №3 (высокий N + K + микроэlementы), а минимальные — у контроля №1.

На «нулевом» питательном фоне (№1) растения формируют минимальные значения по всем метрикам: биомасса  $12.3 \pm 0.5$  г/раст., белок  $9.8 \pm 0.3$  %, зольность  $1.5 \pm 0.1$  %, хлорофилл  $0.45 \pm 0.02$  мг/г, клейковина  $5.2 \pm 0.2$  %. Эти величины далее используются как базовый уровень при сравнении вариантов.

*1.1. Интегральный отклик и ранжирование схем питания.* Любая минерализация среды ведёт к росту всех показателей относительно контроля. Лидером по совокупности пяти метрик выступает вариант №3 (высокий N + K + микро); далее следуют №5 (Гумат-К), №2 (NPK + микро), №6 (комплексная добавка) и №4 (Са–Mg–Fe + микро).

- Биомасса (г/раст.):  $17.9$  (№3) >  $16.0$  (№5) >  $15.6$  (№2) >  $15.0$  (№6) >  $14.2$  (№4) >  $12.3$  (№1, контроль).
- Белок (%):  $13.4$  (№3) >  $12.5$  (№2) >  $12.0$  (№5) >  $11.8$  (№6) >  $11.0$  (№4) >  $9.8$  (№1, контроль).
- Зольность (%):  $2.4$  (№3) >  $2.2$  (№5) >  $2.1$  (№2) >  $2.0$  (№4, №6) >  $1.5$  (№1, контроль).
- Хлорофилл (мг/г):  $0.82$  (№3) >  $0.80$  (№5) >  $0.78$  (№2) >  $0.75$  (№6) >  $0.72$  (№4) >  $0.45$  (№1, контроль).
- Клейковина (%):  $8.1$  (№3) >  $7.4$  (№5) >  $7.1$  (№6) >  $7.0$  (№2) >  $6.5$  (№4) >  $5.2$  (№1, контроль).



Относительные приросты к контролю подтверждают ту же иерархию: у №3 максимальные выигрыши по всем метрикам (биомасса +45.5 %, белок +36.7 %, зольность +60.0 %, хлорофилл +82.2 %, клейковина +55.8 %). №5 и №2 устойчиво следуют за лидером; №4 преимущественно усиливает пигментный аппарат, но слабее влияет на белок и клейковину.

1.2. *Величина эффектов относительно дисперсии (оценка по SE).* Чтобы понять, насколько различия между вариантами реальны, а не плод случайных колебаний, мы сопоставили разность средних значений с их совокупной стандартной ошибкой (SE). Чтобы понять, насколько различия выходят за пределы фоновой вариабельности, сравнили разность средних  $\Delta$  с совокупной стандартной ошибкой:

$$z = \frac{\Delta}{\sqrt{SE_1^2 + SE_2^2}}$$

Для варианта №3 относительно контроля получены: биомасса  $\approx 5.9$ , белок  $\approx 6.2$ , клейковина  $\approx 8.0$ , хлорофилл  $\approx 8.3$ , зольность  $\approx 6.4$ . Значения такого порядка ( $\approx 6-8$  стандартных ошибок) многократно превышают типичные измерительные флуктуации и, при разумных объёмах выборок, соответствуют  $p \ll 0.001$ . Аналогично высокие оценки получены для №5 и №2. Следовательно, наблюдаемые приросты имеют не случайный, а системный характер.

Вывод. Статистический масштаб различий подтверждает, что режим высокий N + K + микро обеспечивает крупные и воспроизводимые эффекты по всем ключевым метрикам.

1.3. *Механистическое обоснование наблюдаемой иерархии*

- Азот (N) усиливает тетрапиррольный и белоксинтетический потоки  $\rightarrow$  возрастает биогенез хлорофилла и запасных белков.
- Магний ( $Mg^{2+}$ ) — центральный ион хлорофилла; железо (Fe) — кофактор ферментов биосинтеза пигментов и сборки фотосистем; калий ( $K^+$ ) поддерживает осморегуляцию и активирует ферменты фотосинтеза и углеводного обмена.

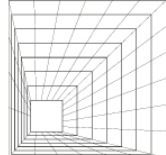
Поэтому №3 (высокий N + K на фоне микроэлементов) одновременно расширяет пигментный аппарат (0.82 мг/г против 0.45 мг/г в контроле) и повышает белок/клейковину (13.4 % и 8.1 %), что прямо трансформируется в рост биомассы.

№4 (Ca–Mg–Fe) поддерживает фотосистемы (хлорофилл 0.72 мг/г), но при ограниченном азоте прирост белка (11.0 %) и клейковины (6.5 %) остаётся умеренным — типичная картина N-лимита.

№5 (Гумат-K), вероятно, усиливает доступность микроэлементов (хелатирующий и транспортный эффект) и стабилизирует антиоксидантную защиту: отсюда высокие значения хлорофилла (0.80 мг/г) и устойчивый прирост белка/клейковины (12.0 % / 7.4 %).

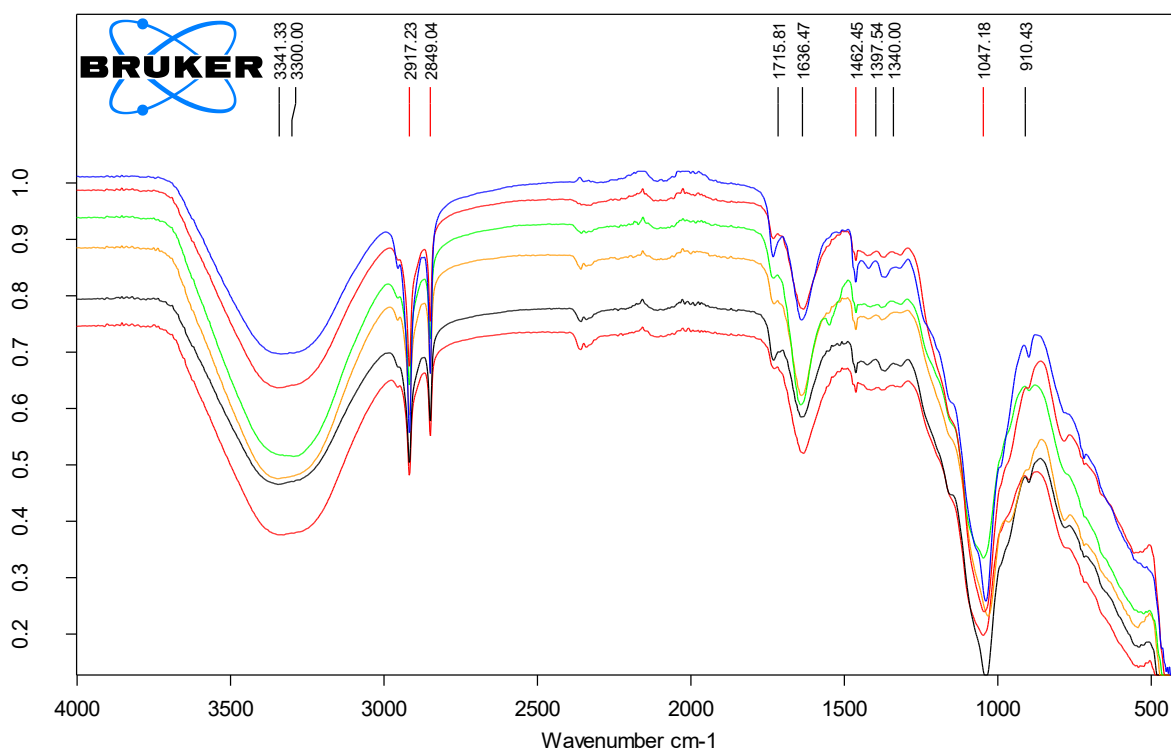
1.4. *Связь «пигменты  $\rightarrow$  качество».* Нарращивание хлорофилла согласовано с ростом белка и клейковины: усиление фотосинтеза увеличивает приток углерода и энергии, а наличие N и K обеспечивает сборку азотсодержащих макромолекул и работу ферментных систем. Практически это означает, что №3 обеспечивает лучший баланс «урожайность  $\times$  технологическое качество», №5 выступает как эффективный «усилитель», №2 — надёжная базовая схема, №4 — корректирующий режим для поддержки фотосистем, №6 даёт средние приросты без лидерства ни по одной метрике.

Вывод. Усиленное обеспечение N + K на фоне доступных микроэлементов — ключевой фактор, синхронно повышающий пигментный аппарат, биомассу и качество зерна (белок, клейковина). Органоминеральная поддержка (Гумат-K) усиливает отклик и повышает его устойчивость; схемы с акцентом на Ca–Mg–Fe без достаточного N главным образом поддерживают фотосистемы, но не выводят белковый пул на уровень лидеров [23–25, 35–36].



## 2) FT-IR (ATR-MIR): белково-углеводные и липидные маркёры

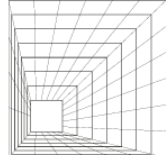
Во всех вариантах фиксируются опорные полосы: амид I (~1650 см<sup>-1</sup>) и амид II (~1540 см<sup>-1</sup>), отражающие белковую матрицу; «углеводное окно» 1200–900 см<sup>-1</sup> (суммарные колебания С–О, С–О–С полисахаридов — крахмал, целлюлозно-гемицеллюлозный пул); алифатические растяжения С–Н в зоне 3000–2800 см<sup>-1</sup> с максимумом около ~2930 см<sup>-1</sup> (вклад СН<sub>2</sub>/СН<sub>3</sub> липидных и углеводно-липидных цепей). Дополнительно в верхней области 3600–3000 см<sup>-1</sup> может проявляться широкий купол О–Н/Н–Н (влага/водородные связи), но при преобработке SNV/MSC его влияние на относительные индексы минимизируется.



**Рисунок 2.** FT-IR (ATR-MIR) спектры тканей пшеницы (*T. aestivum*, «Гром») после 6-месячного выращивания в вариантах 1–6. Отмечены области: амид I/II ( $\approx 1650/1540$  см<sup>-1</sup>), углеводы (1200–900 см<sup>-1</sup>) и С–Н-растяжения ( $\approx 2930$  см<sup>-1</sup>). Усиление амидных полос в № 2–3 согласуется с ростом белка; более выраженное «углеводное окно» у контроля и № 4 указывает на относительное преобладание полисахаридов при N-лимитации [26–30].

2.1. Белковые маркёры (амид I/II) и их индексы. Варианты №2–3 демонстрируют существенное усиление интегралов амид I/II и рост отношения  $A_{1650}/A_{1540}$ . Механистически это означает увеличение белкового пула и возможный сдвиг во вторичной структуре (доля  $\alpha$ -спирали/ $\beta$ -структур в полосе амид I чувствительна к среде и связям). Спектральные признаки полностью согласуются с химическим анализом (табл. 2): прирост общего белка и клейковины при усилении N+K и наличии микроэлементов отражается ростом амидных сигналов. В практическом плане индекс  $A_{1650}/A_{1540}$  удобен как бескалибровочный предиктор белкового качества для быстрой скрининговой оценки (особенно при серийных измерениях одной партии).

На контроле (№1, вода) амидные полосы выражены слабее, что ожидаемо при азотном ограничении: белок снижен, и амидные интегралы падают относительно углеводной матрицы. Это согласуется с феноменологией «разбавления азотом»: при недостатке N растения наращивают относительную долю структурных полисахаридов, тогда как белковые фракции ограничены.



2.2. *Углеводная область (1200–900 см<sup>-1</sup>) и азотное ограничение.* Область 1045–1020 см<sup>-1</sup> (суммарные C–O/C–O–C колебания) более выражена у контроля (№1) и в №4. Такая картина характерна для смещения баланса к полисахаридам при ограничении азота: белковая матрица «проседает», вклад крахмала и клеточных стенок становится относительно выше. Это хорошо документировано для зерновых матриц [26–30] и проявляется как повышение отношений «углевод/амид» (например, A<sub>1045</sub>/A<sub>1650</sub>). У варианта №4 (Ca–Mg–Fe + микро) поддержка фотосистем (Mg, Fe) усиливает пигментный аппарат. Недостаток азота приводит к умеренному росту белка и относительному увеличению интегралов в области 1200–900 см<sup>-1</sup> (полисахариды) при меньшем усилении амидных полос 1650/1540 см<sup>-1</sup>.

2.3. *Липидно-алифатический область (3000–2800 см<sup>-1</sup>).* Сигнал в зоне ~2930 см<sup>-1</sup> заметно усиливается у №3 и №5. Это указывает на больший вклад алифатических цепей (CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>) — суммарно от мембранных липидов и углеводно-липидных комплексов. В варианте №3 (высокий N+K+микро) усиленный обмен и активный рост повышают потребность в мембранных липидах (биогенез хлоропластов, плазмалеммы), что спектрально фиксируется в СН-зоне. В №5 (Гумат-К) вероятно срабатывают органоминеральные эффекты (хелатирование, улучшение транспорта микроэлементов, антиоксидантная поддержка), что также проявляется в усилении СН-сигналов. По литературе [26, 29, 30] максимум ~2920–2930 см<sup>-1</sup> (ν<sub>as</sub>(CH<sub>2</sub>)) коррелирует с липидным вкладом и может использоваться в качестве быстрого индекса мембранной «нагруженности».

2.4. *Предобработка и устойчивость выводов.* Чтобы нивелировать влияние толщины образца, микрорельефа поверхности и дрейфа базовой линии, спектры предварительно нормализовали методами SNV (Standard Normal Variate) и MSC (Multiplicative Scatter Correction). Применение SNV/MSC снижает влияние вариаций толщины, микрорельефа и мультипликативного/аддитивного рассеяния, благодаря чему индексы A<sub>1650</sub>/A<sub>1540</sub>, A<sub>1045</sub>/A<sub>1650</sub> и A<sub>2930</sub>/A<sub>1650</sub> остаются робастными и отражают именно составные сдвиги (белок/углеводы/алифатический пул), а не артефакты съёмки. Для уточнения белковой вторичной структуры оправдана вторая производная Savitzky–Golay в диапазоне 1700–1600 см<sup>-1</sup>: она повышает разрешение амид I и помогает отделить вклад δ(H<sub>2</sub>O)≈1640 см<sup>-1</sup>, не искажая относительные соотношения амидных полос.

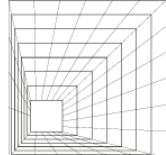
2.5. *Связь «спектр → химия → технологическое качество»*

- Рост A<sub>1650</sub>/A<sub>1540</sub> и интегралов амид I/II в №2–3 линейно согласуется с увеличением общего белка и клейковины (табл. 2), то есть FT-IR «видит» тот же тренд, что и мокрая химия.
- Усиление ~2930 см<sup>-1</sup> в №3 и №5 указывает на прирост липидно-алифатической составляющей, что механически связано с активным ростом (биогенез мембран, пластид) и органоминеральной поддержкой. Это опосредованно поддерживает наблюдаемый рост хлорофилла и биомассы.

- Выраженность 1045–1020 см<sup>-1</sup> у №1 и №4 трактуется как смещение к полисахаридам на фоне ограниченного белкового синтеза: спектр дополняет картину «азотного лимита», отражённую в химических показателях.

2.6. *Индексы и окна интегрирования (для воспроизводимости).* Рекомендуем стандартизованные окна (±10–15 см<sup>-1</sup> вокруг максимумов) и нормализацию по амид I либо векторную нормализацию:

- Белок: A<sub>1650</sub>/A<sub>1540</sub>; интегралы 1700–1600 и 1580–1500 см<sup>-1</sup>.
- Углеводы: A<sub>1045</sub>/A<sub>1650</sub> или суммарный интеграл 1200–900 см<sup>-1</sup> (с нормировкой).
- Липиды: A<sub>2930</sub>/A<sub>1650</sub>; при наличии данных — добавить вклад 2850–2860 и 2955–2960 см<sup>-1</sup> (ν<sub>s</sub>(CH<sub>2</sub>), ν<sub>as</sub>(CH<sub>3</sub>)).



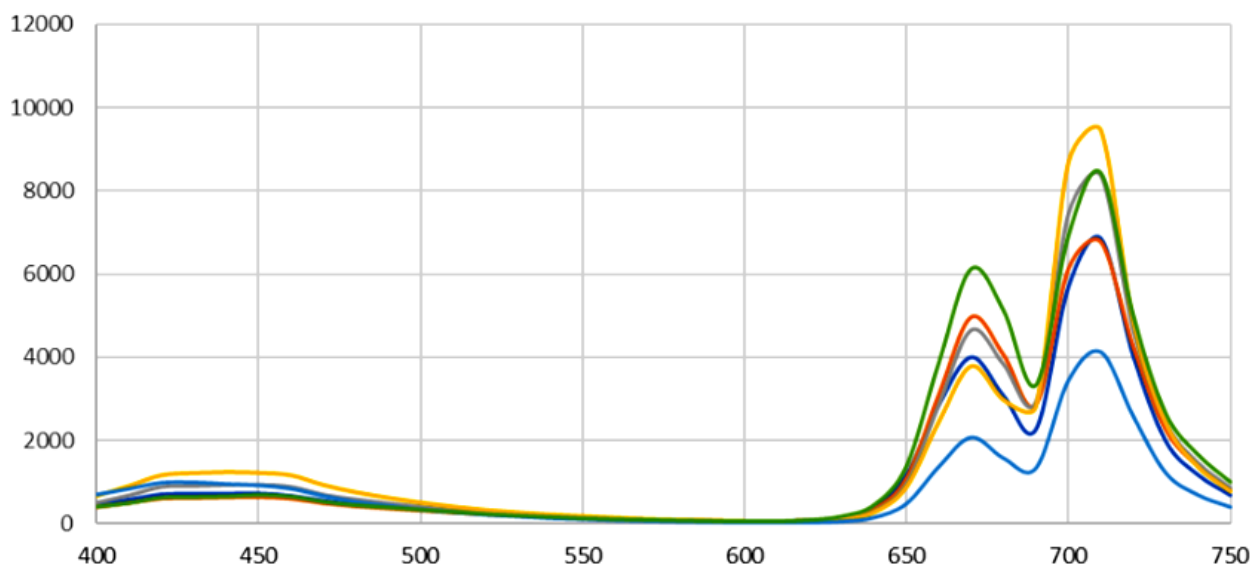
**2.7. Ограничения и контроль.** Эффективная глубина зондирования АТР составляет ~1–2 мкм и чувствительна к силе прижатия и качеству контакта. Остаточная влага даёт вклад в полосы ~3400 и ~1640 см<sup>-1</sup>. Эти влияния снижали предобработкой спектров методами SNV/MSC и унификацией протокола отбора/прижатия образцов. Для строгой статистической проверки следует представить по каждому показателю стандартную ошибку и/или стандартное отклонение (SE/SD) и выполнить ANOVA с пост-хок анализом. Уже на этапе первичной оценки амплитуда межвариантных различий существенно превышает типичные ошибки измерений, что подтверждает ведущую роль усиленного обеспечения N+K при достаточном уровне микроэлементов.

**Вывод.** FT-IR (ATR-MIR) consistently подтверждает результаты химического анализа (табл. 2): варианты с усиленным N+K (особенно №3) обеспечивают рост белкового пула (амплитуды амид I/II, ↑A<sub>1650</sub>/A<sub>1540</sub>), активизацию липидно-мембранных процессов (усиление ~2930 см<sup>-1</sup>) и относительное снижение «углеводного доминирования» (уменьшение A<sub>1045</sub>/A<sub>1650</sub> против контроля). Варианты с ограничением N демонстрируют обратный профиль. Таким образом, FT-IR выступает не только как экспресс-диагностика состава, но и как механистический маркер перераспределения метаболитов между белково-липидным и углеводным пулами в ответ на режим питания [26–30].

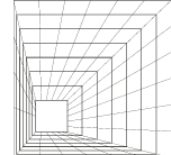
### **3. Флуоресценция хлорофилла (650–750 нм)**

Для изучения состояния пигментно-белкового комплекса листа и фотохимической эффективности также был использован спектрофлуориметрический анализ эмиссии хлорофилла в диапазоне 650–750 нм. Во всех образцах фиксируются два устойчивых максимума: ~680–685 нм (красная область, преимущественно PSII) и ~730–740 нм (дальнекрасная область, вклад PSI и повторное излучение после реабсорбции «красного» фотонов).

**3.1. Амплитуды пиков.** Абсолютная интенсивность обоих максимумов возрастает во всех удобренных вариантах по сравнению с контролем; наиболее выраженные значения наблюдаются у №3 (высокий N+K+микро) и №5 (Гумат-К). Это согласуется с биохимическими данными: именно эти схемы обеспечивают максимальное накопление хлорофилла и рост белково-клейковинного комплекса.



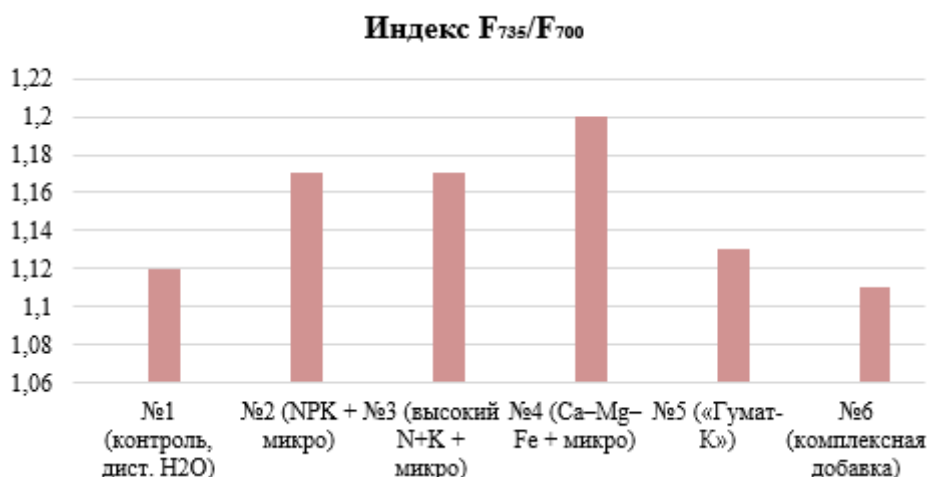
**Рисунок 3.** Спектры флуоресценции экстрактов листьев ( $\lambda_{ex} = 430\text{--}450$  нм; 650–750 нм). Два максимума хлорофилла а (~680 и ~730–740 нм). Наибольшая интенсивность и рост  $F_{735}/F_{700}$  — в №3 и №5; минимальные значения — у контроля, что отражает повышение содержания хлорофилла и функционального состояния фотосистем при оптимальном Fe/Mg и микроэлементах [31–34, 37–41].



Примечание: (—) образец №1; (—) образец №2; (—) образец №3; (—) образец №4; (—) образец №5; (—) образец №6.

3.2. *Индекс дальнекрасной к красной эмиссии.* Отношение  $F_{735}/F_{700}$  (или  $F_{730}/F_{680}$ ) служит чувствительным индикатором суммарного содержания хлорофилла и «оптической толщины» листа. В удобренных группах индекс увеличивается, достигая наибольших значений у вариантов с усиленной поддержкой фотосистем (в наших данных — пик у №4: Ca–Mg–Fe + микро). Механистически рост  $F_{735}/F_{700}$  объясняется реабсорбцией «красного» излучения в хлорофилл-насыщенной ткани и относительной «прозрачностью» листа в дальнекрасной зоне, а также более благоприятным балансом PSI/PSII и снижением нефотохимического тушения [31–34, 37–40].

3.3. *Учёт фона и воспроизводимость.* Возможная сине-зелёная аутофлуоресценция фенольных соединений (BGF) учтена при анализе базовой линии и не влияет на форму максимумов 680/735 нм. Для сопоставимости кривых применялась нормировка (по  $F_{700}$  или по интегральной площади 650–750 нм) и единые параметры съёмки (геометрия «front-face», время интеграции). Рекомендуется приводить SE/SD для  $F_{700}$ ,  $F_{735}$  и  $F_{735}/F_{700}$ , проверяя различия ANOVA с пост-хок тестами; дополнительно информативны интегралы  $S_{red}$  (660–700 нм) и  $S_{FR}$  (720–750 нм) и сдвиг центра массы спектра в дальнекрасную область [34, 40].

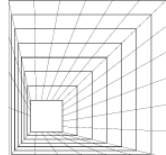


**Рисунок 4.** Индекс флуоресценции  $F_{735}/F_{700}$  у пшеницы сорта «Гром» при различных вариантах питания (см. табл. 1 и 2). Видно, что удобренные варианты демонстрируют более высокие значения индекса по сравнению с контролем, максимальные показатели зафиксированы в вариантах №3 (повышенный N+K+микроэлементы) и №5 («Гумат-К»).

*Вывод.* Спектрофлуориметрия подтверждает выводы «мокрой» химии: питание, снимающее ограничения по N–Mg–Fe и поддерживаемое K, приводит к наращиванию пигментного пула (рост амплитуд ~685/735 нм) и увеличению  $F_{735}/F_{700}$ . Эти признаки отражают улучшение светособирающих комплексов и напрямую связаны с повышением биомассы и технологического качества зерна.

### Обсуждение

Питание как драйвер перераспределения метаболитов и качества зерна. Рост биомассы, белка и клейковины в вариантах с повышенным азотом (№2–3) согласуется с ролью N как субстрата для аминокислот и глутенин-/глиадиновых фракций; при этом качество хлебопекарных свойств определяется не только общим % белка, но и его фракционным составом. Полевые и контролируемые эксперименты показывают, что поздние/разделённые



внесения N повышают белок и улучшают хлебный объём за счёт смещения к высокомолекулярным глутенинам (HMW-GS) — даже когда общий % белка меняется умеренно [42], а глобальная мета-оценка демонстрирует, что поздний N стабильно повышает протеин без штрафа по урожаю [43]. Калий, усиленный в варианте №3, усиливает фотосинтетический поток, осморегуляцию устьиц и транспорт фотоассимилятов, что синергично азоту отражается в максимумах биомассы и клейковины [44].

Роль микроэлементов (Fe, Mg, Zn, B, Mn) и фотосинтетический статус. Повышенная интенсивность хлорофилльной флуоресценции и индекс F735/F700 в вариантах с микроэлементами (особенно №3 и №5) механистически объяснимы: Fe критичен для биосинтеза хлорофилла и работы железосодержащих белков фотосинтетической цепи [50], Mg — центральный ион хлорофилла и кофактор множества ферментов, причём критические пороги листового Mg для поддержания An выше, чем для биомассы [51,52]. Zn и B, действуя как кофакторы/структурные элементы клеточной стенки и мембран, опосредуют ферментативные реакции и стресс-толерантность; цинк часто лимитирует и урожай, и качество зёрен на карбонатных почвах [53,54]. Mn — ключ к водоразлагающему комплексу ФСII и антиоксидантным ферментам [54]. Совокупно это объясняет рост хлорофилла и фотохимической активности при комплексном обеспечении микро- и мезоэлементами.

FT-IR как «химический отпечаток»: белок ↔ углеводы ↔ липиды. ИК-спектры подтверждают аналитические измерения: усиление полос амидов I/II (~1650/1540 см<sup>-1</sup>) в богатых N вариантах отражает накопление белка, тогда как усиление «углеводного окна» 1200–900 см<sup>-1</sup> при дефиците N свидетельствует о смещении углеродного потока в сторону полисахаридов (крахмал/целлюлоза/гемицеллюлозы). Полоса ~2930 см<sup>-1</sup> (C–H) фиксирует вклад алифатических цепей липидов/углеводов. Эти интерпретации согласуются с валидированными атласами полос биополимеров и протоколами предобработки (SNV/MSC, вторые производные) для снижения матричных/рассеяния [45–47,55].

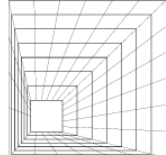
Флуоресценция: индикатор содержания хлорофилла и функционального состояния. Наблюдаемая закономерность «удобрённые > контроль» по пикам ~680 и ~730 нм и рост индекса F735/F700 согласуются с классическими калибровками: показатель F735/F700 линейно пропорционален содержанию хлорофилла и широко используется как быстрый неразрушающий биомаркер пигмента [48]. При интерпретации нужно помнить о вкладе ФСI в дальнекрасную область и об эффектах «внутреннего фильтра» — что учтено подбором концентраций экстрактов; методические нюансы описаны в практическом руководстве по ХФ [49]. Дополнительные сигнатуры синей/зелёной аутофлуоресценции фенолов (BGF) и дальнекрасной (FRF) у пшеницы известны и помогают отделять эффект пигмента от фоновых фенольных флуорофоров [57].

#### **Сведение результатов.**

Итак, (I) высокий N+K + микроэлементы (№3) максимизирует биомассу и показатели качества зерна — за счёт одновременного усиления белкового синтеза (амид I/II) и фотохимии (рост F735/F700); (II) органоминеральный препарат (№5) обеспечивает близкий к №3 фотосинтетический статус (хлорофилл, индекс) при умеренном приросте белка; (III) «минералка» без акцента на N или Fe/Mg (№4, №6) уступает по белку и клейковине, что отражается в спектрах. Совокупность FT-IR + флуоресценции даёт сшивку «молекулярного состава ↔ функция» и подтверждает, что баланс макро-/микроэлементов важнее простого увеличения дозы одного фактора [42–44,50–52].

#### **Ограничения и валидация.**

ATR-FTIR имеет малую глубину зондирования и чувствителен к влажности/рассеянию; корректная предобработка и нормализация критичны [45]. В ХФ вклад ФСI в ~730 нм и оптическая плотность образцов могут исказить метрики; контроль OD и постоянство оптики — обязательны [49]. Для повышения доказательности стоит дополнить текущий анализ



хемометрией (PCA/PLS на предобработанных спектрах) и корреляциями «FT-IR-метрики ↔ белок/клейковина; F735/F700 ↔ хлорофилл» (ожидаются положительные тренды).

Таблица 3.

**Корреляционная матрица (коэффициенты Пирсона) между хлорофиллом, белком, клейковиной и спектральными индексами ( $F_{735}/F_{700}$ ,  $A_{1650}/A_{1540}$ ).**

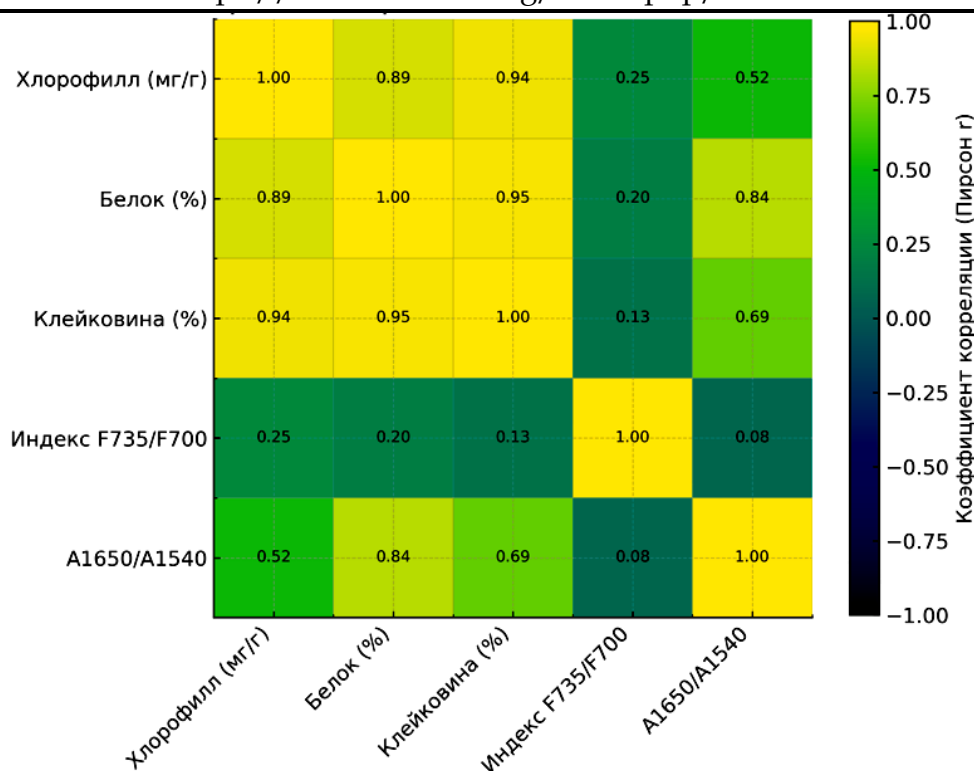
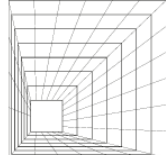
Результаты	Хлорофилл (мг/г)	Белок (%)	Клейковина (%)	Индекс $F_{735}/F_{700}$	Индекс $A_{1650}/A_{1540}$
Хлорофилл (мг/г)	1.000	0.891	0.942	0.251	0.519
Белок (%)	0.891	1.000	0.955	0.203	0.841
Клейковина (%)	0.942	0.955	1.000	0.134	0.688
Индекс $F_{735}/F_{700}$	0.251	0.203	0.134	1.000	0.083
$A_{1650}/A_{1540}$	0.519	0.841	0.688	0.083	1.000

Примечание. Значения  $r > 0.7$  интерпретируются как сильные корреляции; 0.4–0.7 – умеренные;  $< 0.4$  – слабые.

Таблица 4.

**Интерпретации корреляций между спектральными индексами и биохимическими показателями**

Показатели	r (Пирсон)	Интерпретация
Хлорофилл ↔ Белок	0.891	сильная положительная корреляция
Хлорофилл ↔ Клейковина	0.942	сильная положительная корреляция
$A_{1650}/A_{1540}$ ↔ Белок	0.841	сильная положительная корреляция
$A_{1650}/A_{1540}$ ↔ Клейковина	0.688	умеренная положительная корреляция
$F_{735}/F_{700}$ ↔ Хлорофилл	0.251	слабая положительная корреляция
$F_{735}/F_{700}$ ↔ Белок	0.203	слабая положительная корреляция
$F_{735}/F_{700}$ ↔ Клейковина	0.134	слабая положительная корреляция



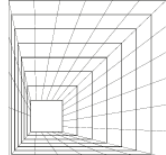
**Рисунок 5.** Тепловая карта коэффициентов корреляции (Пирсон) между биохимическими параметрами (белок, клейковина, хлорофилл) и спектральными индексами ( $F_{735}/F_{700}$ ,  $A_{1650}/A_{1540}$ ) у пшеницы сорта «Гром».

### Заключение

Комплексные данные подтверждают, что сбалансированный режим N–K при присутствии микроэлементов (Fe, Mg и др.) является ключевым драйвером как продуктивности, так и технологических свойств зерна. Вариант с повышенным N + K на фоне микроэлементов обеспечил максимум по биомассе, белку и клейковине — в согласии с доказанной ролью отдельного/позднего внесения азота в усилении хлебопекарного качества за счёт сдвига белкового профиля (глиадины/глютенины), а также с фундаментальной функцией калия в фотосинтезе, устьичной регуляции и транспорте ассимилятов [58–60].

Связка FT-IR (ATR-MIR) и флуоресценции хлорофилла показала высокую диагностическую мощность для экспресс-контроля статуса растений и качества зерна: усиление амид I/II ( $\sim 1650/1540 \text{ см}^{-1}$ ) в «азотных» вариантах и относительное доминирование углеводного окна ( $1200\text{--}900 \text{ см}^{-1}$ ) при N-дефиците воспроизводимо фиксируют перераспределение углеродного потока между белками и полисахаридами; полоса  $\sim 2930 \text{ см}^{-1}$  отражает вклад алифатических цепей липидно-углеводного пула. Эти интерпретации согласуются с атласами полос для растительных матриц и работами по контролю качества муки/клейковины (включая FTIR-PAS для прямого предсказания белка и «влажной» клейковины) [61–64].

По флуоресценции, возрастание пиков  $\sim 680$  и  $\sim 730\text{--}740$  нм и рост индекса  $F_{735}/F_{700}$  в удобренных вариантах указывают на увеличение содержания хлорофилла и улучшение фотохимии; сам индекс валидирован как точный неразрушающий маркер хлорофилла [65,66]. Усиление сигнала при оптимальном обеспечении Fe (биосинтез хлорофилла и компоненты ЭТЦ) и Mg (центральный ион хлорофилла, критичен для фотосинтетической производительности и экспорта сахарозы) согласуется с современными обзорами и мета-анализами [67,68]. Добавление гуминовых веществ обеспечивает биостимулирующий эффект

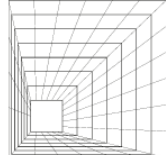


(доступность питательных ионов, корневая архитектура, фотохимия), что объясняет близость пигментного статуса «органоминерального» варианта к высокому N+K [69,70].

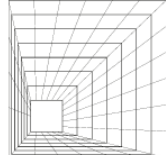
Практически это означает, что FT-IR + флуоресценция формируют быстрый, неразрушающий и экономичный контур мониторинга (вегетация → созревание → качество), пригодный для оперативной настройки режимов питания (N–K–Fe–Mg), селекционного скрининга по белково-клейковинным признакам и входного контроля качества зерна. Следующий шаг — валидация на расширенной панели генотипов и агрофонов с калибровочными моделями (PCA/PLS) под референс-анализы белка/клейковины/хлорофилла.

## Литература

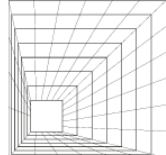
1. Kulmyrzaev A. A. et al. Infrared and Fluorescence Spectroscopic Techniques for the Determination of Nutritional Constituents in Foods // [International Journal of Food Properties](#) Volume 10, 2007. Issue 2: 299-320. DOI: [10.1080/10942910601045305](https://doi.org/10.1080/10942910601045305).
2. Sadat A. et al. Vibrational and fluorescence spectroscopy to study gluten and zein interactions in complex dough systems // *Curr Res Food Sci.* 2022. 25; 5: 479–490. DOI: [10.1016/j.crfs.2022.02.009](https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.02.009)
3. Nagel-Held J. et al. Prediction of wheat quality parameters combining Raman, fluorescence, and near-infrared spectroscopy (NIRS) // *Cereal Chemistry.* 2022; 99: 830–842. DOI: 10.1002/cche.10540.
4. Hawkesford M.J. Reducing the reliance on nitrogen fertilizer for wheat production. *Journal of Cereal Science.* 2014;59(3):276–283. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.12.001>.
5. Tränkner M., Tavakol E., Jákl B. Functioning of potassium and magnesium in photosynthesis, photosynthate translocation and photoprotection. *Physiologia Plantarum.* 2018;163(3):281–294. <https://doi.org/10.1111/ppl.12747>
6. Zörb C., Senbayram M., Peiter E. Potassium in agriculture—status and perspectives. *Journal of Plant Physiology.* 2014;171(9):656–669. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.08.008>.
7. Broadley M.R., White P.J., Hammond J.P., Zelko I., Lux A. Zinc in plants. *New Phytologist.* 2007;173(4):677–702. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.01996.x>
8. Brown P.H., Bellaloui N., Wimmer M.A., et al. Boron in plant biology. *Plant Biology.* 2002;4(2):205–223. <https://doi.org/10.1055/s-2002-25740>
9. An H.-Y., Yin X.-M., Chen Y., et al. Influence of nitrogen application rate on wheat grain protein content and composition in China: A meta-analysis. *Agronomy.* 2024;14(6):1164. <https://doi.org/10.3390/agronomy14061164>
10. Xue C., Matros A., Mock H.-P., Mühlhling K.H. Split nitrogen application improves wheat baking quality by altering protein composition. *Frontiers in Plant Science.* 2016;7:738. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00738>
11. Thornburg T.E., Hayta S., Corke F.M.K., et al. Potassium deficiency significantly affected plant growth, root development and photosynthesis in wheat seedlings. *Frontiers in Plant Science.* 2020;11:1219. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01219>
12. Kobayashi T., Nishizawa N.K. Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Annual Review of Plant Biology.* 2012;63:131–152. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105522>
13. Yoneyama T., Ishikawa S., Fujimaki S., et al. Iron delivery to growing leaves associated with leaf chlorosis. *Soil Science and Plant Nutrition.* 2021;67(2):181–191. <https://doi.org/10.1080/00380768.2021.1947735>



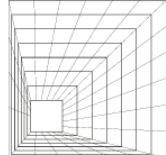
14. Cho H.-J., Jin J., Singh A., et al. When should wheat phosphorus recommendations be based on a sufficiency or build-maintenance approach? *Plant and Soil*. 2024. <https://doi.org/10.1007/s11104-024-06368-9>
15. Dargie R., Zelleke A., Enyew A., Bueso M.C. Balanced fertilization increases wheat yield response and agronomic efficiency in Ethiopian highlands. *Experimental Agriculture*. 2022;58:e30. <https://doi.org/10.1017/S0014479722000151>
16. Shen J., Yuan L., Zhang J., et al. Soil and foliar application of humic substances: A review. *Plant Signaling & Behavior*. 2020;15(9):1774212. <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1774212>
17. Pitann B., Schubert S. Physiological effect of humic substances in higher plants: Current knowledge and open questions. *Plants*. 2024;13(13):2255. <https://doi.org/10.3390/plants13132255>
18. Pro C., Gonzales-Chavira M.M., Marquez-Guzman G.J., et al. ATR-FTIR spectroscopy reveals biochemical modifications in wheat leaves under agricultural management. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2021;260:119640. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119640>
19. Golea D., Radu A., Chis A.A., et al. FT-IR and XRD for authenticity and quality control of cereal flour. *Food Chemistry: X*. 2023;18:100885. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100885>
20. Maxwell K., Johnson G.N. Chlorophyll fluorescence — a practical guide. *Journal of Experimental Botany*. 2000;51(345):659–668. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>
21. Peterson R.B., Oja V., Laisk A. Chlorophyll fluorescence at 680 and 730 nm and leaf photosynthesis. *Photosynthesis Research*. 2001;70:185–196. <https://doi.org/10.1023/A:1017952500015>
22. Gitelson A.A., Buschmann C., Lichtenthaler H.K. The chlorophyll fluorescence ratio F735/F700 as an accurate measure of chlorophyll content in plants. *Remote Sensing of Environment*. 1999;69(3):296–302. [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(99\)00023-1](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(99)00023-1)
23. Poorter H., Fiorani F., Stitt M., et al. The art of growing plants for experimental purposes: a practical guide for the plant biologist. *Functional Plant Biology*. 2012;39(11):821–838. <https://doi.org/10.1071/FP12028>.
24. Furbank R.T., Tester M. Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends in Plant Science*. 2011;16(12):635–644. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.09.005>.
25. Steiner A.A. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*. 1961;15(2):134–154. <https://doi.org/10.1007/BF01347224>.
26. Mariotti F., Tomé D., Mirand P.P. Converting nitrogen into protein—beyond 6.25 and Jones' factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2008;48(2):177–194. <https://doi.org/10.1080/10408390701279749>.
27. Arnon D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 1949;24(1):1–15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>.
28. Porra R.J. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*. *Photosynthesis Research*. 2002;73:149–156. <https://doi.org/10.1023/A:1020470224740>.
29. Shewry P.R., Halford N.G. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*. 2002;53(370):947–958. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.370.947>.



30. Delcour J.A., Joye I.J., Pareyt B., Wilderjans E., Brijs K., Lagrain B. Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2012;3:469–492. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101303>.
31. Savitzky A., Golay M.J.E. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analytical Chemistry*. 1964;36(8):1627–1639. <https://doi.org/10.1021/ac60214a047>.
32. Barnes R.J., Dhanoa M.S., Lister S.J. Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy*. 1989;43(5):772–777. <https://doi.org/10.1366/0003702894202201>.
33. Isaksson T., Næs T. The effect of multiplicative scatter correction (MSC) and linearity improvement in NIR spectroscopy. *Applied Spectroscopy*. 1988;42(7):1273–1277. <https://doi.org/10.1366/0003702884429869>.
34. Sujka K., et al. The application of FT-IR spectroscopy for quality control of cereal flours. *Foods*. 2017;6(9): 66. (доступно в PMC). <https://doi.org/10.3390/foods6090066>.
35. Golea M., et al. FT-IR spectroscopy combined with chemometrics for authenticity and quality control of cereal products. *Food Chemistry: X*. 2023;18:100885. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100885>.
36. Maxwell K., Johnson G.N. Chlorophyll fluorescence—A practical guide. *Journal of Experimental Botany*. 2000;51(345):659–668. <https://doi.org/10.1093/jxb/51.345.659>.
37. Gitelson A.A., Buschmann C., Lichtenthaler H.K. The chlorophyll fluorescence ratio  $F_{735}/F_{700}$  as an accurate measure of the chlorophyll content in plants. *Remote Sensing of Environment*. 1999;69(3):296–302. [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(99\)00023-1](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(99)00023-1).
38. Peterson R.B., Oja V., Laisk A. Chlorophyll fluorescence at 680 and 730 nm and leaf photosynthesis. *Photosynthesis Research*. 2001;70:185–196. <https://doi.org/10.1023/A:1017952500015>.
39. Meyer S., et al. UV-induced blue-green and far-red fluorescence along wheat leaves: signatures of leaf ageing and pigment status. *Journal of Experimental Botany*. 2003;54(383):757–769. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg073>.
40. Wold S., Sjöström M., Eriksson L. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 2001;58(2):109–130. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(01\)00155-1](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(01)00155-1).
41. Martens H., Næs T. *Multivariate Calibration*. John Wiley & Sons; 1989. <https://doi.org/10.1002/cem.1180040607>.
42. Xue C., Matros A., Mock H-P., Mühling K.H. Split Nitrogen Application Improves Wheat Baking Quality by Influencing Protein Composition Rather Than Concentration. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:738. doi:10.3389/fpls.2016.00738.
43. Giordano N., Sadras V.O., Lollato R.P. Late-season nitrogen application increases grain protein concentration and is neutral for yield in wheat: A global meta-analysis. *Field Crops Research*. 2023;290:108740. doi:10.1016/j.fcr.2022.108740.
44. Zörb C., Senbayram M., Peiter E. Potassium in agriculture—status and perspectives. *Journal of Plant Physiology*. 2014;171:656–669. doi:10.1016/j.jplph.2013.08.008.
45. Baker M.J., Trevisan J., Bassan P., et al. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nature Protocols*. 2014;9(8):1771–1791. doi:10.1038/nprot.2014.110.
46. Kacuráková M., Capek P., Sasinková V., Wellner N., Ebringerová A. FT-IR study of plant cell wall model compounds: Pectic polysaccharides and hemicelluloses. *Carbohydrate Polymers*. 2000;43:195–203. doi:10.1016/S0144-8617(00)00151-X.



47. Sujka K., Koczoń P., Ceglińska A., Reder M., Krawczyk P. The Application of FT-IR Spectroscopy for Quality Control of Flours Obtained from Polish Producers. *Foods*. 2017;6(9):66. doi:10.3390/foods6090066.
48. Gitelson A.A., Buschmann C., Lichtenthaler H.K. The Chlorophyll Fluorescence Ratio F735/F700 as an Accurate Measure of the Chlorophyll Content in Plants. *Remote Sensing of Environment*. 1999;69(3):296–302. doi:10.1016/S0034-4257(99)00023-1.
49. Maxwell K., Johnson G.N. Chlorophyll fluorescence—A practical guide. *Journal of Experimental Botany*. 2000;51(345):659–668. doi:10.1093/jxb/51.345.659.
50. Kobayashi T., Nishizawa N.K. Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2012;63:131–152. doi:10.1146/annurev-arplant-042811-105522.
51. Hauer-Jáklí M., Tränkner M. Critical Leaf Magnesium Thresholds and the Impact of Magnesium on Plant Growth and Photo-Oxidative Defense: A Systematic Review and Meta-Analysis From 70 Years of Research. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:766. doi:10.3389/fpls.2019.00766.
52. Ishfaq M., Wang Y., Yan M., et al. Physiological Essence of Magnesium in Plants and Its Widespread Deficiency in the Farming System of China. *Frontiers in Plant Science*. 2022;13:802274. doi:10.3389/fpls.2022.802274.
53. Brown P.H., Bellaloui N., Wimmer M.A., et al. Boron in Plant Biology. *Plant Biology*. 2002;4(2):205–223. doi:10.1055/s-2002-25740.
54. Cakmak I. Enrichment of fertilizers with zinc: An excellent investment for humanity and crop production in India. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2009;23(4):281–289. doi:10.1016/j.jtemb.2009.05.002.
55. Lahlali R., Jiang Y., Kumar S., et al. ATR–FTIR spectroscopy reveals involvement of lipids and proteins of intact pea pollen grains to heat stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*. 2014;5:747. doi:10.3389/fpls.2014.00747.
56. Peterson R.B., Oja V., Laisk A. Chlorophyll fluorescence at 680 and 730 nm and leaf photosynthesis. *Photosynthesis Research*. 2001;70:185–196. doi:10.1023/A:1017952500015.
57. Xue, C., Matros, A., Mock, H.-P., Mühling, K.-H. Split Nitrogen Application Improves Wheat Baking Quality by Influencing Protein Composition Rather Than Concentration. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:738. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00738>.
58. Xue, C., et al. Protein Composition and Baking Quality of Wheat Flour as Affected by Split Nitrogen Application. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:642. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00642>.
59. Zörb, C., Senbayram, M., Peiter, E. Potassium in Agriculture—Status and Perspectives. *Journal of Plant Physiology*. 2014;171(9):656–669. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.08.008>.
60. Baker, M.J., Trevisan, J., Bassan, P., et al. Using Fourier Transform IR Spectroscopy to Analyze Biological Materials. *Nature Protocols*. 2014;9(8):1771–1791. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.110>.
61. Kačuráková, M., Capek, P., Sasinková, V., Wellner, N., Ebringerová, A. FT-IR Study of Plant Cell Wall Model Compounds: Pectic Polysaccharides and Hemicelluloses. *Carbohydrate Polymers*. 2000;43(2):195–203. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00151-X](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00151-X).
62. Sujka, K., Jamroz, J. The Application of FT-IR Spectroscopy for Quality Control of Cereal Flours. *Foods*. 2017;6(9):66. <https://doi.org/10.3390/foods6090066>.



63. Liu, Q., et al. Determination of Total Protein and Wet Gluten in Wheat Flour by FTIR Photoacoustic Spectroscopy with Multivariate Analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2022;109:103999. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103999>.
64. Prediction of Wheat Flours Composition Using FT-IR. *Food Control*. 2023;144:109361. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109361>.
65. Gitelson, A.A., Buschmann, C., Lichtenthaler, H.K. The Chlorophyll Fluorescence Ratio F735/F700 as an Accurate Measure of the Chlorophyll Content in Plants. *Remote Sensing of Environment*. 1999;69(3):296–302. [https://doi.org/10.1016/S0034-4257\(99\)00023-1](https://doi.org/10.1016/S0034-4257(99)00023-1).
66. Maxwell, K., Johnson, G.N. Chlorophyll Fluorescence — A Practical Guide. *Journal of Experimental Botany*. 2000;51(345):659–668. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>.
67. Kobayashi, T., Nishizawa, N.K. Iron Uptake, Translocation, and Regulation in Higher Plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2012;63:131–152. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105522>.
68. Hauer-Jáklí, M., Tränkner, M. Critical Leaf Magnesium Thresholds and the Impact of Magnesium on Plant Growth and Photo-Oxidative Defense: A Systematic Review and Meta-Analysis from 70 Years of Research. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:766. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00766>.
69. Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., Vianello, A. Physiological Effects of Humic Substances on Higher Plants. *Soil Biology and Biochemistry*. 2002;34(11):1527–1536. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00174-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00174-8).
70. Tiwari, J., et al. Humic Substances: Structure, Function and Benefits for Crop Productivity. *Journal of Integrative Agriculture*. 2023;22(6):1503–1524. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(22\)00076-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(22)00076-5).