АНОТАЦІЯ

Макар О.О. Фізіологічні основи продуктивності і якості зерна ярої пшениці – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 «Біологія» (галузь знань 09 «Біологія»). – Львівський національний університет імені Івана Франка. – Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, 2023.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню фізіологічних основ формування якісного зерна 24 генотипів ярої пшениці (*Triticum aestiv*um L., *T. durum* Desf., *T. turgidum* subsp. *dicoccum*) української селекції, зокрема плівчастої пшениці полби, з акцентом на вміст Феруму (Fe), Цинку (Zn), Купруму (Cu) та ідентифікування бактерій-ендофітів пшениці і вивчення їх потенційного зв'язку з врожайністю та якістю зерна.

Пшениця (*Triticum* spp.) є однією з найбільш культивованих культур в Україні та у світі загалом. В дослідженні використано 15 сортів пшениці м'якої (*T. aestiv*um L.), адже саме вона найбільш часто використовується як основний компонент хлібних виробів; 8 сортів пшениці твердої (*T. durum* Desf.) із високим вмістом білків, клітковини і мінералів; 1 сорт пшениці полба (*T. turgi*dum subsp. *dicoccum*), однієї з найдавніших плівчастих пшениць із високим вмістом мікроелементів (Fe, Zn) та вітамінів, низьким вмістом клейковини. Всі досліджувані сорти є нові, внесені до Державного реєстру сортів придатних для вирощування в Україні з 2000 по 2017 рр..

Найближчими роками необхідно підвищити якість зерна пшениці та її виробництво у достатній кількості для населення, яке до 2100 року збільшиться на 36 %. Водночас, багаторічна селекція пшениці попередніх років, спрямована на підвищення врожайності, супроводжувалася зниженням якості зерна внаслідок зменшення вмісту білків, мікроелементів та вітамінів. Саме тому покращення харчової цінності зерна пшениці є одним із пріоритетних напрямків сучасних досліджень генетиків, фізіологів та селекціонерів.

“Прихований голод”, спричинений нестачею вітамінів і мікроелементів є актуальною проблемою харчування і здоров’я для 2 млрд. людей у світі, це найпоширеніша форма недоїдання, особливо відзначають дефіцити Цинку (Zn), Феруму (Fe), Йоду (I), вітаміну А та фолієвої кислоти. Вивчення складних фізіологічних механізмів поглинання і підтримки необхідної концентрації мікроелементів в рослинних тканинах, пошук і дослідження сортів пшениці з підвищеною здатністю до їх накопичення в зерні – необхідна передумова для розробки ефективних способів біофортифікації, екологічно безпечних технологій, які би доповнювали фенотипову пластичність і адаптаційну здатність рослин. Бактеріальні ендофіти можуть служити інструментами для розробки нових стратегій біофортифікації та продовольчої безпеки. Цей підхід передбачає вивчення взаємодій між бактеріями та рослинами, їх ролі у підвищенні родючості та збагаченні його доступними мікроелементами внаслідок солюбілізації, мобілізації та переміщення потрібних елементів до різних органів рослини. Проблема сьогодні є недостатньо досліджена, проте перспективна, про що свідчить зростання кількості наукових публікацій останніми роками, тому це стало підставою для виконання досліджень за темою дисертації.

Проведено аналіз основних фізико-хімічних властивостей ґрунтів двох різних за біодоступністю мікроелементів дослідних ділянок, оскільки, обмежену біодоступність мікроелементів вважають основною причиною їх низького вмісту в зерні пшениці. Виявлено низьку біодоступність мікроелементів на карбонатних ґрунтах ділянки Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E). Дерново-підзолисті суглинкові ґрунти ділянки Д. Лужок (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E) характеризувались слабо-кислим pH, нижчим, порівняно з ділянкою Дмитрів, вмістом органічної речовини ґрунту (ОРГ) та вищою біодоступністю мікроелементів.

Вищі морфометричні показники, зокрема, довжина кореня і висота пагона для всіх досліджуваних сортів пшениці ярої спостерігали на чорноземних слаболужних ґрунтах ділянки Дмитрів. Показано існування позитивних кореляційних зв’язків між площею прапорцевого листка та врожайністю зерна на ділянці Дмитрів ($r = 0,23^{**}$) та слабкі позитивні кореляції на ділянці Д. Лужок ($r = 0,07^{**}$).

В умовах польового експерименту враховано посухостійкість досліджуваних сортів пшениці за результатами визначення показників водного дефіциту (WD), відносного вмісту води (RWC), водоутримної здатності у перерахунку на масу (EL WLW) і площу (EL WLA) прапорцевих листків впродовж вегетаційного сезону 2018 р. із низьким рівнем опадів і високими температурами. Показники EL WLW та EL WLA можна рекомендувати як додаткові показники стійкості пшениці до водного стресу. Підтверджено відмінності в реакції на посуху серед сортів пшениці м'якої і твердої (*T. aestivum* і *T. durum*). Відзначено високу посухостійкість сорту МІП Райдужна та виокремлено сорти з високою врожайністю та посухостійкістю: Жізель (тверда), Голіковська (полба) і Сімкода миронівська (м'яка).

Підтверджено, що окрім умов навколишнього середовища та агротехнічних заходів, значний вплив на врожайність та її структуру має вид і сорт пшениці. Середня врожайність пшениці у 2017 р. на ділянці Дмитрів була на 67 % вищою ніж на ділянці Д. Лужок, та становила 51,57 ц/га та 16,91 ц/га відповідно. У 2018 р. на ділянці Дмитрів отримано вищу врожайність зерна на 53 %. Встановлено вищі показники врожайності для м'яких сортів пшениці.

Загальний вміст білка в зерні пшениці становив від 8,65 до 17,21 %. Вищий вміст білків в зерні спостерігали на дерново-буроземних суглинкових ґрунтах ділянки Д. Лужок із слабо-кислим pH, нижчим вмістом ОРГ та вищою біодоступністю мікроелементів. Сорти з високою здатністю до накопичення білків в зерні за різних умов мінерального живлення: Етюд, Колективна 3, Династія, Ізольда та Голіковська.

В результаті аналізу отриманих нами даних, зокрема, врожайності та структури врожаю, припущено, що сорти м'якої пшениці – Дубравка, Оксамит миронівський, та твердої – Чадо, Династія, є стійкішими до факторів навколишнього середовища, із властивою їм вищою адаптаційною пластичністю до умов вирощування, за умов різного забезпечення мінеральними елементами. Проведено кореляційний аналіз між врожайністю та елементами її структури; найбільше позитивних кореляцій виявлено між врожайністю зерна (ВЗ) та кількістю зерен в колосі (КЗК), масою 1000 зерен (МТЗ), висотою колоса (ВК).

Підтверджено залежність концентрації Fe, Zn та Cu в органах пшениці від вмісту їх доступних форм в ґрунті. Виявлено сортові особливості накопичення елементів.

Досліджено здатність сортів акумулювання Fe, Zn та Cu в прапорцевих листках та колосах з подальшим їх завантаженням в зерно. Встановлено кореляції між концентраціями мікроелементів, що може вказувати на існування одного або кількох спільних генетичних і фізіологічних механізмів, залучених до поглинання мінеральних елементів кореневою системою, їх переміщення та перерозподіл в тканинах рослин, з подальшим завантаженням та накопиченням в зерні. Згідно з отриманими даними, найбільше Fe та Cu накопичувалося в прапорцевих листках, а Zn в зерні. За умов різного мінерального живлення тверді сорти накопичували більше Zn, ніж м'які сорти. На ділянці Д. Лужок тверді сорти накопичували майже вдвічі більше Zn, ніж м'які. За умов вищої біодоступності Fe на ділянці Д. Лужок його концентрація в органах пшениці була в середньому на 30 % вищою. Проте, не встановлено різниці в розподілі Fe між м'якими та твердими сортами. Таким чином, вищі концентрації Zn в зерні отримано за умов росту на ґрунтах з вищою біодоступністю даного елемента. Вищий вміст Fe та Cu виявлено в зерні отриманому з ділянки Д. Лужок, що пояснюється високою біодоступністю. Показано, що сорти *T. turgidum* накопичували більше Cu, ніж *T. aestivum*. Сильні позитивні залежності виявлено між концентрацією Fe та Cu в зерні для обох дослідних ділянок.

З'ясовано, що вища врожайність властива для сортів за умов вирощування на чорноземах карбонатних порід з високим вмістом органічної речовини ґрунту та низькою біодоступністю Fe, Cu та Zn, проте, якість зерна в цих умовах нижча: вміст мікроелементів та білків за таких умов був низьким.

Розрахований коефіцієнт біологічного накопичення дозволив порівняти сортову здатність кожного генотипу поглинати елементи з ґрунту та транспортувати їх до зерна. У результаті кластерного аналізу виокремлено сорти зі схожими дослідними ознаками. Тверді та м'які сорти пшениці ярої формували окремі кластери на обох дослідних ділянках із різним рівнем забезпеченості

елементами мінерального живлення.

Враховуючи результати врожайності, здатності до акумулювання мікроелементів, кореляційного та кластерного аналізу відібрано 4 контрастні сорти пшениці: Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та Голіковська. Для обраних сортів розраховано величину фактора транслокації (ФТ). Вищі величини ФТ Fe та Cu – зерно/колос ніж зерно/прапорцевий листок, свідчить про більшу залежність концентрації Fe та Cu в зерні від їх вмісту в колосі ніж від вмісту в прапорцевому листку на даному етапі онтогенезу.

В результаті кореляційного аналізу головних компонент (biplot PCA) для обраних сортів встановлено позитивну залежність ВЗ з КЗК, МТЗ, концентрацією Cu і Fe, та негативну з концентрацією Zn. Згідно з даними biplot PCA сорт полба Голіковська накопичує високі концентрації Zn при невисокій врожайності. Сорти Дубравка та Оксамит миронівський виділялись високими концентраціями Cu та Fe в зерні, на відміну від сорту Струна миронівська. Окрім того, сорт Оксамит миронівський вирізнявся найвищими концентраціями Fe, Zn та Cu в зародках упродовж двох років дослідження.

В роботі вперше ідентифіковано бактеріальні ендофіти зерна та з отриманих *in vitro* вегетативних органів проростків пшениці ярої сортів Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та Голіковська, які різнились за здатністю накопичувати Fe, Zn та Cu за їх низької біодоступності. З зерна пшениці ярої ізольовано, культивовано та ідентифіковано 20 штамів бактерій ендофітів, які представляли роди *Staphylococcus, Pantoea, Sphingobium, Bacillus, Kosakonia, Micrococcus, Kocuria* та *Corynebacterium.* Визначені нуклеотидні послідовності бактеріальних ендофітів внесено в базу GenBank під немерами MT302194 – MT302204, MT312840 та OP445710 – OP445717. Культивовані штами продемонстрували здатність синтезувати та виділяти в культуральне середовище ауксин-подібні сполуки (IRCs макс.: 16,57 мкг/мл). IRCs, продуковані бактеріями роду *Pantoea* spp. та *Bacillus* spp. із зерна високоврожайних сортів Оксамит миронівський та Голіковська, можна вважати одним із визначальних факторів формування врожайності зерна пшениці та його поживних характеристик.

Обговорюється ймовірна роль окремих штамів ендофітних бактерій у накопиченні мікроелементів у зерні різних сортів пшениці та їх можливий вплив на врожайність та основні її компоненти.

В результаті метагеномного аналізу тканин коренів та листків проростків пшениці, отриманих в стерильній культурі *in vitro*, ідентифіковано 14 родів бактерій: *Propionibacterium, Bacillus, Staphylococcus, Lactobacillus, Leuconostoc, Streptococcus, Veillonella, Bradyrhizobium, Paracoccus, Variovorax, Oxalobacter, Enterobacter, Erwinia* та *Acinetobacter*. Доведено, що стерильні зародки стали початковою точкою формування ендофітного мікробіому проростків пшениці вирощеної в стерильних умовах *in vitro*. Встановлено факт вертикальної передачі ендофітних бактерій родів *Staphylococcus* та *Bacillus*. Вперше виділено та ідентифіковано бактеріальні ендофіти зерна і тканин листків та коренів *T. turgidum* subsp. *dicoccum.*

Отримані результати дають нові знання про взаємозв'язки між ендофітними бактеріями зерна, концентраціями Fe, Cu та Zn в зерні та врожайністю пшениці ярих сортів *T. aestivum* і *T. turgidum* subsp. *dicoccum*, у польових умовах за обмеженої біодоступністю цих елементів.

Дані щодо концентрації мікроелементів в зерні, із врахуванням мінерального складу ґрунту порівняно з видовим складом бактеріальних ендофітів. Отримані результати дозволяють припустити ймовірний вплив ендофітної колонізації на діапазон надходження мікроелементів у рослину, їх доставку до репродуктивних органів та завантаження в зерно.

Бактерії роду *Pantoea* виділені з зерна сорту Оксамит миронівський характеризувались високою здатністю до синтезу ауксинів, окрім того, цей сорт вирізнявся високою врожайністю та концентрацією Fe, Cu в зерні. Сорт полба Голіковська при низькій врожайності, виділявся високим коефіцієнтом біоакумуляції Zn та високою концентрацією цього мікроелемента в зерні, а бактерії роду *Bacillus* отримані з цього сорту продемонстрували високий рівень синтезу ауксинів. Ауксини, що виробляються ендофітними бактеріями сприяють підкисленню ризосфери що в свою чергу покращує поглинання та транспорт

елементів. Одержані результати свідчать про ймовірну перспективність використання штамів *Pantoea* spp. U.MO2, U.MO3 та *Bacillus* spp. U.H2 з метою підвищення врожайності та покращення мікроелементного складу зерна. Представлена робота являє собою інноваційний підхід до аналізу впливу мікробіому рослин (фітомікробіому) на харчову цінність зерна пшениці ярої. Ендофітний мікробіом може вибірково впливати на низку факторів, необхідних для отримання високого врожаю при відносно низьких виробничих потужностях, і в той же час може сприятливо впливати на харчову цінність зерна пшениці. Детальний аналіз складу та функцій ендофітного мікробіому пшениці ярої може сприяти розробці нової групи біопрепаратів – фітопробіотиків.

***Ключові слова**: Triticum* spp., стрес, посуха, посухостійкість, мікроелементи: Fe, Zn, Cu, білок, врожайність, продуктивність, бактерії-ендофіти, колонізація кореня, ріст-стимулювальні властивості, біосинтетичний потенціал, ІОК, біофортифікація, *in vitro.*

SUMMARY

Makar O.O. Physiological basis of productivity and grain quality of spring wheat – Qualifying scientific work on the right of the manuscript.

Thesis for a degree of Doctor of Philosophy on specialty 091 «Biology» (field of knowledge 09 Biology). – Ivan Franko National University of Lviv. – Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, 2023.

The dissertation is focused on the study of the physiological bases of the formation of the quality grain of 24 genotypes of spring wheat (*Triticum aestivum* L., *T. durum* Desf., *T. turgidum* subsp. *dicoccum*) of Ukrainian selection, including flaky spelled wheat, with an emphasis on the content of Iron (Fe), Zinc (Zn), Copper (Cu) and the identification of wheat endophyte bacteria and the study of their relationship with grain yield and quality.

Wheat (*Triticum* spp.) is one of the most cultivated crops in Ukraine and the world. Fifteen varieties of soft wheat (*T. aestivum* L.) were used in the study because it is the most often used as the main component of bread products; 8 varieties of durum wheat (*T. durum* Desf.) with a high content of proteins, fiber and minerals; 1 variety of spelled wheat (*T. turgidum* subsp. *dicoccum*), *T. dicoccum*, one of the oldest durum kinds of cereal with high content of trace elements (Mg, Fe, Zn) and vitamins, low gluten content. All studied varieties are new and entered into the State Register of varieties suitable for cultivation in Ukraine from 2000 to 2017.

In the coming years, it is necessary to improve the quality of wheat grain and its production in sufficient quantity for the population, which will increase by 36 % by 2100. At the same time, the multi-year selection of wheat in previous years, aimed at improving the yield, was accompanied by a decrease in the quality of the grain due to a reduction of the content of proteins, microelements, and vitamins. That is why improving the nutritional value of wheat grain is one of the priority areas of modern research by geneticists, physiologists, and breeders.

“Hidden hunger” caused by a lack of vitamins and microelements is an urgent problem of nutrition and health for 2 billion people worldwide. It is the most common form of malnutrition, especially deficiencies of Zinc (Zn), Iron (Fe), Iodine (I), vitamin,

and folic acid. The study of complex physiological mechanisms of absorption and maintenance of the necessary concentration of trace elements in plant tissues, the search and research of wheat varieties with the increased ability to accumulate them in the grain is an essential prerequisite for the development of effective methods of biofortification, environmentally safe technologies that would complement the phenotypic plasticity and adaptability of plants. Bacterial endophytes can serve as tools for developing new strategies for biofortification and food security. This approach involves the study of interactions between bacteria and plants, their role in increasing fertility, and enriching it with available trace elements as a result of solubilization, mobilization, and movement of the necessary elements to various plant organs. Today, the problem is insufficiently researched, but it is promising, as evidenced by the increase in scientific publications in recent years, so this became the basis for researching the dissertation topic.

An analysis of the main physicochemical properties of the soils of two experimental plots with different bioavailability of microelements was carried out since the limited bioavailability of microelements is considered the main reason for their low content in wheat grains. The low bioavailability of trace elements on the carbonate soils of the Dmytriv area (50°13'26.6"N 24°36'50.5" E) was revealed. On the other hand, sod-podzolic loamy soils of the D. Luzhok site (49°27'17.5"N 23°23'02.6" E) were characterized by a slightly acidic pH lower compared to the Dmytriv site, the content of soil organic matter (SOM) and higher bioavailability of trace elements.

Higher morphometric indicators, in particular, root length and shoot height, for all studied spring wheat varieties were observed on black earth, slightly alkaline soils of the Dmytriv site. The existence of positive correlations between the area of the flag leaf and grain yield at the Dmytriv plot ($r = 0,23^{**}$) and weak positive correlations at the D. Luzhok plot ($r = 0,07^{**}$) were shown.

In the conditions of the field experiment, the drought resistance of the investigated wheat varieties was taken into account based on the results of determining the indicators of water deficit (WD), relative water content (RWC), excised leaves water loss weight (EL WLW) and excised leaves water loss per area (EL WLA) of flag leaves during the 2018 growing season, with low rainfall and high temperatures. Indicators EL WLW and

EL WLA can be recommended as additional indicators of wheat resistance to water stress. Differences in response to drought among soft and hard wheat varieties (*T. aestivum* and *T. durum*) were confirmed. The high drought resistance of the MIP Raiduzhna variety was noted, and the varieties with high yield and drought resistance were singled out: Zhizel' (hard), Holikovs'ka (emmer), and Simkoda myronivska (soft).

It has been confirmed that, in addition to environmental conditions and agrotechnical measures, the type and variety of wheat significantly impact yield and its structure. For example, the average yield of wheat in 2017 on the Dmytriv plot was 67 % higher than on the D. Luzhok plot and was 51.57 qt/ha and 16.91 qt/ha, respectively. In 2018, a 53 % higher grain yield was obtained at the Dmytriv site. In addition, higher grain yields were established for soft wheat varieties.

The total protein content in wheat grain ranged from 8.65 to 17.21 %. The higher content of proteins in grain was observed on sod-brown loamy soils with slightly acidic pH, lower SOM content, and higher trace elements' bioavailability. Varieties with an increased ability to accumulate proteins in grain under different conditions of mineral nutrition: Etiud, Kolektyvna 3, Dynastiia, Izol'da, and Holikovs'ka.

As a result of the analysis of the data we received, in particular, the yield and structure of the crop, it was assumed that the varieties of soft wheat – Dubravka, Oksamyt myronivs'kyi, and hard – Chado, Dynastiia, are more resistant to environmental factors, with their inherent higher adaptive plasticity to conditions cultivation, under the conditions of a different provision of mineral elements. Therefore, a correlation analysis was conducted between yield and elements of its structure; the most positive correlations were found between the grain yield (GY) and the number of grains per spike (GPS), thousand-grain weight (TGW), and spike height (SH).

The dependence of the concentration of Fe, Zn, and Cu in wheat organs on the content of their available forms in the soil was confirmed. In addition, varietal features of the accumulation of elements have been revealed.

The ability of varieties to accumulate Fe, Zn, and Cu in flag leaves and spikes with their subsequent loading into grain was investigated. Correlations between concentrations of microelements were established, which may indicate the existence of one or more

common genetic and physiological mechanisms involved in the absorption of mineral elements by the root system, their movement, and redistribution in plant tissues, with subsequent loading and accumulation in grain. According to the obtained data, most Fe and Cu accumulated in the flag leaves and Zn in the grain. Under conditions of different mineral nutrition, hard cultivars accumulated more Zn than soft cultivars. At the site of D. Luzhok, hard cultivars collected almost twice as much Zn as soft cultivars. Under conditions of higher bioavailability of Fe at the D. Luzhok site, its concentration in wheat organs was, on average, 30 % higher. However, no difference in Fe distribution was found between soft and hard varieties. Thus, higher concentrations of Zn in grain were obtained under growth conditions on soils with higher bioavailability of this element. A higher content of Fe and Cu was found in the grain obtained from the site of D. Luzhok, which is explained by high bioavailability. It was shown that *T. turgidum* cultivars accumulated more Cu than *T. aestivum*. Strong positive relationships were found between the concentration of Fe and Cu in grain for both experimental plots.

It was found that the higher yield is characteristic of the varieties under the conditions of cultivation on chernozems of carbonate rocks with a high content of soil organic matter and low bioavailability of Fe, Cu, and Zn. However, the grain quality is lower under these conditions: microelements and protein content need to be improved.

The calculated coefficient of biological accumulation made it possible to compare the varietal ability of each genotype to absorb elements from the soil and transport them to the grain. As a result of the cluster analysis, varieties with similar research characteristics were singled out. Hard and soft varieties of spring wheat formed separate clusters at both experimental sites with different levels of provision of elements of mineral nutrition.

Considering the yield results, ability to accumulate trace elements, correlation, and cluster analysis, four contrasting wheat varieties were selected: Oksamyt myronivs'kyi, Struna myronivs'ka, Dubravka, and Holikovs'ka. The translocation factor (FT) value was calculated for the selected varieties. Higher values of FT of Fe and Cu – grain/spike than grain/flag leaf indicate a greater dependence of the concentration of Fe and Cu in the grain on their content in the spike than on the content in the flag leaf at this stage of ontogenesis.

As a result of the correlation analysis of the main components (biplot PCA) for the selected varieties, a positive dependence of GY with GPS, TGW, Cu, and Fe concentration and a negative with Zn concentration was established. According to biplot PCA, emmer Holikovs'ka spelled variety accumulates high concentrations of Zn with low yield. Dubravka and Oksamyt myronivs'kyi were distinguished by high concentrations of Cu and Fe in the grain, in contrast to Struna myronivs'ka. In addition, the Oksamyt myronivs'kyi variety was characterized by the highest concentrations of Fe, Zn, and Cu in the embryos during the two years of the study.

Bacterial endophytes of grain and vegetative organs of spring wheat seedlings obtained in vitro were identified for the first time in the work. Their ability to accumulate Fe, Zn, and Cu differed due to their low bioavailability. From spring wheat grain, 20 endophytic bacteria strains were isolated, cultivated, and identified, representing the genera *Staphylococcus*, *Pantoea*, *Sphingobium*, *Bacillus*, *Kosakonia*, *Micrococcus*, *Kocuria*, and *Corynebacterium*. The determined nucleotide sequences of bacterial endophytes are included in the GenBank database under the names MT302194 – MT302204, MT312840, and OP445710 – OP445717. Cultivated strains demonstrated the ability to synthesize and secrete auxin-like compounds into the culture medium (IRCs max.: 16.57 $\mu g \cdot mL^{-1}$). IRCs produced by bacteria of the genus *Pantoea* spp. and *Bacillus* spp. from the grain of the high-yielding Oksamyt myronivs'kyi and Holikovs'ka varieties can be considered one of the determining factors in the formation of wheat grain yield and its nutritional characteristics. The potential role of certain strains of endophytic bacteria in the accumulation of microelements in the grain of various wheat varieties and their possible influence on yield and its main components are discussed.

As a result of the metagenomic analysis of the tissues of roots and leaves of wheat seedlings obtained in sterile in vitro culture, 14 genera of bacteria were identified: *Propionibacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Bradyrhizobium*, *Paracoccus*, *Variovorax*, *Oxalobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, and *Acinetobacter*. It has been proven that sterile embryos became the starting point of formation of the endophytic microbiome of wheat seedlings grown in sterile conditions in vitro. The fact of vertical transmission of endophytic bacteria of

the genera *Staphylococcus* and *Bacillus* have been established. Bacterial endophytes of grain and tissues of leaves and roots of *T. turgidum* subsp. *dicoccum* was isolated and identified for the first time.

The presented results provide novel insights into the relationships between the grainendophytic bacteria, the Fe, Cu, and Zn concentrations, and the yield in the *T. aestivum* and *T. turgidum* subsp. *dicoccum* spring wheat varieties grown with limited bio-availability of these microelements in the field.

Data on the concentration of trace elements in grain, taking into account the mineral composition of the soil compared to the species composition of bacterial endophytes. The obtained results allow us to assume the likely influence of endophytic colonization on the range of microelements entering the plant, their delivery to the reproductive organs, and loading into the grain.

Bacteria of the genus *Pantoea* isolated from the grain of the Oksamyt myronivs'kyi variety were characterized by a high ability to synthesize auxins; in addition, this variety was distinguished by a high yield and concentration of Fe and Cu in the grain. The variety emmer Holikovs'ka with low yield was characterized by a high Zn bioaccumulation coefficient and a high concentration of this microelement in the grain, and bacteria of the *Bacillus* genus obtained from this variety demonstrated a high level of auxin synthesis. Auxins produced by endophytic bacteria contribute to the acidification of the rhizosphere, which in turn improves the absorption and transport of elements. The obtained results indicate the probable perspective of using strains of *Pantoea* U.MO2, U.MO3 and *Bacillus* spp. U.H2 to increase yield and improve the trace element composition of grain. The presented work is an innovative approach to analyzing the influence of the plant microbiome (phytomicrobiome) on the nutritional value of spring wheat grain. The endophytic microbiome can selectively influence several factors necessary for obtaining high yields at relatively low production capacities and, at the same time, can favorably influence the nutritional value of the wheat grain. A detailed analysis of the composition and functions of the endophytic microbiome of spring wheat can contribute to developing a new group of biological preparations – phytoprobiotics.

Key words: *Triticum* spp., stress, drought, drought resistance, microelements: Fe, Cu, Zn, protein, grain yield, productivity, bacterial bndophytes, root colonization, plant growth promotional properties, biosynthetic potential, IAA, biofortification, *in vitro*

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. **Makar, O. O.,** Patsula, O. I., Kavulych, Y. Z., Batrashkina, T. I., Bunio, L. V., Kozlovskyy, V. I., Vatamaniuk, O., Terek, O. I., Romanyuk,N. D. (2019). Excized leaf water status as a measure of drought resistance of ukrainian spring wheat. *Studia Biologica*, 13(2), 41–54. http://dx.doi.org/10.30970/sbi.1302.604
2. **Makar, O.,** Kuźniar, A., Patsula, O., Kavulych, Y., Kozlovskyy, V., Wolińska, A., Skórzyńska-Polit, E., Vatamaniuk, O., Terek, O., Romanyuk, N. (2021). Bacterial endophytes of spring wheat grains and the potential to acquire Fe, Cu, and Zn under their low soil bioavailability. *Biology*, 10(5), 409. (Scopus Q1) https://doi.org/10.3390/biology10050409
3. **Макар, О. О.,** Романюк, Н. Д. (2022). Бактеріальні ендофіти пшениці та їхня роль у покращенні мікроелементного складу зерна. *Біологічні Студії,* 16(3): 101–128. (Scopus) http://dx.doi.org/10.30970/sbi.1603.692

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. **Макар О.,** Терек О., Романюк Н., Пацула О., Буньо Л. (2018, 10-12 квітня). Пшениця, як джерело феруму для людини. Збірник тез XIV Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів "Молодь і поступ біології", Львів, Україна,146-147.
2. **Makar O.,** Kavylych Ya., Kozlovskyy V., Patsula O., Bunio L., Derkach I., Batrashkina T.,Vatamaniuk O., Terek O, Romanyuk N. (2018, June 27th). Grain yield and micronutrient accumulation in spring wheat grown under different soil conditions. Abstracts of international symposium "Sustainable approaches for improving wheat yield and nutritional value", Lviv, Ukraine, 34-35.
3. Kavylych Ya., Kozlovskyy V., Patsula O., Bunio L., Derkach I., **Makar O.,** Nezhyvyy Z., Vatamaniuk O.,Romanyuk N., Terek O. (2018, June 27th). Wheat nutrient quality and mineral malnutrition in Ukraine. Abstracts of international symposium

"Sustainable approaches for improving wheat yield and nutritional value", Lviv, Ukraine, 31-32.

4. **Макар О.,** Кавулич Я., Батрашкіна Т., Пацула О., Буньо Л., Терек О., Романюк Н., Козловський В. (2018, 9-10 жовтня). Вміст купруму в зерні пшениці ярої за умов росту на різних типах ґрунтів. Збірник тез IV Міжнародної наукової конференції "Сучасна біологія рослин: теоретичні та прикладні аспекти" Харків, Україна, 35-36.
5. Kavulych Y., **Makar O.,** Patsula O., Bunio L., Batrashkina T., Kozlovskyy V., Chia, J-C., Zavodna, T.O., Vatamaniuk, O., Sorrells, M., Terek O., Romanyuk N. (2018, November 04-07). The Identification of Wheat Varieties with the Enhanced Ability to Grow Under Mineral Deficiency in Soils and Increased Concentration of Minerals in Grains. Book of Abstracts 2018 Annual ASA- CSSA Meeting, Baltimore, USA.
6. **Makar O.,** Patsula O., Kavylych Ya., Batrashkina T., Bunio L., Terek O., Romanyuk N.(2019, April 9–11). Water deficit of the flag leaves of spring wheat different varieties in a field experiment. Abstracts of XV International Scientific Conference for Students and PhD Students "Youth and Progress of Biology", Lviv, Ukraine, 173-174.
7. Шкоропад О., Гольц М., **Макар О.,** Романюк Н. (2019, 9-11 квітня). Попередні результати визначення посухостійкості різних сортів пшениці ярої в умовах вегетаційного досліду. Збірник тез XV Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів "Молодь і поступ біології", Львів, Україна, 183.
8. Kuźniar A., Włodarczyk K., **Makar O.,** Romanyuk N., Dziadczyk E., Skórzyńska – Polit E., Wolińska A. (2019, 27–28 czerwca). Variability of endophytic microbiome in spring wheat cultivars. Abstracts of IV Ogólnopolskie Sympozjum Mikrobiologiczne "METAGENOMY RÓŻNYCH ŚRODOWISK", Lublin, Poland, 21.
9. **Makar O.,** Kavulych Y., Patsula O., Bunio L., Batrashkina T., Derkach I., Kozlovskyy V., Fetsukh A., Ju-Chen Chia, Zavodna O., Vatamaniu K O., Sorrells M., Terek O., Romanyuk N. (2019, October 3-6). Spring Wheat Varieties with the Enhanced Ability to Grow Under Mineral Deficiency in Soils and Increased Concentration of Minerals in Grains. Abstracts of X International Agriculture Symposium "AGROSYM 2019", Jahorina, Bosnia and Herzegovina, 314.

10. **Makar O.O.,** Romanyuk N.D., Patsula O.I., Terek O.I., Kavylych Y.Z., Kuźniar A., Kozlovskyy V.I. (2020, February 12–13). Micronutrients, wheat grain quality and bacterial endophytes. 5th International scientific conference “Modern plant biology: Theoretical and applied aspects”, Kharkiv, Ukraine, 79.
11. **Макар О.,** Романюк Н., Пацула О., Терек О., Кузняр А., Козловський В. (2020, 27-29 квітня).Варіативність ендофітного мікробіому у сортах пшениці ярої зрізною здатністю до накопичення мікроелементів. Збірник тез XVI Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології”, Львів, Україна,208.
12. **Makar O.,** Kavulych Y., Patsula O., Terek O., Kuźniar A., Kozlovskyy V., Romanyuk N. (2021, April 19–21). Bacterial endophytes and microelements in spring wheat grain. Abstracts of XVII International Scientific Conference for Students and PhD Students “Youth and Progress of Biology”, Lviv, Ukraine, 228-229.
13. **Макар О.О.,** Кавулич Я.З., Пацула О.І., Терек О.І., Кузняр А., Козловський В.І., Романюк Н.Д. (2021, 3 червня). Концентрація мікроелементів та бактеріальні ендофіти у зерні пшениці ярої сорту полба Голіковська. Матеріали XV конференції молодих вчених “Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів”, Київ, Україна, 67-69.
14. **Makar Orysia**, Kuźniar Agnieszka, Patsula Ostap, Kavulych Yana, Wolińska Agnieszka, Skórzyńska-Polit Ewa, Kozlovskyy Volodymyr, Terek Olha, Romanyuk Nataliya (2021, 17-18 June). Diversity of bacterial endophytes and Fe, Cu, Zn concentration in spring wheat grains. V Ogólnopolskie Sympozjum Mikrobiologiczne “METAGENOMY RÓŻNYCH ŚRODOWISK”, Warszawa, Poland, 89.
15. **Makar O.,** Kuzniar A., Patsula O., Kavulych Y., Kozlovskyy V., Wolińska A., Skórzyńska - Polit E., Vatamaniuk O., Terek O., Romanyuk N. (2021, 20-24 June). Bacterial Endophytes and Microelements in Grain of Emmer Wheat. FEMS “World Microbe Forum”. https://www.abstractsonline.com/pp8/#!/9286/presentation/10080

16. Romanyuk N.D., **Makar O.O.** (2021, 20-21 September) Plants and Plant Growth Promoting Endophytes in Action. 54th Microbiological Conference “MICROORGANISMS OF DIFFERENT ENVIRONMENTS”, Lublin, Poland, 6.