

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА  
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**МАКАР ОРИСЯ ОРЕСТІВНА**

УДК [633.11:631.524.526.32:632.938.1]:[579.6:631.81:60.604]

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ПРОДУКТИВНОСТІ І ЯКОСТІ ЗЕРНА ЯРОЇ  
ПШЕНИЦІ**

Спеціальність 091 «Біологія»

Галузь знань 09 «Біологія»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ О.О. Макар

Науковий керівник: Терек Ольга Іштванівна, доктор біологічних наук, професор,  
Заслужений працівник освіти України.

Львів – 2023

## 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 aestivum* 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. aestivum* 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. turgidum* 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 біофортificaції, екологічно безпечних технологій, які би доповнювали фенотипову пластичність і адаптаційну здатність рослин. Бактеріальні ендофіти можуть служити інструментами для розробки нових стратегій біофортificaції 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 рН, 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 МПП 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 рН, 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 ендofіти 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 ізолювано, культивовано та ідентифіковано 20 штамів бактерій ендofітів, які представляли роди *Staphylococcus*, *Pantoea*, *Sphingobium*, *Bacillus*, *Kosakonia*, *Micrococcus*, *Kocuria* та *Corynebacterium*. Визначені нуклеотидні послідовності бактеріальних ендofітів внесено в базу GenBank під номерами 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 ендofітних 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 ендofітного мікробіому проростків пшениці вирощеної в стерильних умовах *in vitro*. Встановлено факт вертикальної передачі ендofітних бактерій родів *Staphylococcus* та *Bacillus*. Вперше виділено та ідентифіковано бактеріальні ендofіти зерна і тканин листків та коренів *T. turgidum* subsp. *dicoccum*.

Отримані результати дають нові знання про взаємозв'язки між ендofітними 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 біодоступності цих елементів.

Дані щодо концентрації мікроелементів в зерні, із врахуванням мінерального складу ґрунту порівняно з видовим складом бактеріальних ендofітів. Отримані результати дозволяють припустити ймовірний вплив ендofітної 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 біоаккумуляції Zn та високою концентрацією цього мікроелемента в зерні, а бактерії роду *Bacillus* отримані з цього сорту продемонстрували високий рівень синтезу ауксинів. Ауксини, що виробляються ендofітними 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. Ендofітний 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 ендofітного 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 speciality 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  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). 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 grain endophytic 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 bioavailability 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 endophytes, 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. **Макар, О. О.**, 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. **Макар, О.**, 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, квартиль 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.**, Тerek O., 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. **Макар О.**, Kavylych Ya., Kozlovskyy V., Patsula O., Bunio L., Derkach I., Batrashkina T., Vatamaniuk O., Terek O, Romanyuk N. (2018, June 27<sup>th</sup>). 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., **Макар О.**, Nezhyvyy Z., Vatamaniuk O., Romanyuk N., Terek O. (2018, June 27<sup>th</sup>). 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 дослідження. 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., Vatamaniuk 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., Kavulych 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 Ostep, 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.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

IRCs (indole-related compounds) – ауксиноподібні сполуки;

GS (growth stage) – етап росту;

PGPB (plant growth-promoting bacteria) – ріст стимулюючі бактерії;

DW (dry weight) – суха маса;

RWC (relative water content) – відносний вміст води;

EL WLW (excised leaves water loss weight) – водоутримна здатність у перерахунку на масу прапорцевих листків;

EL WLA (excised leaves water loss per area) – водоутримна здатність у перерахунку на площу прапорцевих листків;

PCA (principal component analysis) – метод головних компонентів (метод факторного аналізу в статистиці);

PC (principal components) – головні компоненти;

МТЗ – маса 1000 зерен;

КЗК – кількість зерен в колосі;

ВК – висота колоса;

ВЗ – врожайність зерна;

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція;

ААС – атомно-абсорбційна спектроскопія;

АФО – активні форми Оксигену;

ІОК – індоліл-3-оцтова кислота.

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b> .....	24
<b>РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</b> .....	32
1.1. Пшениця як важливий об'єкт дослідження.....	32
1.2. Посуха та тепловий стрес як фактори зниження врожаю зерна пшениці .....	36
1.3. Харчова якість зерна пшениці.....	38
1.3.1. Білки зерна пшениці як важливий показник харчової цінності .....	38
1.3.2. Особливості поглинання мікроелементів рослинами та їх роль в покращенні харчової цінності зерна.....	40
1.4. Бактеріальні ендofіти та їх роль в покращенні харчової цінності зерна пшениці.....	47
<b>РОЗДІЛ 2. УМОВИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ</b> .....	57
2.1. Характеристика досліджуваних сортів пшениці.....	57
2.2. Умови польових досліджень .....	59
2.3. Визначення основних фізико-хімічних показників ґрунту.....	61
2.3.1. Визначення рН ґрунту.....	61
2.3.2. Визначення вмісту органічної речовини ґрунту .....	62
2.3.3. Екстрагування біодоступних форм мікроелементів із ґрунту .....	62
2.4. Визначення посівної якості насіння .....	63
2.5. Визначення площі прапорцевого листка .....	63
2.6. Визначення основних показників водного режиму рослин.....	64
2.7. Визначення загального вмісту білків у зерні .....	65
2.8. Визначення врожайності зерна та структури врожаю.....	65
2.9. Визначення концентрації мікроелементів в рослинному матеріалі.....	66
2.10. Виділення бактеріальних ендofітів з зерна пшениці.....	67

2.11. Виділення бактеріальної ДНК.....	68
2.12. Визначення бактеріальної здатності до синтезу ауксиноподібних сполук (IRCs) .....	69
2.13. Отримання асептичної культури проростків пшениці в умовах <i>in vitro</i> .....	70
2.14. Екстрагування та секвенування бактеріальної ДНК, отриманої з рослин <i>in vitro</i> .....	71
2.15. Статистична обробка результатів .....	72
<b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....</b>	<b>73</b>
3.1. Основні фізико-хімічні характеристики ґрунтів з польових дослідних ділянок .....	73
3.2. Морфометричні показники рослин пшениці ярої за умов вирощування на ґрунтах із різною біодоступністю мікроелементів .....	76
3.3. Водний режим рослин пшениці за умов вирощування на ґрунтах із низькою доступністю мікроелементів .....	80
3.3.1. Основні показники водного режиму прапорцевих листків як індикатори посухостійкості сортів пшениці ярої.....	80
3.4. Якісні та кількісні показники структури врожаю пшениці ярої за умов вирощування на ґрунтах із різними фізико-хімічними характеристиками.....	88
3.4.1. Посівні характеристики насіння пшениці, вирощеної на ґрунтах із різною біодоступністю мікроелементів .....	88
3.4.2. Загальний вміст білків у зерні пшениці ярої за різних умов ґрунтового живлення.....	91
3.4.3. Врожайність та структура врожаю пшениці за умов вирощування на ґрунтах з різною біодоступністю мінеральних елементів.....	95
3.4.4. Концентрація мікроелементів в прапорцевих листках, колосі, зерні та зародках пшениці за різних ґрунтових умов .....	103

3.5. Бактеріальні ендосфїти пшениці ярої та їх ймовїрна роль у засвоєннї Fe, Cu та Zn рослинами за низької бїодоступностї цих елементів у ґрунтї.....	136
3.5.1. Ідентифїкація ізольованих ендосфїтів .....	136
3.5.2. Метагеномний аналіз бактерїальних ендосфїтів рослин пшениці в умовах <i>in vitro</i> .....	143
3.5.3. Синтез IRCs штамами бактерїй ендосфїтів .....	155
<b>РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ</b>	
<b>ДОСЛІДЖЕННЯ</b> .....	160
<b>ВИСНОВКИ</b> .....	170
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> .....	174
<b>ДОДАТКИ</b> .....	235
Додаток А .....	235
Додаток Б.....	240
Додаток В .....	244

## ВСТУП

### Обґрунтування вибору теми дослідження

#### Актуальність теми

Пшениця (*Triticum spp.*) є одним з найважливіших продуктів харчування для більш ніж половини населення світу з річним виробництвом приблизно 700 мільйонів тонн у всьому світі [141; 234; 243]. Беручи до уваги прогнозований ріст народонаселення Землі до понад 9 млрд осіб у 2050 р. і до 11 млрд у 2100 р., людству потрібно вдвічі збільшити виробництво рослинної продукції [406; 409]. Проте, одночасно з підвищенням врожайності варто звертати увагу і на поживну цінність. На жаль, селекція сортів пшениці минулих років супроводжувалася частковим зниженням якості зерна: нижчим вмістом білків, мікроелементів і вітамінів [149; 342], а також поглибленням явища прихованого голоду [245; 256]. Проблема прихованого голоду як наслідок нестачі вітамінів і мікроелементів стосується близько 2 млрд людей, тобто кожної третьої людини у світі [189; 245; 309]. Особливо відзначають нестачу вітаміну А, Цинку (Zn), Йоду (I), фолієвої кислоти і Феруму (Fe) [191]. Наприклад, від дефіциту Zn і Fe страждає більше половини населення світу, здебільшого країн, що розвиваються; саме у їхньому харчовому раціоні переважають зернові – пшениця, рис, кукурудза [189; 309; 383]. Як один із ефективних можливих способів вирішення проблеми прихованого голоду розглядають біофортificaцію, що полягає у зміні властивостей самої рослини, а не в додатковому внесенні мікронутрієнтів у харчові продукти [31; 119; 165; 189; 309; 427; 468]. Біозбагачення сортів пшениці мікроелементами є пріоритетним напрямком досліджень для генетиків і селекціонерів пшениці [103; 164; 165; 285].

Тому, актуальним на сьогодні є вивчення складних фізіологічних механізмів підтримки необхідної концентрації Fe, Zn та Cu в рослинних тканинах та створення сортів пшениці з підвищеною здатністю до його накопичення в зерні шляхом біофортificaції, яка передбачає використання методів молекулярної селекції та генної інженерії.



У сталому сільському господарстві значно ширше застосовуватимуться мікробіологічні препарати [365; 321; 366]. Особливої уваги надають застосуванню ріст-стимулювальних бактерій (plant growth promoting bacteria, PGPB) [383], які здатні доповнити фенотипову пластичність і адаптаційну здатність рослин [364; 411]. Це реальна та перспективна технологія майбутнього для забезпечення якісними харчовими продуктами населення світу: доступними ресурсами і якомога меншим негативним впливом на навколишнє середовище. Збільшення концентрації мікроелементів в зерні пшениці шляхом інокуляції ендоспориями різних родів останніми роками заявлено як один із підходів до біофортificaції пшениці [207; 364; 365; 366; 429]. Для низки ендоспориальних PGPB експериментально показано здатність покращувати умови мінерального живлення рослин, унаслідок солубілізації, мобілізації та полегшення переміщення необхідних мікроелементів до різних органів [344; 364; 395]. Такі мікроорганізми можна використати для збільшення концентрації (біофортificaція) потрібних макро- та мікроелементів у зерні пшениці [363], що входить до переліку найважливіших продуктів харчування для більш ніж половини населення світу [141; 234; 243]. Водночас варто пам'ятати, що ендоспориальний фітомікробіом утворений групами взаємозалежних мікроорганізмів [91; 249]. Саме тому необхідні дослідження різноманіття ендоспориального мікробіому різних сортів пшениці, пошук і виявлення виграшного складу бактеріальних угруповань, які надалі можна використати у технологіях біофортificaції [89; 321; 366; 371; 426; 429].

Ми припускаємо, що деякі бактеріальні ендоспориї зерна пшениці мають здатність сприяти росту та покращенню мінерального живлення цілої рослини, що в свою чергу покращить харчову цінність. Отримані нами дані можуть сприяти розробці нових стратегій біофортificaції та підвищенню продовольчої безпеки.

**Мета дослідження** – вивчення фізіологічних основ формування якісного врожаю зерна різних сортів пшениці ярої вітчизняної селекції в умовах польового експерименту за різної біодоступності мікроелементів, із акцентом на посухостійкість і вміст мікроелементів Феруму (Fe), Цинку (Zn), Купруму (Cu); та

ідентифікування бактерій-ендофітів у зв'язку із їх потенційним впливом на врожайність та якість зерна

**Для досягнення мети були визначені наступні завдання:**

1. Дослідити основні фізико-хімічні властивості ґрунтів дослідних ділянок, зокрема вміст органічної речовини, рН, концентрацію доступних форм Fe, Zn та Cu.

2. Визначити посухостійкість окремих сортів пшениці ярої за фізіологічними показниками водного режиму прапорцевих листків та їх зв'язок із врожайністю.

3. Визначити кількісні та якісні показники продуктивності рослин пшениці за умов різної доступності елементів мінерального живлення, зокрема, врожайність та структуру врожаю, масу сухої речовини, загальний вміст білків в зерні, концентрацію мікроелементів в зерні.

4. Оцінити здатність рослин різних сортів пшениці ярої до поглинання, транслокації та акумулювання Fe, Zn та Cu від ґрунту до репродуктивних органів та завантаження в зерно за різних умов мінерального живлення.

5. Ізолювати та ідентифікувати бактеріальні ендосити з зерна та тканин проростків *in vitro* сортів пшениці, контрастних за накопиченням мікроелементів та встановити ймовірний вплив ендоситної колонізації на діапазон надходження мікроелементів із врахуванням здатності до синтезу ауксиноподібних сполук.

**Об'єкт дослідження** – фізіологічні основи формування якісного зерна пшениці ярої, з акцентом на вміст мікроелементів.

**Предмет дослідження** – продуктивність та якість зерна пшениці ярої за умов вирощування в польових умовах на ґрунтах з різною біодоступністю Феруму (Fe), Цинку (Zn), Купруму (Cu), посухостійкість, здатність до поглинання та акумулювання в зерні Fe, Zn та Cu, ідентифікування бактерій ендоситів пшениці і вивчення їх зв'язку з врожайністю та якістю зерна, продуктивний та адаптивний потенціал генотипу.

**Методи дослідження:** дослідження проводили в польових та лабораторних умовах. У процесі виконання роботи використовували фізіологічні (вимірювання параметрів росту та врожайності рослин у польових дослідах), біохімічні

(визначення загального вмісту білка, вмісту ауксиноподібних сполук), фізико-хімічні (мінералізація зразків та атомно-абсорбційна спектроскопія для визначення концентрації мікроелементів в рослинному матеріалі та ґрунтах, визначення рН та вмісту органічної речовини ґрунту), біотехнологічні (метод культури зародків *in vitro*), молекулярно-генетичні (полімеразна ланцюгова реакція, виділення бактеріальної ДНК із рослинного матеріалу, електрофорез продуктів ампліфікації в агарозному гелі) та статистичні (оцінка вірогідності отриманих результатів: Statistica 12, Past 4.03, Excel 2013) методи досліджень.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційну роботу виконано на кафедрі фізіології та екології рослин біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка в рамках проекту CRDF «Сталі підходи до збільшення врожайності та харчова цінності пшениці» (OISE 16-62755, 2017-18 pp.), в межах співпраці Львівського національного університету імені Івана Франка та Корнельського Університету (США); частково дослідження проводились на базі кафедри біології та біотехнології мікроорганізмів Інституту біологічних наук Люблінського католицького університету імені Івана Павла II (Польща) в межах стипендій Visegrad Scholarship «Bacterial endophytes of the spring wheat varieties» (№ 51810815, 2018-19 pp.) та Visegrad Scholarship «Bacterial endophytes of the spring wheat varieties with different micronutrient acquisition ability» (№ 52010505, 2020-21 pp.).

### **Наукова новизна отриманих результатів**

Визначено фізико-хімічні властивості ґрунтів дослідних ділянок. Встановлено залежність між рН, вмістом органічної речовини та концентрацією доступних форм Fe, Zn та Cu в ґрунті.

Підтверджено відмінності в реакції на посуху серед 24 сортів пшениці м'якої і твердої української селекції (*Triticum aestivum* L., *T. durum* desf., *T. turgidum* subsp. *dicocum*) за показниками водного дефіциту (WD), відносного вмісту води (RWC), водоутримної здатності у перерахунку на масу (EL WLW) і площу (EL WLA) прапорцевих листків рослин в умовах польового експерименту. Встановлено, що

сорти МПП Райдужна, Жізель, Голіковська, Сімкода миронівська, Панянка та Тера характеризувались високою посухостійкістю. Показники EL WLW та EL WLA, що характеризують водоутримну здатність тканин листків, можуть бути рекомендовані як додаткові показники стійкості до водного стресу. RWC як параметр посухостійкості доцільно застосовувати для пшениці твердої, тоді як EL WLA 2–6 год – для пшениці м'якої ярої.

Вперше визначено концентрації мікроелементів Fe, Cu, Zn в прапорцевих листках, колосі, зернівках різних сортів пшениці в польових умовах, на дослідних ділянках, які різнилися за рН, вмістом органічної речовини та концентрацією доступних форм мікроелементів. Оцінено здатність до транслокації мікроелементів для окремих сортів. Відібрано сорти здатні накопичувати високі концентрації мікроелементів в зерні за умов різного рівня біодоступності.

Ідентифіковано сорти пшениці ярої, які відтворюють високі рівні господарсько-цінних ознак за контрастних погодних умов вирощування. Виявлено сорти із широкою фенотиповою та адаптивною пластичністю, яка проявляється у підвищенні врожайності, збільшенні концентрації білків та мікроелементів у зерні.

Вперше для дослідних сортів здійснено кореляційний аналіз залежності між врожайністю, її компонентами та здатністю рослин до поглинання та акумулювання в зерні Fe, Cu та Zn.

Вперше виділено бактеріальні ендосфити з зернівок сортів пшениці ярої Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та Голіковська, які мали різну здатність до накопичення мікроелементів. Ізольовано, культивовано та ідентифіковано 20 штамів бактеріальних ендосфитів, що належать до родів *Staphylococcus*, *Pantoea*, *Sphingobium*, *Bacillus*, *Kosakonia*, *Micrococcus*, *Kocuria* та *Corynebacterium*. Ідентифіковані послідовності внесено в базу GenBank під номерами MT302194 – MT302204, MT312840 та OP445710 – OP445717. Проаналізовано ймовірний вплив окремих ізольованих штамів бактерій-ендосфитів на врожайність та концентрацію Fe, Cu та Zn в зерні.

Продемонстровано відмінності у здатності до синтезу ауксин-споріднених сполук IRCs серед культивованих штамів бактеріальних ендоефітів, ізольованих із зернівок пшениці.

Вперше проведено метагеномний аналіз бактеріальних ендоефітів у тканинах коренів та листків проростків пшениці сортів Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та Голіковська, вирощених в умовах *in vitro*. Ідентифіковано 14 родів бактерій. Доведено існування механізмів вертикальної передачі ендоефітних бактерій родів *Staphylococcus*, *Bacillus*.

Вперше ізольовано та ідентифіковано бактеріальні ендоефіти з зернівок та тканин проростків півчастої полби *T. turgidum* subsp. *dicocum* сорту Голіковська.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Отримані експериментальні дані доповнюють сучасні знання про поглинання, транспорт та акумулювання Fe, Zn та Cu різними органами пшениці за росту на ґрунтах з низьким вмістом їх біодоступних форм. Виокремлено сорти пшениці з високою здатністю акумулювати мікроелементи в зерні за низької їх біодоступності в ґрунтах. Використання певних штамів бактеріальних ендоефітів може сприяти росту та покращенню мінерального живлення пшениці, що в свою чергу покращить харчову цінність зерна. Виділені, ідентифіковані та культивовані штами бактерій-ендоефітів можуть бути використані для розробки нової групи біопрепаратів – фітопробіотиків. Результати досліджень впроваджені у навчальний процес вищої школи при викладанні курсів “Практикум з фізіології рослин”, “Живлення рослин”, “Біотехнологія рослин”.

### **Особистий внесок здобувача**

Формування ідеї роботи, планування комплексу експериментальних досліджень, аналіз та обговорення отриманих результатів, приготування рукописів статей, формулювання основних положень, які виносяться на захист та висновків дисертаційної роботи проведено за участю наукового керівника д.б.н., проф. Терек О. І. та к.б.н., доц. Романюк Н. Д. Роботу з використанням ААС (ААС С115М1, Суми, Україна) для визначення концентрації мікроелементів в рослинах пшениці

та ґрунтах виконано за участі ст. наук. співроб. Інституту Екології Карпат НАН України к.б.н. Козловського В. І. (Львів, Україна). Ізолювання, культивування та ідентифікування бактеріальних ендофітів з зерна та культури *in vitro* проводилося спільно з професором Агнешкою Кузняр (dr. Agnieszka Kuźniar), кафедра біології та біотехнології мікроорганізмів, Інститут біологічних наук, Люблінський католицький університет ім. Івана Павла II (Люблін, Польща). Пошук та аналіз наукової літератури за темою дисертації, виконання основної частини експериментальної роботи, статистичне опрацювання результатів та написання дисертаційної роботи виконано безпосередньо дисертантом.

### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення дисертації були представлені на XIV - XVII міжнародних наукових конференціях студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології” (Львів, 2018, 2019, 2020, 2021); симпозіумі з міжнародною участю “Сталі підходи до підвищення врожайності та харчової цінності пшениці” (Львів, 2018); IV, V Міжнародних наукових конференціях “Сучасна біологія рослин: теоретичні та прикладні аспекти” (Харків, 2018, 2020); IV Ogólnopolskie Sympozjum Mikrobiologiczne “METAGENOMY RÓŻNYCH ŚRODOWISK” (Люблін, Польща, 2019); X International Agriculture Symposium “AGROSYM 2019” (Яхорина, Боснія і Герцеговина, 2019); V Ogólnopolskie Sympozjum Mikrobiologiczne “METAGENOMY RÓŻNYCH ŚRODOWISK” (Варшава, Польща, 2021); XV Конференції молодих вчених “Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів”(Київ, 2021); FEMS “World Microbe Forum” (2021); 54th Microbiological Conference “MICROORGANISMS OF DIFFERENT ENVIRONMENTS” (Люблін, Польща, 2021), а також на наукових семінарах кафедри фізіології та екології рослин та на щорічних звітних наукових конференціях біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка.

## **Публікації**

За матеріалами дисертації опубліковано 3 статті: 1 статтю у міжнародному виданні, яке входить до бази Scopus (квартиль Q1) і 2 статті в фаховому журналі категорії Б, з яких одна стаття проіндексована у наукометричній базі Scopus, а також 16 матеріалів і тез доповідей на закордонних, міжнародних і вітчизняних наукових конференціях, форумах та симпозіумах.

## **Структура та обсяг дисертації**

Дисертація містить такі розділи: “Вступ”, “Огляд літератури”, “Матеріали та методи досліджень”, “Результати досліджень”, “Аналіз та узагальнення результатів досліджень”, “Висновки”, “Список використаних джерел” та “Додатки”. Дисертацію викладено на 244 сторінках друкованого тексту і проілюстровано 36 рисунками та 14 таблицями.

Список літератури включає 489 найменування.

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Пшениця як важливий об'єкт дослідження

Пшениця – зернова культура, яка є одним з основних продуктів харчування у всьому світі [117; 108; 367] і становить приблизно 30 % світового споживання зернових [30; 141; 457]. Пшениця – одне з основних джерел харчування людини, особливо в країнах із низьким розвитком економіки [108; 219], та важливе джерело вуглеводів, білків та мікроелементів для мільйонів людей [113; 28]. У всьому світі пшеницю культивують на ґрунтах площею приблизно 214,79 млн га [52], виробництво пшениці на 2019–2020 роки оцінюється в 765,41 млн тонн [485].

Важливість пшениці ще більше підкреслюється через її роль у харчуванні людей, оскільки зі споживанням пшеничних виробів людина отримує близько 20 % білка та 20 % вуглеводів від добової норми [358]. У харчуванні людини пшениця становить 53 % у розвинених країнах і 85 % у менш розвинених країнах від загального світового виробництва [108; 358].

Пшеницю вирощують у всьому світі, багато територій є схильними до посухи, засолення та інших абіотичних факторів, що призводить до значного зниження врожаю в деякі сезони. Очікується, що зміни клімату найближчими роками матимуть особливо негативний вплив на врожайність та якість зерна пшениці [234]. Повідомляється, що останнє десятиліття було визнано найтеплішим за всю історію спостережень [275], а Міжурядова група експертів зі зміни клімату (ІРСС) прогнозує, що до 2050 року глобальна середня температура повітря може підвищитися на 2 °С.

Одним із найбільших викликів 21 століття є необхідність забезпечення продуктами харчування населення землі яке постійно зростає. За попередніми оцінками до 2050 року на планеті Земля буде більше як 9 млрд осіб, а до 2100 року кількість населення становитиме 11 мільярдів, тому для задоволення вимог передбачуваного приросту населення потрібно збільшити виробництво пшениці [406; 409]. Багаторічна селекція минулих років спрямовувалася на збільшення врожайності пшениці, проте призвела до зниження якості зерна: меншого вмісту



білків, мікроелементів та вітамінів [8; 9; 149; 342] і поглиблення явища “прихованого голоду” [245; 256].

Калорійне недоїдання, так званий “прихований голод” викликаний нестачею вітамінів і мікроелементів є актуальною проблемою для 2 мільярдів людей та визначається як найпоширеніша форма недоїдання [309; 245; 256]. Особливо відзначають дефіцити вітаміну А, Zn, I, фолієвої кислоти та Fe [191]. Дефіцит металів (недоїдання мікроелементів), особливо Zn і Fe, вражає більше половини населення землі, оскільки вони залежать від зернових культур, головним чином пшениці, рису та кукурудзи, які є у щоденному раціоні більшості людей [309]. Перед дослідниками стоїть подвійне завдання: підвищити якість пшениці та її виробництво у достатній кількості для населення яке постійно збільшується. Тобто, отримання сортів зі стабільною врожайністю за оптимальних умов, та високою якістю зерна є пріоритетними для більшості програм селекції пшениці.

Згідно з FAO у 2021 в десятку найбільших країн-виробників пшениці в усьому світі на основі загального врожаю входять Китай, Індія, США, Франція, Канада, Німеччина, Пакистан, Австралія та Україна. У 2021 році Україна увійшла у ТОП-5 країн експортерів пшениці.

Середня світова врожайність пшениці становить близько 3,4 т/га, для багатьох країн ці показники є різними, наприклад для Австралії середня врожайність становить менше 2 т/га, тоді як у Великій Британії врожайність зазвичай становить від 7 до 8 т/га, а в багатьох регіонах значно перевищує 10 т/га [141]. Найвища врожайність пшениці була досягнута в Новій Зеландії на початку 2020 року – 17,4 т/га [486], тоді як багато регіонів намагаються зібрати більше 1 т/га. Велика мінливість врожайності пшениці відображає дуже різноманітні середовища, в яких вирощується дана культура [141].

Вирощування пшениці (*Triticum* spp.) заходить далеко в історію. Пшениця була однією з перших одомашнених продовольчих культур і протягом 8 000 років була основним продуктом харчування цивілізацій Європи, Західної Азії та Північної Африки [412]. Сьогодні пшениця продовжує залишатися найважливішим

джерелом продовольчого зерна для людей. Одним з перших видів була дика пшениця (*Triticum turgidum* subsp. *dicocoides*) одомашнена близько 10-12 тисяч років тому. Також найбільш ранніми культивованими видами були диплоїдна однозернянка (*Triticum monococcum*) та тетраплоїдна еммер (*Triticum dicoccum*) [412].

Пшениця демонструє достатню генетичну різноманітність сортів, які адаптуються до широкого кола умов навколишнього середовища. Вчені створюють нові та поліпшують існуючі види цих злаків методами генетичної інженерії та молекулярної селекції. На сьогодні існує більше 20 видів пшениці. Найпоширенішими є гексаплоїні та тетраплоїдні сорти пшениці.

Гексаплоїна пшениця (*Triticum aestivum* L.  $2n = 6x = 42$ ) – це м'яка пшениця яка є найбільш широко розповсюдженим видом пшениці. Становить більше 90 % світового виробництва пшениці.

Тетраплоїдна пшениця (*Triticum turgidum* L. var. *durum*  $2n = 4x = 28$ ) – це тверда пшениця яка широко культивується, про те має менші площі вирощування та менший річний обсяг виробництва порівняно з м'якими сортами [168]. Вона становить лише від 5 % до 8 % світового виробництва пшениці. Вироби з борошна твердих сортів пшениці вважаються більш корисними, оскільки вони містять більше білків, мінералів та має вищий вміст клейковини. Важливість твердих сортів пшениці полягає у виробництві різноманітних продуктів, а саме макаронних виробів, хлібобулочних, кускусу, булгуру та інших [21].

Окрім того, до тетраплоїдних пшениць (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccum*  $2n = 4x = 28$ ) відносять пшеницю полба, яка характеризується як один з найдавніших видів пшениці, має високу якість зерна та часто використовується в дієтичному харчуванні. Пшениця полба багата целюлозою, мінералами, каротиноїдами, антиоксидантними сполуками, вітамінами та є повноцінним джерелом білків рослинного походження [37].

Основні площі світового виробництва пшениці займає озима пшениця, проте, останніми роками в Європі, а особливо в Україні, спостерігаємо збільшення площ

посівів ярої пшениці [1; 17]. Класифікація на яру або озиму пшеницю є загальноприйнятою і традиційно стосується сезону, протягом якого вирощується культура. Для озимої пшениці збирання відкладається, поки рослина не переживе період холодних зимових температур (від 0° до 5 °С). Озимі генотипи висаджують восени для проростання та розвитку молодих рослин, які залишаються у вегетативній фазі протягом зими та відновлюють ріст ранньою весною. Це забезпечує перевагу використання осінньої вологи для проростання та ефективного використання раннього весняного сонця, тепла та опадів. Яру пшеницю, як випливає з назви, зазвичай садять навесні та дозрівають наприкінці літа, але її можна сіяти восени в країнах з м'якою зимою, наприклад у Південній Азії, Північній Африці, на Близькому Сході та в нижніх широтах. Посів ярої пшениці важливо зробити в стислі терміни. Це пояснюється тим, що навесні сонце і вітер виводять вологу з ґрунту. Рослина не встигає вчасно сформувати вторинну кореневу систему, тому не отримує необхідні для росту мікроелементи. Важлива особливість ярої пшениці – потужніша коренева система, яка краще засвоює мінеральні речовини.

Пшеницю вирощують на різних типах ґрунтів. Найвища врожайність пшениці є на родючих, багатих Фосфором, Калієм та Нітрогеном ґрунтах. Формування кореневої системи та подальше зростання безпосередньо залежать від можливості отримати з ґрунту необхідної кількості мінералів. Пшениця погано розвивається на торф'янистих, солонцевих, болотистих і підзолистих ґрунтах. Вона добре росте на слаболужних або нейтральних ґрунтах, кислі непридатні для посіву [112; 194].

Україна, як один із провідних експортерів зерна, за даними Організації економічного співробітництва та розвитку та FAO ООН, залишиться важливим постачальником пшениці на світовий ринок у найближчому десятилітті [11].

Згідно з даними Міністерства аграрної політики України, середня врожайність озимої пшениці в Україні у 2021 році становила 4,65 т/га, цей рік назвали “найврожайнішим” за останні 30 років незалежності. Середня врожайність у 2020 році становила – 3,8 т/га. Площі посівів ярої пшеницю в Україні є значно меншими

порівняно з озимою, у 2021 році ця площа становила 42 тис. га, а у 2022 році ці площі збільшили майже у 5 разів до 200 тис. га. Про те, на початку ХХ ст. пшениця яра займала в Україні 39–41 % площі ріллі, тоді як озима тільки 9–11 % [1].

## **1.2. Посуха та тепловий стрес як фактори зниження врожаю зерна пшениці**

Пшениця є важливою зерновою культурою, на яку негативно впливає стрес дефіциту води [26]. Стабільна врожайність та висока якість зерна є важливими для світової продовольчої безпеки, про те, виробництво пшениці значно скорочується через нестачу води.

Серед факторів, що обмежують врожайність пшениці найбільш критичним є посуха. Дефіцит води, спричинений нестабільними та погано розподіленими опадами, спричиняє величезні глобальні втрати в сільському господарстві [22]. Посуха є полігенним стресом [217], який знижує продуктивність і якість посівів, обмежує успішну реалізацію потенціалу ґрунтів в усьому світі [22; 27; 242; 343], та впливає щонайменше на 60 % світового виробництва пшениці [22; 27; 87]. Незалежно від змін водного стресу, з кожним підвищенням середньої температури на 1 °С прогнозується, що глобальне виробництво пшениці зменшиться на 6 % [324; 463].

Зниження активності поглинання поживних речовин зумовлене порушенням проникності мембрани, активним транспортом, а також зниженою швидкістю транспірації, що призводить до пригнічення поглинальної здатності коренів [27]. Водний дефіцит перешкоджає росту рослин на морфологічному, фізіологічному та молекулярному рівнях. Посуха негативно впливає на фотосинтез, змінюючи внутрішню структуру хлоропластів, мітохондрій, вміст хлорофілу та мінералів [26]. В умовах посухи споживання CO<sub>2</sub> зменшується внаслідок закриття продихів, підвищується рівень АФО, що призводить до пошкодження мембран [318], знижується ефективність поглинання та використання Нітрогену (N) рослинами [27].

Вплив водного дефіциту відрізняється на різних етапах росту пшениці [113], тоді як тривалість та інтенсивність нестачі води впливає на розвиток пшениці та в кінцевому підсумку зменшує врожайність зерна від 17 до 70 % [276; 349]. S. Daryanto та ін. [113] повідомили про втрату врожаю пшениці на 20,6 % при зменшенні води на 40 %. При аналізі 60 наукових публікацій, встановлено, що стрес від посухи спричиняє зниження врожайності пшениці в середньому на 27 % [211]. Дефіцит води під час цвітіння та наливу зерна значно знижує врожайність пшениці [27; 242]. Крім репродуктивних етапів, висока температура впливає на такі етапи як проростання насіння, поява сходів і їх укорінення [135]. На клітинному рівні тепловий стрес призводить до утворення АФО, які порушують мембранну систему тилакоїдів, хлоропластів і плазматичної мембрани. Крім того, тепловий стрес інгібує фотосинтез, зниженням активності фотосистем та інактивацією Rubisco що призводить до меншого накопичення фотоасимілятів, і як наслідок, до зменшення площі листків, біомаси пагонів і виробництва зерна [70]. Це зрештою впливає на цвітіння, налив, розмір, кількість і стиглість зерна пшениці та кінцеву врожайність [232; 70]. Взаємодія антиоксидантних та гормональних систем, відіграє вирішальну роль у наданні пшениці стійкості до теплового стресу [232].

Повідомляється, що висота рослини, біомаса та врожайність є більш чутливими до дефіциту води порівняно з кількістю колосків на колос та масою 1000 зерен. Кількість колосів на рослину, кількість зерен на колос, маса 1000 зерен та довжина квітконосу впливають на стійкість пшениці до посухи [276]. Стрес від посухи може зменшити водний потенціал листя, як наслідок зниження тургору, провідності продихів, фотосинтезу, росту та врожайності пшениці [87].

Важливо дослідити чутливість різних генотипів пшениці до посухи, особливо з інтенсивними змінами клімату, які призвели до того, що посуха стала більш екстремальною. Виникає необхідність вирощування посухостійких культур через дедалі обмежені запаси води для зрошення сільськогосподарських культур, а також стреси, спричинені глобальними змінами клімату, такими як підвищення температури, зміна режиму опадів і збільшення дефіциту води в посушливих і

напівпосушливих районах [26; 27]. Враховуючи глобальні зміни клімату, та прогнозоване підвищення температури повітря найближчими роками, необхідно покращити посухостійкість пшениці при можливій проблемі дефіциту продовольства для зростаючого населення [58; 267]. У цьому випадку важливим питанням є вдосконалення оцінки посухостійкості різних генотипів пшениці експрес-польовими та фізіологічними лабораторними методами.

### **1.3. Харчова якість зерна пшениці**

Харчова якість пшениці визначається низкою сполук у зерні пшениці, включаючи білки, полісахариди, ліпіди, мінерали, важкі метали, вітаміни та фітохімічні речовини, які впливають на ці властивості [5; 195; 465].

Згідно з ДСТУ 3768:2010 залежно від показників якості м'яку пшеницю поділяють на шість класів (класи 1-3 – група А, класи 4-5 – група Б і клас 6), тверду пшеницю залежно від показників якості поділяють на п'ять класів. При розподілі враховують такі показники як: натура, склоподібність, вологість, зернова домішка, сміттєва домішка, сажкове зерно, масова частка білка, масова частка сирії клейковини, якість клейковини, число падання. Чим кращими є ці показники тим вищим є група та клас пшениці. М'яку пшеницю групи А використовують для продовольчих (переважно в борошномельній та хлібопекарській галузях) потреб і для експортування. Пшеницю групи Б і 6-го класу використовують на продовольчі і непродовольчі потреби та для експортування (ДСТУ 3768:2010).

#### **1.3.1. Білки зерна пшениці як важливий показник харчової цінності**

Високий або низький вміст білка залежить від біологічних особливостей сорту та ряду екологічних (температура, опади, вологість/сонячні години тощо) та агрономічних (властивості ґрунту, щільність посіву, терміни та кількість внесення азотних добрив тощо) чинників [195]. Кількість білка в зерні є одним з найважливіших показників якості зерна, характеризує ступінь ситності продукту.

Вміст білків у зерні є важливим фактором, що визначає кінцеву вартість як м'яких, так і твердих сортів пшениці [450]. Збільшення вмісту білків в зерні є основною метою численних селекційних програм пшениці у напрямку покращенням харчової цінності [225; 450].

Зріле, фізіологічно та біохімічно розвинуте зерно зберігає поживні речовини, головним чином крохмаль, білок, олії та мінерали. Висока цінність та незамінність пшеничного борошна зумовлена особливістю структурного складу зернівки. Основними структурними компонентами зернівки є: ендосперм 80–84 %, зародок 20–3 % та висівки (оболонка) 130–17 % (алеїроновий шар 60–9 %). Ендосперм зрілого зерна пшениці містить 550–75 % вуглеводів і 10–20 % білків [158]. Найвищі концентрації мінеральних елементів у зерні пшениці (*Triticum aestivum*) знаходяться у зовнішньому шарі клітин ендосперму – алеїроновому шарі [36], який є концентрованим джерелом вітамінів та мінералів у насінні пшениці, а також багатий білками та ліпідами [320].

Незамінність та багатофункціональність пшениці пов'язані з білковим комплексом, що складається з гліадинів, глютенінів, альбумінів і глобулінів. Гліадини та глютеніни складають приблизно 30 і 50 % від загального білка в зерні пшениці [360; 408].

Останніми роками популярними є продукти з маркуванням “gluten-free” тобто такі які не містять глютену, наприклад безглютенові десерти, випічка й інші продукти. Глютенем називають запасні білки в пшениці, але глютен є сукупністю двох основних типів білків: гліадину та глютеніну. Гліадини складають 40-50 % від загального білка і забезпечують еластичність та міцність клейковини [45]. Глютенін відповідає за еластичність та пружність тіста [359]. Клейковина в тісті створюється з цих білків шляхом змішування пшеничного борошна з водою. В'язкопружні властивості хлібному тісту надає саме глютен, тому він є важливим для якості харчових продуктів з пшениці, таких як хліб і локшина [408]. Окрім того клейковина є показником якості пшениці, який враховують при поділі пшениці на групи і класи, та впливає на вартість продукту. Відповідно до даних, якими володіє

ВООЗ – біля 1 % населення планети страждає на целиацію – спадкову непереносимість глютену, таким людям варто відмовитись від продуктів харчування, які містять глютен. Повідомляється, що структура глютену пшениці полба відрізняється від структури м'яких сортів, тому люди з алергією на глютен можуть безпечно вживати його без будь-яких побічних ефектів [37]. Окрім гліадину та глютеніну, в зерні містяться альбуміни і глобуліни, які є структурними і ферментними білками, в основному, алейронового шару і зародків [169].

Одним із найважливіших факторів, що впливають на вміст білка в зерні є забезпечення рослини необхідними мінералами: N, S, Fe, Zn та ін. Повідомляється, [145] що наявність доступного N в ґрунті та генетичні особливості сорту є основними факторами які впливають на вміст білка в зерні. Основні джерела Нітрогену для рослин – це мінеральні речовини. На відміну від інших поживних елементів, рослини здатні поглинати нітроген ґрунту як у формі катіона  $\text{NH}_4^+$ , так і аніона  $\text{NO}_3^-$ . Кількість доступних форм нітрогену в ґрунті непостійна і залежить від багатьох факторів: механічного складу ґрунту, його фізичних і хімічних властивостей, мікробіологічних процесів, вирощуваних рослин та ін. [443].

### **1.3.2. Особливості поглинання мікроелементів рослинами та їх роль в покращенні харчової цінності зерна**

Мікроелементи регулюють обмінні процеси для забезпечення нормального функціонування біологічної системи в усіх живих організмах. Дефіцит мікроелементів може бути шкідливим і призвести до серйозних проблем зі здоров'ям. Неконтрольовані умови навколишнього середовища та глобальні зміни клімату спричинили селекцію пшениці в напрямку підвищення врожайності і одночасного зниження харчової цінності зерна, особливо вмісту мікроелементів.

Зерно злакових культур є важливим джерелом вуглеводів, білків, мінералів (Zn, Fe, Mn, Mg) та вітамінів (B і E), які є необхідними для збалансованого харчування, покращення здоров'я людини та харчової безпеки, особливо в країнах з низьким розвитком економіки [396; 397]. Проте, зерна більшості злакових



культур, у тому числі пшениці, зазвичай мають низькі концентрації необхідних мікроелементів, таких як Zn та Fe [56; 103; 165]. Покращення елементного складу та харчової цінності злакових культур, в т.ч. сучасних сортів пшениці за допомогою традиційних і біотехнологічних підходів є важливим для вирішення цієї проблеми. У сучасному харчуванні значну частку складають зернові культури, які мають високу калорійність, про те низьку харчову цінність. Для того, щоб прогодувати 9 мільярдів людей, які житимуть на Землі до кінця 21 сторіччя, знадобляться набори технологічних інновацій, у тому числі створення стійких до біотичних та абіотичних сортів пшениці з високою харчовою якістю.

Селекційних підходів на сьогодні є недостатньо для вирішення проблеми підвищення врожайності і збереження якості зерна. Особливо це стосується елементного складу зернівки, зокрема, належного вмісту в зерні та зернопродуктах необхідних мікронутрієнтів (Zn, Cu, Fe), що є важливою проблемою продовольчої безпеки, оскільки приблизно третина людства зазнає прихованого голоду, спричиненого дефіцитом Fe (анемії), Zn або Cu.

Приблизно 43 % дітей віком до п'яти років схильні до анемії через дефіцит Fe [377], а за даними ВООЗ більше 60 % населення світу потерпає від Fe-дефіциту. Близько чверті населення у світі страждає від залізодефіцитної анемії [269]. Що стосується Цинку, то 17,3 % населення стикається з нестачею цинку в їжі [424]. Так само 190 мільйонів дітей дошкільного віку стикаються з дефіцитом вітаміну А [184; 416]. Раніше Р. White та М. Broadly [428] показали, що 340 мільйонів дітей страждають від недоїдання, що призводить до затримки росту, виснаження або надмірної ваги, що призводить до таких розладів, як ксерофтальмія, захворювання шкіри та рак [384].

У середньому здоровій дорослій людині потрібно по 15 мг Fe і Zn та 600 мкг вітаміну А. Однак ця вимога не задовольняється через їжу, яку споживає більшість населення. Таким чином, зазвичай основний раціон містить лише 2–3 мг Fe, 7–8 мг Zn і сліди вітаміну А, чого недостатньо для підтримки людського організму [384].

Метали є необхідними для рослин, але можуть стати токсичними, якщо їх концентрації занадто високі: Co, Fe, Cu, Cr, Mn, Zn. На сьогодні є велика кількість опублікованих експериментальних даних щодо концентрації мікроелементів (Cu, Fe, Mn, та Zn) у зерні сортів *T. aestivum* [56; 103; 106; 165]. Різні дослідження показують широкі діапазони концентрацій Fe та Zn у зерні серед генотипів пшениці. Діапазони концентрації Zn 32–57 мг·кг<sup>-1</sup> та Fe 39–58 мг·кг<sup>-1</sup> серед генотипів ярої пшениці згідно з R. Chatrath та ін. [82].

Давні сорти пшениці, наприклад тетраплоїдна пшениця *Triticum turgidum* subsp. *dicocum* все більше визнається цінним джерелом харчування через високий вміст стійкого крохмалю, целюлози, каротиноїдів, білків, антиоксидантних сполук та вітаміни B2, B5, B6 і A [37; 92; 393]. Згідно з даними, такі пшениці як *T. monococum*, *T. dicoccon* та *T. dicoccoides*, накопичують більше Fe і Zn в зерні порівняно з іншими культивованими видами [74; 75; 265], однак наше розуміння молекулярних і фізіологічних механізмів що лежить в основі цієї риси, все ще обмежено.

У рослинах Zn бере участь у вуглеводному обміні [34], метаболізмі ауксинів [33], діє як потужний антиоксидант та відіграє важливу роль у нормальному розвитку тканин квітів, цвітінні, заплідненні, плодоношенні та розвитку зерна [137; 172]. Цинк є важливим компонентом тисяч білків рослин, хоча в надлишку він токсичний. Крім того, Zn бере участь у розвитку колеоптиля та проростанні насіння [282]. Насіння з вищою концентрацією Zn, показало більшу схожість насіння та ранній, рівномірний схід посівів [72]. Дефіцит Zn впливає на врожайність зерна, утворення пилку, розвиток коренів та листків, а також на поглинання та транспорт води [33; 392]. Більшість Zn-регульованих ферментів беруть участь у регуляції транскрипції ДНК, сплайсингу РНК та трансляції [172].

Fe є життєво необхідним мікроелементом для рослин. Як окислювально-відновний метал Fe є компонентом багатьох життєво необхідних для рослин ферментів [338], бере участь у фотосинтезі, мітохондріальному диханні, засвоєнні Нітрогену та Сульфуру, осмотичному регулюванні, біосинтезі гормонів (етилен,

гіберелова кислота, жасмонова кислота), ДНК та захисті від патогенів [172; 222]. Особливо важлива роль Fe в утворенні хлорофілу [179]. Дефіцит біодоступного Fe в ґрунті є причиною зниження фотосинтезу [398], мітохондріального дихання, формування білкових комплексів [460] що спричиняє пригнічення росту та розвитку рослин [200; 202].

Cu є редокс-активним перехідним металом, який є кофактором для великої кількості ферментів, які залучені у реакціях перенесення електронів [69]. Тому, він бере участь у синтезі клітинної стінки, фотосинтезі, диханні, метаболізмі Нітрогену та пригнічує розвиток оксидативного стресу внаслідок якого утворюються АФО [172]. Дефіциту Cu знижує плодючість рослин, пригнічує утворення квіток, уповільнює ріст всієї рослини та обмежує продуктивність рослин і врожайність [66; 69; 306; 357].

Концентрація мікроелементів в зернах пшениці визначається генетичними характеристиками, проте, спостерігається залежність і від цілого ряду інших чинників, зокрема погодних умов [375], типу ґрунту [151] та сільськогосподарських факторів [47].

Дефіцит мікроелементів у ґрунті в основному пояснюється інтенсивним використанням хімічних добрив, які перевищують рекомендовану дозу, ерозією ґрунту та іншими агрономічними методами, які перешкоджають переміщенню мікроелементів. Це порушує рівновагу поживних речовин у ґрунті, спричиняє дисбаланс у кількості органічної речовини та Фосфору, що особливо посилюється на таких ґрунтах, як вапняні, заболочені, торф'яні, посушливі, лужні, піщані та солоні ґрунти, що в результаті призводить до порушення структури та функціонування ґрунту [34; 435]. Окрім того, стратегія внесення добрив може призводити до накопичення у ґрунті токсичних рівнів Cu і Cd [71]. Показано, що одним із ефективних шляхів покращення мінерального складу зерна є внесення цинквмісних добрив у ґрунт або позакореневе та комбіноване їх внесення [134]. Встановлено, що позакореневе підживлення є ефективним для підвищення концентрації Цинку та Феруму в зерні злакових [309]. Застосування сульфату

Феруму ( $\text{FeSO}_4$ ) та сульфату Цинку ( $\text{ZnSO}_4$ ) як добрива, збільшували висоту рослин пшениці, висоту колоска, кількість колосків у колосі, кількість зерен на колос, масу 1000 зерен, економічну та біологічну врожайність, вміст Кальцію, Магнію, Феруму, Цинку, Купруму та білка [309]. Комбінація Zn і Fe як позакореневе обприскування ( $0,5\% \text{ ZnSO}_4$  і  $1\% \text{ FeSO}_4$ ) підвищувала врожайність посівів пшениці та якісні показники зерна [309]. Разом з тим відомо, що вміст Fe в зерні корелює із вмістом інших важливих мікроелементів, у т.ч. Zn, S та ін. [215], що свідчить про необхідність створення сортів, які б містили необхідну для забезпечення здоров'я людини кількість цього елемента.

Від типу ґрунту та його кислотності залежить вміст та доступність мікроелементів для рослин. Рослини здійснюють мобілізацію та сольобілізацію катіонів металів через кореневі виділення декількома біохімічними шляхами: підкислення ризосфери через органічні кислоти в корневих ексудатах; утворення розчинного комплексу іонів металу з амінокислотами або органічними кислотами та іншими хелаторами; внаслідок ферментативної окисно-відновної реакції; або опосередковано через біостимулюючий ефект корневих ексудатів завдяки корисним мікроорганізмам в ризосфері [295; 353].

Поглинання та транспорт мікроелементів є різними процесами. У деяких генотипів сільськогосподарських культур ефективність поглинання мікроелементів є дуже високою, але переміщення мікроелементів від коренів до пагонів та їх завантаження в зерно є на низькому рівні [365]. Тому, транспорт або перерозподіл мікроелементів у частинах рослин є важливим процесом який необхідно регулювати, щоб збільшити мікроелементи в їстівних частинах рослини.

У земній корі є велика кількість Fe і Zn, але вони недоступні для рослин, оскільки присутні у формі нерозчинних солей. Мобілізація Fe в рослинах часто відбувається через хелатування з фітосидерофорами, такими як цитрат, нікотинамін (NA) і mugineic acid (MA) (стратегія II) або у формі вільних іонів заліза –  $\text{Fe}^{2+}$  (як рослини стратегії I, так і стратегії II) [460].  $\text{Fe}^{2+}$  це вільна форма Феруму, яка обмежена в ґрунті.  $\text{Fe}^{2+}$  є більш розчинною формою і може поглинатися

корінням усіх видів рослин, але він легко окислюється до  $\text{Fe}^{3+}$  завдяки хімічним реакціям.  $\text{Fe}^{3+}$  є найбільш домінуючою формою Феруму в ґрунті, проте, вона є нерозчинною, тому недоступною для рослин [250]. У зв'язку з цим рослини розробили різні механізми отримання достатньої кількості Феруму в умовах дефіциту. Незлакові рослини, відомі як рослини стратегії I, використовують механізми на основі відновлення іонів заліза ( $\text{Fe}^{3+}$ ) до вільної форми іонів  $\text{Fe}$  ( $\text{Fe}^{2+}$ ) на поверхні кореня за допомогою гена FRO2, та поглинання утворених іонів  $\text{Fe}$  через плазматичну мембрану кореня яке регулюється геном транспортером Феруму IRT1. Злакові рослини, в тому числі пшениця, відомі як рослини стратегії II, мають хелатну стратегію для отримання  $\text{Fe}^{3+}$ . Рослини стратегії II виділяють фітосидерофор (PS), який утворює розчинний комплекс  $\text{PS-Fe}^{3+}$  у ризосфері, і поглинається корінням рослин та транспортується специфічними білками плазмалеми [221; 364].

Цинк є найменш доступним мікронутрієнтом у світі [64]. Нерозчинний  $\text{Zn}$  становить  $> 90\%$   $\text{Zn}$  у ґрунті та недоступний для поглинання рослинами. Сульфат  $\text{Zn}$  є найпоширенішим джерелом  $\text{Zn}$ , зокрема через його вищу розчинність порівняно з оксидами та карбонатами [150]. Катіони  $\text{Zn}$ , присутні в низьких кількостях у ґрунтового розчині [35], отже і біодоступність іонів  $\text{Zn}$  у ґрунті є дуже малою. Основним фактором, який впливає на розподіл і видоутворення  $\text{Zn}$  у ґрунті є рН ґрунту [23]. Зазвичай  $\text{Zn}$  більш біодоступний за кислого рН, ніж лужного рН [299].  $\text{Zn}^{2+}$  є переважаючою формою  $\text{Zn}$  при нейтральному рН, при лужному рН (нижче 7,7)  $\text{ZnOH}^+$ , за рН 7,7–9,1 переважає нейтральна форма  $\text{Zn(OH)}_2$  [341]. Рослини здатні виділяти кореневі ексуданти в ґрунт, які покращують солубілізацію  $\text{Zn}$  та мають здатність утворювати комплекси з  $\text{Zn}$ , тим самим підвищуючи його мобільність на накопичення в органах рослин. Такі хелатори утворюють розчинні комплекси з  $\text{Zn}^{2+}$  та зменшують його взаємодію з компонентами ґрунту [44]. Ексудати коренів рослин значно збільшують розчинну частку  $\text{Zn}$  у ґрунтового розчині через різні біохімічні процеси [461].

У ґрунтах  $\text{Cu}$  утворює комплекси із органічною речовиною, які є недоступні для рослин [378]. В основному,  $\text{Cu}$  у ґрунті знаходиться у формі  $\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_5\text{OH}$ . Вміст рухомим форм  $\text{Cu}$  залежить від окисно-відновних умов, з посиленням окисних процесів вміст  $\text{Cu}$  зменшується. Окрім того вміст  $\text{Cu}$  залежить від кислотності ґрунту, із підлугування середовища вміст доступних форм  $\text{Cu}$  збільшується [325; 378].

Мікроорганізми відіграють значну роль в забезпеченні рослин необхідними мінеральними елементами. У багатьох типах ґрунтів негативно заряджені форми Фосфору приєднані до катіонів, таких як Ферум, Алюміній і Кальцій. Мікроорганізми мають вирішальне значення для забезпечення доступності цього Фосфору для рослин. Наприклад, бактеріальні ферменти можуть збільшувати концентрацію протонів у ґрунті за рахунок виробництва органічних кислот, і ця зміна рН сприяє розчиненню неорганічного Фосфору [204]. Існують різні механізми, за допомогою яких мікроорганізми збільшують доступність  $\text{Zn}$  і  $\text{Fe}$  в ґрунті та посилюють їх мобілізацію в органах рослин. Серед них: синтез сидерофорів та інших хелатуючих речовин, виділення органічних кислот і екструзія протонів, зміна морфології та анатомії кореня, підвищена регуляція транспортерів  $\text{Zn}$  і  $\text{Fe}$ , зменшення фітинової кислоти, секреція фенольних сполук та фітогормонів як сигнальних молекул [364].

Серед можливих шляхів розв'язання проблеми низького вмісту мінералів в зерні – біофортифікація [165; 309]. Тому, актуальним на сьогодні є вивчення складних фізіологічних механізмів підтримки необхідної концентрації  $\text{Fe}$ ,  $\text{Cu}$  та  $\text{Zn}$  в рослинних тканинах та створення сортів пшениці з підвищеною здатністю до його накопичення в зерні шляхом біофортифікації, яка передбачає використання методів молекулярної селекції та генної інженерії. Для цього здійснюють пошук генів та молекулярних маркерів накопичення мікроелементів у зерні пшениці, що дозволить селекціонерам покращити існуючі сорти або створити нові з урахуванням ґрунтових та кліматичних умов.

#### **1.4. Бактеріальні ендofіти та їх роль в покращенні харчової цінності зерна пшениці**

Рослини розробили різноманітні механізми, щоб впоратися з негативним впливом біотичних і абіотичних факторів, одним з таких є зв'язок рослин з бактеріями. Згідно з літературними даними, бактеріальні ендofіти можуть служити інструментами для розробки нових стратегії для біофортифікації та підвищення продовольчої безпеки [364; 411]. Цей підхід на сьогодні є недостатньо дослідженим проте багатообіцяючим, він передбачає вивчення взаємодій між бактеріями та рослинами, які відіграють вирішальну роль у покращенні поживного статусу ґрунту та збагаченні мікроелементами через сольобілізацію, мобілізацію та переміщення потрібних елементів до різних органів рослини [7; 85; 310]. Встановлено, що мікроорганізми можуть бути використані для посилення накопичення мікроелементів у зерні основних зернових культур таких як рис та пшениця [301; 311; 364].

Через складність зв'язків між мікроорганізмами та рослиною на сьогодні необхідні дослідження для розуміння фундаментальних механізмів, що лежать в основі стимулювання росту рослин RGPB (ріст-стимулюючі бактерії). Між рослиною та мікроорганізмами можливі ендofітні, епіфітні чи ризосферні взаємодії (рис. 1.1) [159; 192; 239; 433].

Ендofітний мікробіом рослин утворений групами мікроорганізмів, у т.ч. бактерій, пов'язаних взаємозалежними зв'язками, які значною мірою впливають на обмін речовин, ріст та стійкість рослини [91; 249]. Дослідження різноманітності ендofітного мікробіому різних сортів пшениці перспективне з огляду на можливість виявлення виграшного складу бактеріальних угруповань, які потенційно можна розглядати як засіб підвищення стійкості, збільшення врожайності та покращення харчової цінності зерна цієї культури. Взаємодії між рослинами та ендofітними бактеріями часто мутуалістичні. Рослина забезпечує бактерії поживними речовинами, а бактерії захищають рослину від патогенів,

сприяють синтезу фітогормонів і фіксації азоту, а також підвищують поглинання мінеральних речовин [381].



**Рис. 1.1.** Типи взаємодій між ріст-стимулювальними бактеріями (PGPB) і рослинами [159].

Вивчення ендофітів та механізмів їх впливу на рослини, є новою перспективною стратегією пом'якшення несприятливого впливу глобальних змін клімату на рослинництво, та покращення харчової цінності продуктів рослинного походження. Зокрема, корисні штами бактеріальних ендофітів пшениці можна розглядати як інструменти для підвищення врожайності та збільшення концентрації мікроелементів у зерні пшениці, наприклад, шляхом біозбагачення [89; 321; 365; 366; 371; 426; 429].

Термін “endophyte” походить від “endon” що означає всередині та “phyton” що означає рослина [433]. Термін “ендофіт” уперше використав у 1886 р. Антуан де Барі для позначення мікроорганізмів (грибів, дріжджів та бактерій), які колонізують внутрішні тканини рослин [116]. У 1904 були розпочато перші дослідження ендофітів виділених з *Agrostemma githago* L., які були зосереджені на чисельності та видовій різноманітності, але не на їх взаємодії [387]. Після 1980-х років, у період активного ізолювання ендофітів із багатьох видів трав'янистих рослин, хвойних і листяних дерев, завдяки розвитку нових молекулярно-



генетичних методів досліджень розпочинається вивчення їхніх взаємодій із рослинами [77; 296].

Нещодавній швидкий прогрес у високопродуктивній технології секвенування ДНК, методів геномного та метагеномного аналізів дав можливість набагато повніше досліджувати мікроорганізми ендосфери важливих сільськогосподарських культур і модельних видів рослин, відкриваючи відмінності структури мікробних угруповань, залежні від частини рослини й умов середовища, поглиблювати наше розуміння ролі рослинного мікробіому [355]. У 2021–2022 роках загальна кількість індексованих наукових публікацій за пошуком “Wheat + bacterial endophytes” у PubMed перевищила 1500 публікацій, у Scopus налічувала 1858 і 1612, відповідно, зростаючи більш як удвічі, порівняно з 2018 р..

Визначення терміна ендofіти за сторіччя зазнало уточнень. У роботі P. R. Hardoim зі співавторами [176] ендofітами названо організм, який має існувати всередині рослини незалежно від функцій і наслідків асоціації з нею. Згодом K. Le Cocq та ін. [235] і L. S. Van Overbeek та K. Saikkonen [410] ендofітами запропонували вважати “мікроорганізми, що колонізують внутрішні тканини рослин, принаймні упродовж частини їхнього життєвого циклу, не спричиняючи симптомів захворювання”. Тепер бактеріями-ендofітами рослин називають мікроорганізми, життєвий цикл яких частково або повністю відбувається всередині рослини. Кожен вид рослин має свій особливий ендofітом, який існує взаємовигідно, нейтрально або вигідно для рослини [226; 459].

Програми використання мікроорганізмів, включаючи бактеріальні ендofіти, тобто асоційованих з рослинами бактерій які живуть у внутрішніх тканинах, набувають все більшого значення для покращення властивостей ґрунту, підвищення врожайності та накопичення поживних речовин в органах рослин [298], особливо в пшениці, кукурудзи та рису [19; 311].

Стратегія застосування ендofітів в сільськогосподарських системах у великих масштабах поки не відома. Найбільш очевидний підхід – додавання інокулянтів в ґрунт або інокулювання насіння. Є повідомлення проте, що цей підхід був

успішним для цукрової тростини [111]. Ключовим фактором для введення ендofітів є їх поведінка за певних умов, важливо вивчити їх повні життєві цикли та пластичність геному, щоб оцінити їх ризик стати патогенними або через зміну абіотичних чинників або через адаптацію до альтернативного господаря [319]. Однак, незважаючи на успіх кількох відомих взаємодій між ендofітами та рослинами [176], наша залежність від агрохімікатів продовжує мати перевагу над альтернативними рішеннями.

Ендofітні бактерії належать до мікроорганізмів, життєвий цикл яких частково або повністю проходить всередині рослини. Колонізаційна поведінка ендofітів залежить від багатьох чинників, зокрема від генотипу рослини, типу рослинної тканини, біотичних та абіотичних факторів навколишнього середовища [258; 415].

Відомо, що кожен вид рослин має свій власний ендofітний мікробіом який працює взаємовигідно або вигідно для рослини-господаря [226; 459]. Як правило, ендofіти розташовані у внутрішньо- та міжклітинних просторах або в судинній тканині, їх можна ізолювати як з надземної частини так і з коренів [347].

Важливим у процесах колонізації бактеріями-ендofітами є генотип рослини та природний склад ґрунту [68]. Окрім того, асоціації ендofітних бактерій змінюються з віком рослини та зі зміною факторів середовища [198]. Корінь вважається головним органом через який мікроорганізми потрапляють в рослину і має найвищу різноманітність ендofітних бактерій. Багато бактеріальних ендofітів походять із ризосфери рослин завдяки кореневим виділенням [102; 128]. В певній мірі поверхні стебла і листів також виробляють ексудат який притягує мікроорганізми. Однак УФ-світло, нестача поживних речовин та води, як правило, зменшують колонізацію листових поверхонь [176]. Природний склад ґрунту та генотип рослини також вважаються важливими для залучення бактеріальних ендofітів рослиною-господарем. Детальне дослідження корневих ендofітів рослин арабідопсису вирощених на різних типах ґрунтів, інформує проте, що тип ґрунту, ймовірно, впливає на склад спільноти бактеріальних ендofітів, знайдених у коренях господаря. Це вказує на те, що різні типи ґрунту можуть бути заселені

різноманітними бактеріальними популяціями, які служать початковим інокулятом [68]. Ґрунтові мікроорганізми впливають на доступність необхідних мікроелементів через солюбілізацію та хелатування [301]. Бактерії, що стимулюють ріст рослин (PGPB) (ендофіти та/або ризосферні бактерії) підвищують доступність основних елементів для рослин. Інокуляція коренів рослин ендофітами збільшує ендофітну мікробіоту пшениці, синтез сидерофорів і тим самим покращує ефективність поглинання мікроелементів [429].

Відомо, що мікроорганізми відіграють вирішальну роль у біозбагаченні Zn і Fe у зернах злаків [310; 356]. Як ризосферні, так і ендофітні мікроорганізми мають значний вплив на біодоступність мікроелементів для рослин. Однак ендофітні бактерії вважаються більш перспективними агентами для посилення поглинання та накопичення корисних речовин, зокрема Fe та Zn, та росту рослин ніж ризосферні бактерії, оскільки ендофітні мікроорганізми можуть опосередковано впливати на регуляцію транспортерів металів завдяки кращому контакту з тканинами рослин [263; 322; 425].

Багато досліджень зосереджено на виділенні й ідентифікуванні ендофітних бактерій із різних органів і тканин пшениці [12; 86; 228; 327; 466]. Ендофіти насіння є надзвичайно цікавими для досліджень завдяки їхній здатності до вертикального перенесення і наявності в наступних поколіннях [98; 99; 176; 281; 347; 402]. Корисна ендофітна спільнота передається нащадкам разом із її корисними властивостями [144], забезпечуючи становлення і сталість бактеріального мікробіому проростків, що продемонстровано на різних культурах, таких як: рис [205], евкалипт [144], кукурудза [329]. Особливістю цієї групи ендофітів є їхня здатність утворювати ендоспори, забезпечуючи таким чином захист від зміни умов усередині насіння. Асоційовані з насінням мікроорганізми також важливі для його збереження та проростання, оскільки можуть виділяти цитокініни – фітогормони, які порушують стан спокою насіння та пригнічують мікробні інвазії [84; 355]. Вважають, що ендофіти із насінневих зародків розмножуються під час проростання у зародкових листках, далі мігруючи до стебла і генеративних органів [355]. Аналіз

16S рибосомальних РНК з'ясував ідентичність майже 30 % бактерій-ендофітів у дорослих особин і проростків, вирощених зі стерилізованого насіння, що вказує на важливість ендомікробіому насіння для дорослої рослини [101].

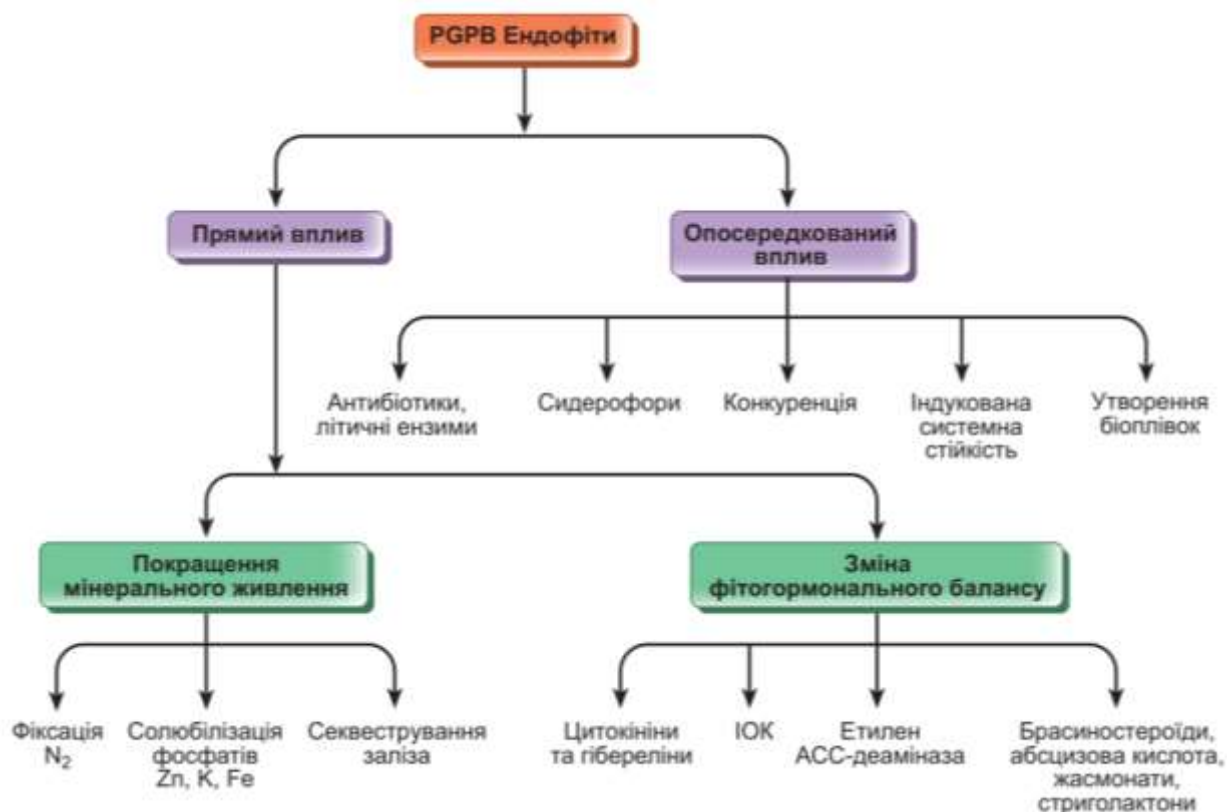
Достовірних даних щодо бактеріальних ендофітів зерна пшениці та справжнього вертикального перенесення їх відносно мало [98; 176; 281]. На прикладі ізольованих зародків *Triticum aestivum*, показано, що справжнє вертикальне перенесення відбувається не завжди: поверхнево стерильні зародки без жодного успіху інкубували з потенційними ендофітами [331]. Водночас саме ці бактерії цікаві з комерційного погляду – для створення біодобрив і біоремедіації.

Величезна різноманітність метаболічних шляхів, які характерні для ендофітів відіграють важливу роль у формуванні імунітету рослин, солюбілізації Фосфору, Калію та Цинку, фіксації N<sub>2</sub>, сприяючи тим самим росту та розвитку рослин та підвищенні врожайності, окрім того їх можна використовувати як цінний інструмент для біоремедіації. [218; 333]. З іншого боку, ендофіти здатні синтезувати вторинні метаболіти такі як рослинні фітогормони або їх попередники, вітаміни B<sub>12</sub> [186] і B<sub>1</sub> та метаболіти, які можуть мати протигрибкові та антибактеріальні властивості [259; 376]. На сьогодні є багато публікацій де бактеріальні ендофіти визначають як є джерело фітогормонів та різноманітних вторинних метаболітів [133; 161; 192; 366; 298].

Механізми стимулювання росту рослин за рахунок бактеріальних ендофітів були визначені [364] та включають (1) секрецію органічних кислот та екструзію протонів, як наслідок – солюбілізування елементів мінерального живлення; (2) непряму активацію транспортерів Zn і Fe; (3) секрецію фітогормонів (ауксини (ІОК), цитокініни, абсцизова кислота, брасиностероїди, етилен, гібереліни, жасмонати, стриголактони), деяких амінокислот і низки вторинних метаболітів (рис. 1.2.) [24; 60; 133; 255; 321; 348; 363].

Синтез бактеріями індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК) класифікують як фактор прямого стимулювання росту: ІОК ендофітів діє синергічно разом з ендегенною ІОК рослини [133; 321]. Окрім цього, ІОК є основною ефекторною молекулою у

фітостимулюванні, забезпеченні імунітету під час взаємодії рослина-мікроорганізм [57; 240; 304; 374]. М. Woźniak зі співавторами [433] зазначають, що більшість ізольованих бактеріальних ендофітів відрізняється за здатністю продукувати ІОК залежно від: 1) штаму та роду бактерій, 2) рослини, з якої вони виділені, 3) наявності в середовищі амінокислоти-попередника.



**Рис. 1.2.** Імовірні механізми ріст-стимулювального впливу ендофітних PGPB на рослину

Деякі бактерії ендофіти здатні синтезувати ензим АСС-дезаміназу, яка блокує надмірне виділення етилену [159; 294]. Оптимальне функціонування цих бактерій супроводжується синергізмом взаємодії між АСС-дезаміназою і як ауксинами рослини, так і бактеріальною ІОК. Ці бактерії не тільки безпосередньо сприяють росту рослин, вони також захищають рослини від посухи, засолення, в'янення квітів, іонів металів, органічних забруднень, а також від бактеріальних і грибових патогенів.

Багато досліджень зосереджено на ізоляції ендофітних бактерії з різних органів та тканин пшениці [7; 86; 327; 466]. Ізольовано та ідентифіковано багато

бактерій ендоефітів пшениці, які належать до різних родів, включаючи *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Chitinophaga*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Kocuria*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Leifsonia*, *Microbispora*, *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Mycobacterium*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Roseomonas*, *Kosakonia*, *Sphingobium*, *Staphylococcus*, *Streptomyces* та *Xanthomonas* [136; 253; 312; 413; 466].

Проте, що ґрунтові мікроорганізми впливають на доступність необхідних макро- та мікроелементів унаслідок переведення в доступну форму (солубілізуванню) чи хелатування, відомо вже досить давно [41; 213; 326]. З'ясовано, що біодоступність основних мінеральних елементів підвищують більшість RGPB (і ендоефітів, і ризосферних бактерій). Величезне різноманіття метаболічних шляхів, властивих ендоефітам, надзвичайно важливе для солубілізуванню Фосфору (P), Калію (K), Цинку (Zn), Феруму (Fe), Купруму (Cu); фіксації N<sub>2</sub> і стимулювання таким чином росту й розвитку, підвищення врожайності рослин. Окрім цього, такі властивості можна застосувати і для біоремедіації середовища [218; 333].

Збільшення концентрації мікроелементів в зерні пшениці шляхом інокуляції ендоефітами різних родів останніми роками заявлено як один із підходів до біофортифікації пшениці [189; 207; 364; 365; 366; 401; 429]. Мікроорганізмам відводять вирішальну роль у технологіях біозбагачення зерна злаків Zn і Fe [310; 356; 364]. Важливо, щоб ці елементи концентрувалися в ендоспермі та зародках, оскільки насінневі покриви втрачаються під час технологічної обробки зерна [280]. Якщо порівнювати вплив ендоефітів із ризосферними бактеріями, то окремо виділяють їхню здатність опосередковано впливати на роботу транспортерів металів під час контакту з рослинними тканинами [125; 425; 246]. Ендоефіти здатні виробляти сидерофори, сполуки, які хелатують іони Fe, утворюючи Fe<sup>3+</sup>, котрий згодом потрапляє всередину клітини мікроорганізму. Конкуруючи за цей елемент із фітопатогенами, ендоефіти захищають рослину-хазяїна від хвороб [133; 340]. Сидерофори *Pseudomonas* spp. здатні утворювати комплекси з іонами

двовалентних металів ( $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ) в умовах їхнього надлишку, а тому розглядають можливості використання їх не лише в агробіотехнологіях, а й у біоремедіації різних середовищ [15].

Встановлено, що інокуляція коренів пшениці бактеріями-ендофітами збагачує мікробіом, впливає на синтез сидерофорів і тим самим покращує ефективність поглинання мікроелементів [426]. Незважаючи на зростання кількості наукових публікацій, знання про роль окремих родів ендоефітних бактерій у засвоєнні мікроелементів у польових умовах є недостатні [307; 312; 364; 365]. Приміром, позакореневе одночасне внесення ендоефітних бактерій *Enterobacter* sp. MN17 і *Burkholderia phytofirmans* PsJNy та мікродобрив у польовому експерименті збільшило концентрацію макро- (N, P, K) і мікроелементів (Fe, Cu, Mn, Zn і B) у зерні, підвищило загальну врожайність [445]. Ендоефіти *Bacillus* spp., *Arthrobacter* spp. [207; 365; 366; 413] та *Pantaea* spp. [207] збільшували вміст Zn. У польовому експерименті позакореневе внесення ендоефітних бактерій збільшило висоту рослин пшениці, площу листків, висоту колоса та біомасу рослин [445].

Існує багато чітко визначених мікробіологічних методів для аналізу бактерій у ґрунті, але методи аналізу та визначення бактерій ендоефітів все ще обмежені [53]. Гени рРНК дозволяють використовувати їх для філогенетичних досліджень та систематики. Послідовності генів 16S рРНК є чудовим джерелом інформації про наявність бактерій як у ґрунті так і в тканинах рослин [190]. Рибосомна ДНК (рДНК) – це родина генів, які кодують рибосомну РНК (рРНК). Основною функцією рРНК є синтез білків, адже їх молекули є основними функціональними елементами рибосом [171]. Зважаючи на важливість їх функції, гени рРНК містяться у всіх живих організмах, що дозволяє використовувати їх для філогенетичних досліджень та систематики [78].

Дослідження різноманітності мікроорганізмів та їх функцій у рослинно-ґрунтових середовищах вийшли на новий рівень завдяки застосуванням методів секвенування наступного покоління (NGS) [50; 279]. Використання платформ NGS забезпечило потужну альтернативу для аналізу мікробних спільнот у порівнянні з

секвенуванням 16S рДНК для культивованих бактеріальних ізолятів або бібліотек клонів [328].

Зважаючи на все вищесказане, доцільним є вивчення фізіологічних основ формування якісного врожаю зерна пшениці в умовах польового експерименту за різної біодоступності мікроелементів, із акцентом на посухостійкість, вміст і перерозподіл мікроелементів, зокрема Феруму (Fe), Цинку (Zn), Купруму (Cu) в різних органах пшениці з подальшим завантаженням в зерно. Оскільки, деякі бактеріальні ендосфити пшениці мають здатність сприяти росту та покращенню мінерального живлення цілої рослини, важливо встановити ймовірну роль бактерій-ендосфитів в підвищенні врожайності та харчової якості зерна пшениці. З'ясування цих питань і присвячені наші дослідження.



## РОЗДІЛ 2. УМОВИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

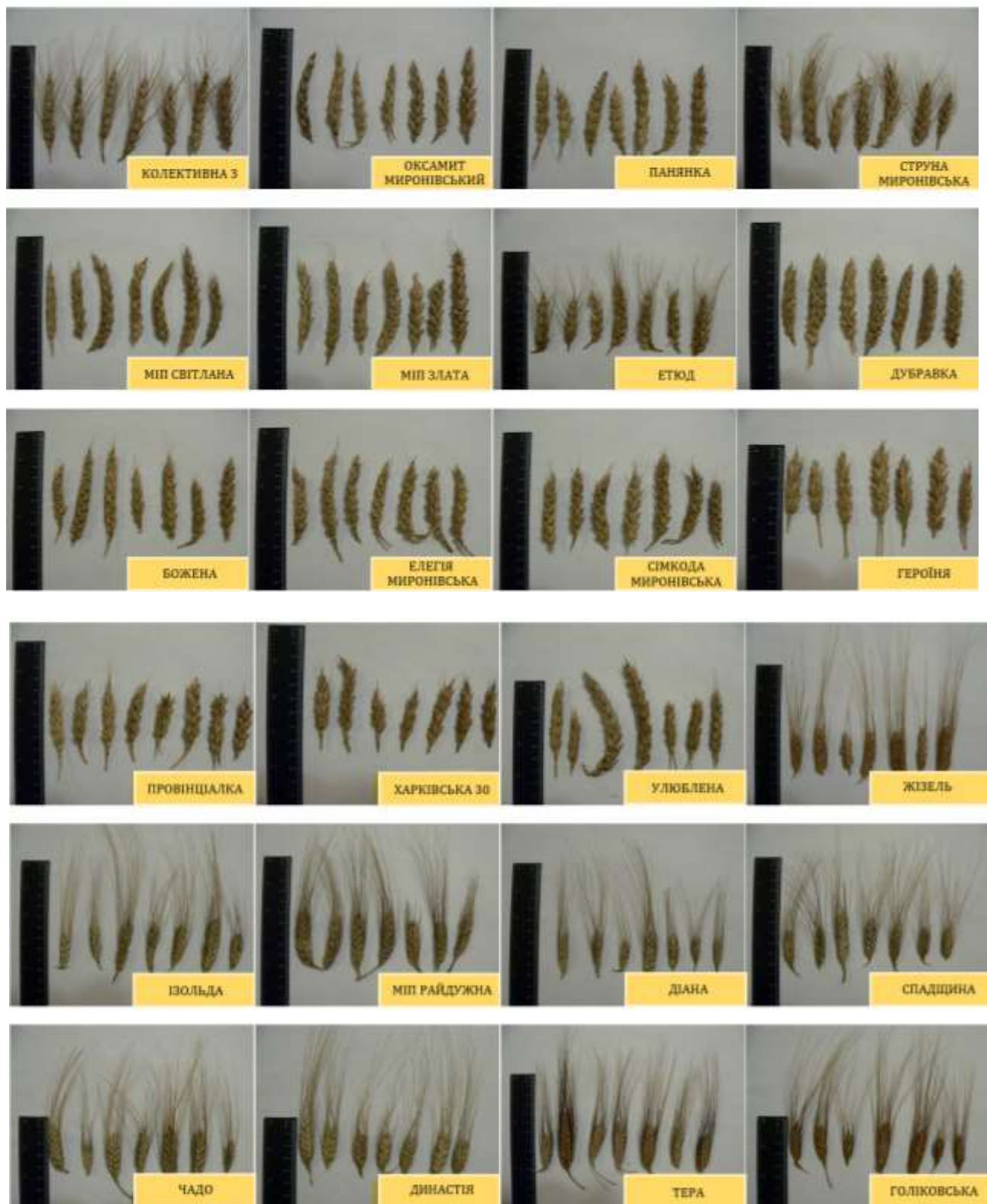
### 2.1. Характеристика досліджуваних сортів пшениці

Для досліджень використано насіння 24 генотипів пшениці ярої з Державного реєстру сортів придатних для вирощування в Україні [4]: *Triticum aestivum* L., *Triticum turgidum* subsp. *durum* Desf., *Triticum turgidum* subsp. *dicoccum*. Сортозразки отримано з Миронівського інституту пшениці імені В. М. Ремесла НААН України (МІП), Харківського Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН України (ХІР) та Носівської селекційно-дослідної станції (НСДС) (табл. 2.1, рис. 2.1).

Таблиця 2.1.

Класифікація сортів пшениці ярої, використаних у дослідженні

СОРТ	ТАКСОНОМІЧНА КЛАСИФІКАЦІЯ	ОСТИСТІТЬ	СОРТО- ВЛАСНИКИ	РІК РЕЄСТРАЦІЇ
Колективна 3	<i>Triticum aestivum</i> L.	остиста	МІП	2000
Оксамит миронівський	<i>Triticum aestivum</i> L.	безоста	МІП	2017
Панянка	<i>Triticum aestivum</i> L.	безоста	МІП	2015
Струна миронівська	<i>Triticum aestivum</i> L.	остиста	МІП	2008
МІП Світлана	<i>Triticum aestivum</i> L.	безоста	МІП	2017
МІП Злата	<i>Triticum aestivum</i> L.	безоста	МІП	2017
Етюд	<i>Triticum aestivum</i> L.	остиста	МІП	2006
Дубравка	<i>Triticum aestivum</i> L.	безоста	МІП	2017
Божена	<i>Triticum aestivum</i> L.	безоста	МІП	2017
Елегія миронівська	<i>Triticum aestivum</i> L.	безоста	МІП	2004
Сімкода миронівська	<i>Triticum aestivum</i> L.	безоста	МІП	2013
Жізель	<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> Desf.	остиста	МІП	2008
Ізольда	<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> Desf.	остиста	МІП	2004
МІП Райдужна	<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> Desf.	остиста	МІП	2017
Діана	<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> Desf.	остиста	МІП	2015
Героїня	<i>Triticum aestivum</i> L.	безоста	ХІР	2005
Харківська 30	<i>Triticum aestivum</i> L.	безоста	ХІР	2003
Улюблена	<i>Triticum aestivum</i> L.	безоста	ХІР	2014
Спадщина	<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> Desf.	остиста	ХІР	2006
Чудо	<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> Desf.	остиста	ХІР	2004
Династія	<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> Desf.	остиста	ХІР	2014
Голіковська	<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>dicoccum</i>	остиста	ХІР	2015
Провінціалка	<i>Triticum aestivum</i> L.	безоста	НСДС	2016
Тера	<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> Desf.	остиста	НСДС	2014



**Рис. 2.1.** Загальний вигляд колосів дослідних сортів пшениці ярої. Етап повної стиглості GS89.

Обрані сорти пшениці ярої рекомендовані для вирощування в Степу, Лісостепу та Поліссі. Для більшості сортів рекомендовані ранні строки сівби – перші дні початку польових робіт. Тривалість вегетаційного періоду в середньому 101 доба.

Більшість досліджуваних сортів низькорослі, що забезпечує стійкість до вилягання. Сорт Елегія миронівська заявлений сортовласниками як стандарт. Сорт полба Голиковська середньостиглий, на відміну від класичної полби має незначну плівчастість (на рівні 17%), Серед досліджуваних сортів 12 остистих та 12 безостих сортів пшениці.

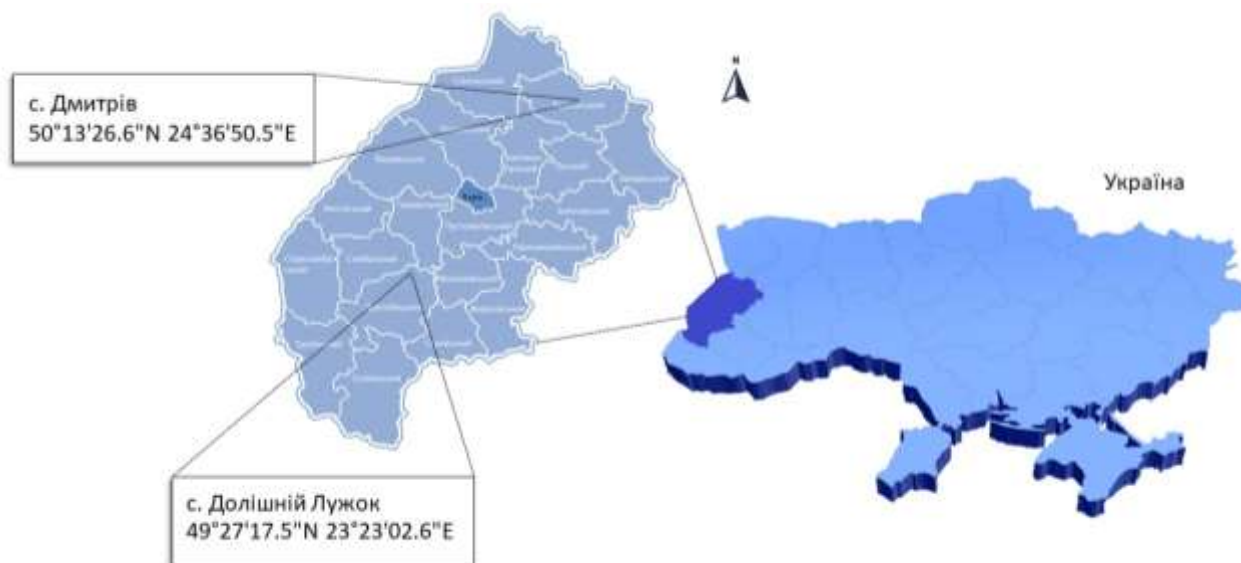
Дослідження проводили на різних етапах росту рослин, відповідно до кодів фенологічних стадій росту зернових культур (GS00 – GS99) за класифікацією Zadoks [452].

## **2.2. Умови польових досліджень**

Дослідження здійснювали у польових умовах на ґрунтах із різним рН у Дрогобицькому районі в межах с. Долішній Лужок 49°27'17.5"N 23°23'02.6"E (надалі дослідна ділянка Д. Лужок) та Радехівському районі с. Дмитрів 50°13'26.6"N 24°36'50.5"E (надалі дослідна ділянка Дмитрів) Львівської області (рис. 2.2, рис. 2.3).

Тривалість польових досліджень становила два роки, впродовж вегетаційних сезонів 2017-18 років. Рослина попередник – гречка. Для підживлення пшениці як основне добриво використовували N 120 кг/га, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 10 кг/га та K<sub>2</sub>O 29 кг/га, яке вносили у ґрунт перед посівом. Посів ярої пшениці був здійснений у другій половині квітня у розрахунку 125 кг/га. У с. Долішній Лужок дослідження проводили у 3-х кратній повторності (72 дослідні ділянки), у с. Дмитрів – у 4-х кратній (96 дослідних ділянок), розмір ділянки однієї повторності становив 30 м<sup>2</sup> (5×6), загальна площа ділянок у с. Долішній Лужок становила 2161 м<sup>2</sup>, у с. Дмитрів – 2880 м<sup>2</sup>. Кількість повторів на дослідних ділянках відрізнялась через більшу площу поля с. Дмитрів. Збір врожаю проводили на обох ділянках в першій половині

серпня на етапі повної стиглості GS89 (hard dough) відповідно до сортових особливостей кожного сорту.



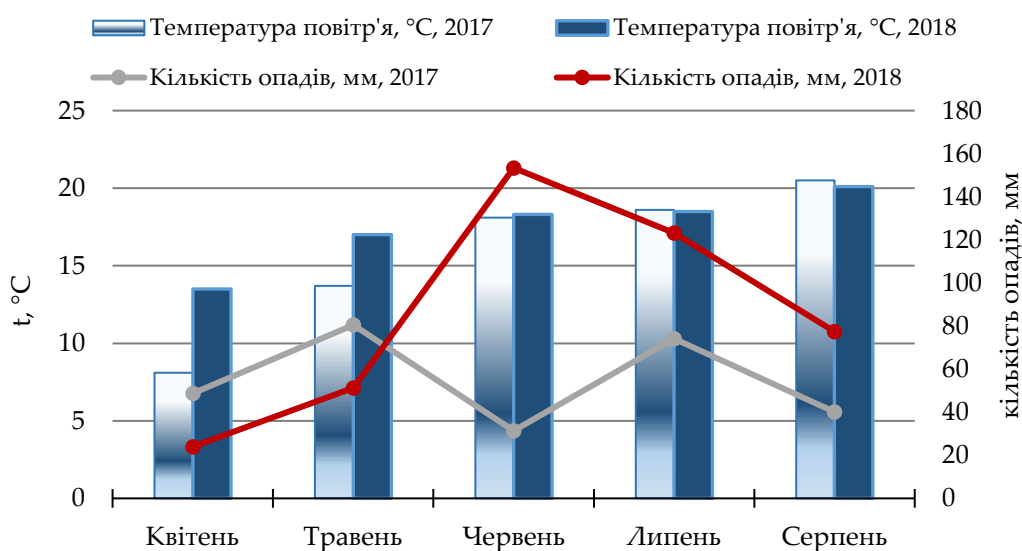
**Рис. 2.2.** Розташування польових дослідних ділянок, Львівська область, с. Дмитрів ( $50^{\circ}13'26.6''\text{N } 24^{\circ}36'50.5''\text{E}$ ) та с. Долішній Лужок ( $49^{\circ}27'17.5''\text{N } 23^{\circ}23'02.6''\text{E}$ ).



**Рис. 2.3.** Рослини пшениці ярої на різних етапах вегетації, польовий дослід 2017 р., с. Дмитрів ( $50^{\circ}13'26.6''\text{N } 24^{\circ}36'50.5''\text{E}$ ).

Дані погодних умов у Львівській області за досліджуваний період наведено на рисунку 2.4. Вегетаційний сезон 2017 р. відзначався високим рівнем опадів у квітні та травні, та значно меншим рівнем опадів у червні (32.4 мм). Температурні

показники були на низькому рівні у квітні (8,1 °С) та травні (13,7 °С). Вегетаційний сезон 2018 р. характеризувався відносно сухим періодом з квітня до кінця червня, за яким був відносно вологий період з 25 червня до середини липня. У квітні–травні випало в середньому 75,3 мм опадів. Середня температура повітря в квітні, коли здійснювався посів становила 13,5 °С, та була низька кількість опадів впродовж цього місяця (24 мм), що спричинило серйозний дефіцит вологи. Подібні умови спостерігали і у травні, в період активного вегетативного росту – дефіцит вологи та висока температура [487].



**Рис. 2.4.** Погодні умови у Львівській області, вегетаційний сезон 2017-2018 рр. Середня місячна температура повітря (°С) та кількість опадів (мм).

### 2.3. Визначення основних фізико-хімічних показників ґрунту

Відбір зразків ґрунту проводили безпосередньо перед посівом пшениці. З кожної повторності дослідних ділянок за допомогою ручного ґрунтовідбірника на глибині від 0 до 15 см, відбирали по 3 проби, які потім змішували. У повітряно-сухих зразках визначали рН водного витягу, вміст органічної речовини, вміст ДТРА-екстрагованих мікроелементів, вміст органічної речовини.

#### 2.3.1. Визначення рН ґрунту

Для визначення рН ґрунту готували водний витяг (1:2), для якого зразок 20 г повітряно-сухої проби ґрунту, пересипали в колбу Ерленмейера місткістю 100-200

мл. У колбу додавали 40 мл дистильованої води, закривали корком та добре збовтували впродовж 5 хвилин. Утворений розчин фільтрували через складчастий фільтр у суху колбу, якщо фільтрат був каламутним його повторно пропускали через той самий фільтр. Профільтрувавши весь розчин отримували водний витяг в якому визначали кислотність за допомогою рН-метра (SevenCompact S220-Basic, Giessen, Germany) [291].

### **2.3.2. Визначення вмісту органічної речовини ґрунту**

Визначення вмісту органічної речовини (ОРГ) у ґрунті проводили методом втрати маси при прожарюванні. Цей метод дає можливість визначити вміст органічної речовини шляхом її окислення до CO<sup>2</sup> при підвищеній температурі в муфельній печі.

Наважки сухого ґрунту 5-10 г поміщали у фарфорові тиглі та сушили 2 год при 105 °С для видалення гігроскопічної води, зразки зважували. Далі, тиглі із зразками поміщали в муфельну піч, встановлену на 360 °С на 2 год, після охолоджували до 150 °С та знову зважували. Зважували з точністю до ± 0,001 г. Вміст органічної речовини визначали за формулою [96]:

$$\text{ОРГ, \%} = \frac{(\text{маса після } 105^{\circ}\text{C}) - (\text{маса після } 360^{\circ}\text{C})}{\text{маса після } 105^{\circ}\text{C}} * 100$$

### **2.3.3. Екстрагування біодоступних форм мікроелементів із ґрунту**

Мікроелементи визначали методом ААС (атомно-абсорбційна спектроскопія) екстракції ДТРА (diethylenetriaminepenta-acetic acid) – це нерівноважна екстракція для оцінки потенційно доступних форм Zn, Cu, і Fe у ґрунтах. Для цього, повітряно-сухі зразки ґрунту подрібнювали та пересіювали крізь сито (№10) із нержавіючої сталі. Наважки масою 10 г поміщали в колби Ерленмейера, доводили об'єм деіонізованою водою до 50 мл, та додавали 20 мл ДТРА-вмісної суміші для екстрагування (0,005 М ДТРА, 0,01 М CaCl<sub>2</sub> та 0,1 М ТЕА (триетаноламіну), рН 7.30), кожен колбу закривали лабораторною плівкою Parafilm та струшували на шейкері при 180 об/хв впродовж 2 год. Отримані зразки фільтрували через фільтр,

якщо зразки бути мутні то фільтрування повторювали. Зразки переміщали в пробірки з корками, зберігали в темному місці. Кількісне визначення вмісту мікроелементів а саме Fe, Cu та Zn, у ґрунті проводили методом ААС (ААС С115М1, Суми, Україна) [237].

#### **2.4. Визначення посівної якості насіння**

Згідно з міжнародним стандартом ISTA (International Seed Testing Association) та державним стандартом України ДСТУ 4138-2002 в лабораторних умовах визначали схожість насіння. Показник енергії проростання не визначається згідно зі стандартом ISTA, а перевіряється лише на відповідність внутрішнім вимогам України ДСТУ. Насіння пророщували в чашках Петрі на вологому фільтрувальному папері в темряві, при температурі рекомендованій для пророщування насіння пшениці (+20 °С). Показники схожості насіння та енергії проростання виражали у відсотках до загальної кількості насіння взятого для пророщування. Через 3 дні пророщування визначали енергію проростання, а через 7 – лабораторну схожість. При аналізі враховували стан проростків.

#### **2.5. Визначення площі прапорцевого листка**

Для визначення площі листової поверхні у рослин пшениці використовували метод відбитків, який зазвичай використовують для листків із стандартною формою. Для цього зрізали прапорцеві листки рослин на етапі виходу в трубку GS43 (start of the booting phase) за класифікацією десятих стадій росту за J. C. Zadoks та ін. [452]. Контур листка обводили на міліметровому папері. Рахували кількість квадратних міліметрів, що припали на площу листка. По краю листа за цілий міліметр брали більше  $1/2 \text{ мм}^2$ , а менше  $1/2 \text{ мм}^2$  в розрахунок не приймали. Для вимірювань обирали 5 рослин з яких обраховували середнє значення [16].

## 2.6. Визначення основних показників водного режиму рослин

Дослідження водного режиму рослин проводили у вегетаційному сезоні 2018 року на прапорцевих листках, зібраних із рослин на етапі виходу в трубку GS43 (start of the booting phase) на дослідних ділянках с. Дмитрів.

Водний статус рослин визначали за показниками водного дефіциту (WD), відносного вмісту води (RWC), втрати води листком на масу (EL WLW) та на площу (EL WLA) прапорцевого листка.

Впродовж першої декади червня, рандомно відбирали по 10 прапорцевих листків із кожної повторності відповідно до стадії росту кожного сорту пшениці. Листки поміщали в поліетиленові пакети-блискавки у сумку-холодильник і негайно доставлялися в лабораторію. Свіжі листки кілька разів зважували на електронних вагах (Radwag AS 310.R2, Україна); відразу після відбору проб визначали сиру масу листків (FW), через 12 год занурення кінчиків листків у воду, їх знову зважували для отримання значень маси у стані тургоресцентності (TW), далі ізольовані листки поміщали на фільтрувальний папір та залишали на повітрі при кімнатній температурі, зважуючи через 2, 4, 6 і 24 год для визначення показника водоутримної здатності листків. Суху масу (DW) отримували після висушування в сушильній шафі (UOSlab, СП 100, Київ, Україна) при 105 °С.

**Водний дефіцит (WD)** розраховували як [178]:

$$WD (\%) = \frac{TW - FW}{TW} * 100.$$

**Відносний вміст води (RWC)** визначали за формулою [421; 423]:

$$RWC (\%) = \frac{(FW - DW)}{(TW - DW)} * 100.$$

**Водоутримну здатність в перерахунку на масу прапорцевого листка (EL WLW)** визначали за методом Arlando [109] на основі розрахунку втрати води листком впродовж фіксованих періодів часу – 2, 4, 6, 24 год:



$$EL\ WLW_{0-x\text{год}}(\%) = 100 - \frac{\text{маса після "x"год} * 100}{TW},$$

де: вага після «x» год – маса листка через 2, 4, 6 та 24 год.

**Водоутримну здатність в перерахунку на площу прапорцевого листка (EL WLA)** розраховували як втрату води на площу через 2, 4, 6 та 24 години. EL WLA як швидкість втрати води/см<sup>2</sup> розраховували за формулою [93]:

$$EL\ WLA_{0-x\text{год}}(\text{мг/см}^2) = \frac{TW - \text{маса після "x"год}}{LA},$$

де: маса після «x» год – маса листя через 2, 4, 6 та 24 год, LA – площа листя.

Площу листків розраховували згідно з методикою описаною в підрозділі 2.5.

## 2.7. Визначення загального вмісту білків у зерні

Визначення загального вмісту білків в зерні пшениці в стані повної стиглості GS89 (hard dough) проводили за методом Бредфорда. Зразки попередньо подрібнювали на лабораторному млинку (ЛЗМК, Полтава, Україна). До наважки масою 0,1 мг додавали 2 мл боратного буферу (рН 10). Екстракт центрифугували 30 хв при 8000 об/хв. Супернатант використовували для визначення білка. До 0,2 мл екстракту додавали 1 мл реактиву Бредфорда безпосередньо перед вимірюванням (0,5-1 хв). Вимірювання проводили проти контролю 0,2 мл боратного буферу + 1 мл реактиву Бредфорда. Вимірювання оптичної густини проводили на спектрофотометрі (ULAB 101 Spectrophotometer, Україна) при довжині хвилі 595 нм. Експерименти проводили у 4-кратній біологічній та аналітичній повторностях, результати опрацьовували статистично. Для розрахунку вмісту білка в зерні будували калібрувальну [61].

## 2.8. Визначення врожайності зерна та структури врожаю

Для дослідження структури врожаю та врожайності пшениці визначали такі показники як маса 1000 зерен (МТЗ), висота колоса (ВК) та кількість зерен на колос (КЗК) на етапі повної стиглості GS89.

Врожайність зерна (ВЗ) визначали за формулою:

$$ВЗ = (n \text{ КОЛОСКІВ НА } 1 \text{ м}^2) \times (n \text{ НАСІНИН/ЗЕРНІВОК В } 1 \text{ КОЛОСІ}) \times \\ (m1 \text{ НАСІНИНИ/ЗЕРНІВКИ})$$

## 2.9. Визначення концентрації мікроелементів в рослинному матеріалі

Дослідження вмісту Fe, Cu та Zn у прапорцевих листках, колосі, зерні та зародках пшениці ярої проводили методом АСС у зразках мінералізованих у суміші деіонізована  $H_2O : HNO_3$  при сталому тиску та температурі за допомогою системи мікрохвильової пробопідготовки Multiwave Go (Anton Paar, Graz, Austria).

Концентрації мікроелементів в зерні та зародках визначали на етапі повної стиглості GS89 (hard drough), в прапорцевих листках наприкінці етапу виходу в трубку GS49 (end of booting), в колосі на етапі цвітіння GS65 (flowering half-way) [452].

Для визначення концентрації мікроелементів у зародках було ізольовано ~ 1500 зародків із попередньо замоченого насіння кожного сорту. Склад суміші для мінералізації дослідних зразків наведено у табл. 2.2.

Таблиця 2.2

Компонентний склад суміші для мінералізації зразків у приладі Multiwave Go (Anton Paar, Graz, Austria)

Рослинний матеріал	Маса зразка, г	Склад суміші		
		$HNO_3$ , мл	$H_2O$ , мл	$H_2O_2$ , мл
зерно	1	6	3	–
зародок	0,5	5	3	1
прапорцевий листок	0,7	6	3	1
колос	1	8	1	1

Температуру та час циклів пробопідготовки регулювали відповідно до зразків, але для всіх циклів характерними були три етапи: нагрівання, спалювання та охолодження. Мінералізація зерна: **1). нагрівання** впродовж 15 хв до  $180^\circ C$ , після, наступний етап **2). спалювання** впродовж 40 хв при  $180^\circ C$ , далі **3). охолодження** 10 хв до  $40^\circ C$ . Отримані мінералізовані зразки переносили в 15 мл пробірки та

доводили до кінцевого об'єму 15 мл, додаючи деіонізовану H<sub>2</sub>O, щільно закривали корками для запобігання випаровування та зберігали при кімнатній температурі в темному місці до аналізу. Концентрацію мікроелементів визначали методом ААС (ААС С115М1, Суми, Україна). Вміст елементів перераховували на одиницю маси сухої речовини.

## **2.10. Виділення бактеріальних ендоситів з зерна пшениці**

Для досліджень було використано зерно на етапі повної стиглості (GS89), урожаю 2017-2018 рр. із дослідної ділянки Дмитрів. Ендоситні бактерії виділяли з зерна трьох сортів *T. aestivum* L. (Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка) та одного сорту *T. turgidum* subsp. *dicocum* (Голіковська), після двох послідовних етапів поверхневої стерилізації. На першому етапі стерилізації зерно витримували 20 хв у суміші вода: гіпохлорит Натрію (1:1), після промивали чотири рази стерильною водою та стратифікували при 4 °С впродовж 24 годин у стерильній воді. На другому етапі зерна стерилізували у суміші вода: гіпохлорит Натрію (1:2) впродовж 15 хв та промивали чотири рази стерильною водою в стерильних умовах під ламінарним боксом.

Виділенню бактеріальних ендоситів передувало аналіз ефективності стерилізації. Стерильність зерна пшениці контролювали непрямим (посів на загальне середовище для бактерій, живильний агар (BTL, Lodz, Poland) та прямим (ПЛР) методами. Опис умов ПЛР є наведено в методиках нижче (2.11).

Стерильне насіння подрібнювали за допомогою стерильного скальпеля, половину залишали в подрібненому стані, а половину змішували зі стерильною водою. Обидва види зразків поміщали в стерильні чашки Петрі на агаризоване живильне середовище (універсальне середовище для росту різноманітних бактеріальних мікроорганізмів) (BTL, Poland) яке містило ністатин (50 мг·мл<sup>-1</sup>) та інкубували 144 год при 30 °С в темряві. Окремі колонії, переносили на свіже агаризоване живильне середовище (BTL, Польща), такі маніпуляції повторювали до отримання чистих культур, що підтверджували за допомогою ПЛР.

## 2.11. Виділення бактеріальної ДНК

Бактеріальну ДНК екстрагували з ізолятів за допомогою методу розробленого J. Sambrook та ін. [345]. Клітини осаджували за допомогою центрифугування при 17 500 об/хв упродовж 5 хв (4 °С, Sigma 3–18 K, Sigma Laborzentrifugen GmbH, Osterode am Harz, Germany) та піддавали лізису у суміші, що містила: 5 моль·л<sup>-1</sup> гуанідин тіоціанат (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), 100 ммоль/л EDTA (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) та 0,5% саркозил (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA; pH 8,0). ДНК очищали за допомогою екстракції 7,5 М холодним ацетатом амонію на льоду (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), а потім за допомогою суміші хлороформ:3-метил-1-бутанол (24:1) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA). Двофазний об'єм рідини центрифугували при 17500 об/хв. Верхній шар переносили в нову пробірку. ДНК осаджували при -20 °С 2-пропанолом (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) впродовж 1 години. Осад відділяли центрифугуванням при 17500 об/хв впродовж 30 хв, далі п'ять разів промивали 70% етанолом (Sigma-Aldrich, SaintLouis, MO, USA), сушили під вакуумом (RVC 2\_18, Christ, Göttingen, Germany) і ресуспензували в 30 мл стерильного бідистиляту (free DNase, EURx, Gdansk, Poland). Чистоту та концентрацію ДНК оцінювали спектрофотометрично (BioSpectrofotometer, Eppendorf, Hamburg, Germany) (додаток Б, табл. Б.1).

ПЛР проводили в реакційній суміші що містила: 1 × Phusion FlaBKHHigh-Fidelity PCR Master Mix (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), 1 мкл матричної ДНК (71.56 – 1278,19 мкг·мл<sup>-1</sup> (додаток Б, табл. Б.1)) та стерильний бідистилят (free DNase, EURx, Poland), кінцевий об'єм становив 25 мкл. Крім того, застосовували універсальні еубактеріальні праймери (кожен по 1,0 мкМ): 27F (5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3') і 1492R (5'-TACCTTGTTACGACTT-3') [233; 403] (Genomed S.A., Warsaw, Poland). Умови ПЛР були такими: 98 °С впродовж 10 с; 30 циклів при 95 °С протягом 5 с, 56 °С впродовж 5 с і 72 °С впродовж 40 с (LABCYCLER, SensoQuest GmbH, Gdansk, Germany). Отримані ПЛР продукти розділяли електрофоретично в 1% агарозному гелі та візуалізували в УФ за

допомогою SimplySafe™ (EURx, Gdansk, Poland) (додаток Б, рис. Б.1). Стерильний бідистилят (free DNase, EURx, Poland) використовували як негативний контроль, а gDNA виділену з *E. coli* DH5α™ (Thermo Scientific, USA) – як позитивний контроль. Очищені продукти ПЛР відправляли на секвенування (Genomed S.A., Warsaw, Poland). Дані отриманих послідовностей з метою ідентифікування ізолятів аналізували за допомогою веб-версії алгоритму BLASTN (NCBI Bethesda, MD, USA). Ідентифіковані послідовності збережено в GenBank (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, доступ від 9 квітня 2020 р.): MT302194 – MT302204, MT312840 та OP445710 – OP445717 (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, доступ від 21 вересня 2022 р.)

## **2.12. Визначення бактеріальної здатності до синтезу ауксиноподібних сполук (IRCs)**

Ідентифіковані штами бактерій, а саме MT302194–MT302204 та MT312840 ( $n = 3$ ), інкубували при 30 °C у темряві на ротаційному шейкері (125 об/хв) у рідкому живильному середовищі (BTL, Lodz, Poland) з додаванням 5 ммоль·л<sup>-1</sup> L-триптофану. Через 120 год зразки центрифугували при 10 000 об/хв впродовж 10 хв, відбирали 2 мл супернатанту та змішували з 4 мл реактиву Сальковського (50 мл 35% HClO<sub>4</sub>, 1 мл 0,5 М FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O) [160]. Використовували оригінальний склад реактиву Сальковського, а також стандартний час між додаванням реагенту та вимірюванням абсорбції. Отриману таким чином суміш інкубували при 30 °C впродовж 30 хв у темряві. Концентрацію IRCs вимірювали колориметрично при 530 нм (BioSpectrofotometer, Eppendorf, Germany) з використанням калібрувальної кривої для індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК), стандартний діапазон до 100 мкг·мл<sup>-1</sup> (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA). Загальний вміст IRCs, включаючи ІОК, розраховували за допомогою рівняння отриманого зі стандартної кривої. Середні значення та стандартні відхилення розраховували з використанням трьох біологічних повторностей. Вимірювання проводили кожні 24 години впродовж 7 днів росту культури.

### 2.13. Отримання асептичної культури проростків пшениці в умовах *in vitro*

Асептичну культуру молодих проростків отримували зі стерильних зародків, виділених із стиглого насіння (GS89). Використовували середовище, призначене для розвитку проростків [268], яке містило мінеральні солі, вітаміни, та міо-інозитол, 20 г/л сахарози та 7,8 г/л агару. рН середовища доводили до 5,7 перед автоклавуванням при 121 °С і 103 кПа впродовж 18 хв.

Для отримання стерильних проростків стигле насіння досліджуваних сортів стерилізували за наступною методикою. На першому етапі стерилізації ціле насіння стерилізували впродовж 20 хв у водному розчині гіпохлориту натрію (Domestos, Unilever, UK) розведеному 1:1 (гіпохлорит натрію:вода) та промивали чотири рази деіонізованою водою впродовж 4–5 хв. Після цього насіння поміщали в деіонізовану воду на 48 год (4 °С). Такий тривалий період замочування необхідний для відокремлення не пошкодженого зародка від решти насінини, яке проводили під стереомікроскопом (ED.1302-S, Newcastle, UK).

На другому етапі стерилізації, ізольовані зародки обробляли водним розчином гіпохлориту натрію, розведеному 1:2 (*V:V*) і промивали чотири рази деіонізованою стерильною водою впродовж 4–5 хв у стерильних умовах під ламінарним боксом. Після промивання стерильні зародки поміщали в 450 мл скляні ємності (по 4 зародки на ємність), що містили 80 мл середовища для розвитку проростків. Проростки вирощували в ростовій камері при 23 + 1 °С з 16-годинним фотоперіодом (16 год світла/8 год темряви). Інтенсивність світла холодних білих люмінесцентних ламп становила 50 ммоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>. Проростки вирощували *in vitro* впродовж 3–4 тижнів до етапу трьох розгорнутих листків GS13 (three unfolded leaves) (рис. 2.5).



**Рис. 2.5.** Рослини пшениці ярої *T. aestivum* L. сортів Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та *T. turgidum* subsp. *dicoccum* сорту Голіковська, культура *in vitro*, етап трьох розгорнутих листків GS13.

#### **2.14. Екстрагування та секвенування бактеріальної ДНК, отриманої з рослин *in vitro***

Зразки проростків вирощених *in vitro* відбирали в трьох повторностях, окремо аналізували листки та корені, які асептично нарізали під ламінарним боксом та гомогенізували у 0,4-0,6 мл 0,1 М буферу PBS (Phosphate Buffered Saline, pH 7,4).

Екстракцію ДНК з листків та коренів виконували за допомогою Power Soil DNA Isolation Kit відповідно до інструкцій виробника (QIAGEN, Hilden, Germany). Кількість і чистоту ДНК оцінювали спектрофотометрично (BioSpectrometer®, Eppendorf, Hamburg, Germany) (додаток Б, табл. Б.2). Три повторності препаратів ДНК, які не показали статистичних відмінностей за кількістю і ступенем очистки об'єднували та добре змішували в одній пробірці, як описано в працях багатьох дослідників [229; 372]. Кожен зразок ДНК перевіряли на наявність рослинної ДНК з праймерами для ампліфікації висококонсервативної ділянки ДНК хлоропласта (праймер 1—5'-AGTTCGAGCCTGATTATCCC-3' і праймер 2—5'-GCATGCCGCCAGCGTTCATC-3'—Phire Plant Direct PCR Kit by Finnzymes). Наступний крок полягав у проведенні ПЛР, де загальну ДНК (після об'єднання

трьох повторностей) використовували як матричну ДНК. Цей етап був необхідний для перевірки якості та придатності ДНК для секвенування NGS. Для ПЛР застосовували універсальні праймери що ампліфікують варіабельні ділянки 16S рРНК: 27F (5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3') і 1492R (5'-TACCTTGTACGACTT-3') [233; 403] та ДНК дослідних зразків (додаток Б, табл. Б.2). Умови ПЛР були такими: 98 °С впродовж 5 хв; 30 циклів 98 °С впродовж 35 с, 54 °С впродовж 45 с і 72 °С впродовж 60 с. Також, для ПЛР використовували 5x FIREPol® Master Mix (Soils BioDyne, Tartu, Estonia). Далі було проведено електрофорез продуктів ПЛР на агарозному гелі (1 %) та їх візуалізація в УФ за допомогою SimplySafe™ (EURx, Gdańsk, Poland) (додаток Б, рис. Б.2). Після отримання позитивних результатів ПЛР, об'єднану ДНК секвенували Genomed S.A. (Warsaw, Poland) за допомогою платформи MiSeq 2000 (Illumina Inc., San Diego, CA, USA). Аналіз проводився з використанням фрагментів V3–V4 гена 16S рРНК (пара праймерів: 341F і 785R). ПЛР проводили з Q5 Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix відповідно до рекомендацій виробника.

### **2.15. Статистична обробка результатів**

Статистичну обробку результатів проводили використовуючи програмне забезпечення Microsoft Excel 2013, Statistica 12 та Past 4.03. Кожен дослід проводили у 3-разовому повторенні і відтворювали в залежності від експерименту від 3-5 рази. Біохімічні аналізи виконували у 3-разовому біологічному повторенні, у 3-5 незалежних дослідженнях. Обчислювали середні арифметичні величини –  $\bar{M}$  та стандартну похибку середнього арифметичного –  $m$ . Вірогідність статистичної значущості відмінностей між груповими середніми оцінювали на основі однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Для перевірки достовірності різниці даних використовували t-критерій Стьюдента та односторонній дисперсійний аналіз тест Тьюкі. Вірогідною вважали різницю при  $p \geq 0.05$  (рівень значимості  $P < 0.05$ ).



## РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 3.1. Основні фізико-хімічні характеристики ґрунтів з польових дослідних ділянок

Якість зерна пшениці значною мірою визначається сортовими характеристиками, проте спостерігається залежність і від низки інших чинників, зокрема, типу ґрунту та його фізико-хімічних властивостей [151; 375]. Від кислотності ґрунту та вмісту органічної речовини залежить здатність рослин засвоювати мінеральні елементи. Відомо, що більшість елементів найкраще засвоюються, якщо ґрунт, має рН від 5,5 до 7,0, тоді як при лужному рН багато мікроелементів недоступні [139; 273; 407]. Ґрунти дослідної ділянки Дмитрів характеризуються як чорноземи на елювії карбонатних порід із лужним рН [488]. У таких ґрунтах міститься підвищена кількість іонів  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{HCO}_3^-$ , що визначає їхню лужну реакцію.

Ґрунти дослідної ділянки Д. Лужок – дерново-буроземні суглинисті зі слабкокислим або нейтральним рН [488]. Дослідні ділянки характеризувалися різним рН, вмістом органічної речовини та концентрацію доступних форм мікроелементів (табл. 3.1). Встановлено, що рН ґрунтів на ділянці Д. Лужок становив 6,7 (2017) та 7,1 (2018) такі ґрунти характеризуються як слабкокислі, а на ділянці Дмитрів – 7,2, слаболужні.

Утворення органічної речовини в ґрунті (ОРГ) є наслідком життєдіяльності рослин та мікроорганізмів [147]. ОРГ є основним джерелом азоту та вуглецю, залежить від кількості і хімічного складу рослинних решток, водного й повітряного режимів, рН ґрунту, гранулометричного складу ґрунту тощо. Зменшення ОРГ може призвести не тільки до зниження родючості та біорізноманіття, але й до зниження вологості ґрунту, погіршення аерації, зростає ризик ерозії [18; 147]. Встановлено, що на ділянці Дмитрів містилось на 30–50 % більше ОРГ, ніж на ділянці Д. Лужок (табл. 3.1).

Фізико-хімічні параметри ґрунтів: рН, вміст органічної речовини та концентрація доступних форм мікроелементів, дослідних ділянок Дмитрів (50°13'26,6"N 24°36'50,5"E) та Д. Лужок (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E).

Дослідна ділянка	Рік	рН	Вміст органічної речовини, г/кг	Концентрація мікроелементів, мг/кг (min-max)		
				Zn	Fe	Cu
Дмитрів	2017	7.18** ± 0.01	74.56** ± 0.75	1.66** ± 0.06 (0.67–4.44)	12.43** ± 0.27 (4.57–22.4)	0.45** ± 0.01 (0.11–0.93)
Д. Лужок		6.73** ± 0.02	37.45** ± 0.39	1.26** ± 0.03 (0.82–2.11)	329.45** ± 24.69 (80–770)	1.16** ± 0.07 (0.17–2.6)
Дмитрів	2018	7.24** ± 0.01	88.30** ± 0.89	0.54** ± 0.01 (0.41–0.75)	21.49** ± 0.48 (13.33–35.83)	0.57** ± 0.01 (0.29–0.97)
Д. Лужок		7.15** ± 0.02	62.06** ± 1.57	0.68** ± 0.01 (0.51–0.87)	25.01 ± 0.61 (9.17–38.33)	3.82** ± 0.09 (0.86–61)

\* достовірність різниці між дослідними ділянками; \*\* p<0.01, \* p<0.05

Відомо, що доступність мікроелементів залежить від рН ґрунту. Мінімальні зміни рН ґрунтового розчину істотно змінюють розчинність мікроелементів у ґрунті. Згідно з М. L. Guerinot та Y. Yi [163] доступність Fe зменшується до 1000 разів за підвищення рН на одну одиницю. Подібно J. L. Havlin та ін. [177] повідомляють про зменшення в 100 разів біодоступності Zn. Зазвичай Zn більш біодоступний при кислому рН ніж при лужному рН [299]. В ході проведених досліджень встановлено що ґрунти ділянки Д. Лужок мали вищі концентрації доступних форм Fe та Cu в обидва роки досліджень. Концентрація Fe у 2017 р. на ділянці Д. Лужок була на 96 % вищою, ніж на ділянці Дмитрів. Концентрація доступних форм Cu була найвищою у 2018 р. на ділянці Д. Лужок, що утричі перевищувало біодоступну концентрацію цього елемента щодо даних попереднього року досліджень. Обидві дослідні ділянки характеризувались низькими концентраціями рухомих форм Zn як за середніми значеннями, так і за значеннями максимального розкиду даних. Загалом, ґрунти дослідної ділянки

Дмитрів – це ґрунти з обмеженою біодоступністю мікроелементів і високим вмістом ОРГ.

Згідно з постановою Кабінету міністрів України від 15 грудня 2021 р. № 1325 “Про затвердження нормативів гранично допустимих концентрацій небезпечних речовин у ґрунтах, а також переліку таких речовин”, регламентуються ГДК у ґрунті доступних форм таких елементів, як Zn та Cu. ГДК для Zn становить 23,0 мг/кг, для Cu – 3,0 мг/кг, ГДК для Fe не регламентується. Окрім того, ґрунти України бідні на рухомі форми Zn і містять, в своїй більшості, від слідів до 0,30 мг/кг сухого ґрунту. Середні значення вмісту Zn не перевищували ГДК у жодному із досліджуваних ґрунтів, тоді як середній вміст Cu у ґрунтах дослідної ділянки Д. Лужок перевищував ГДК на 27 %, а його максимальні значення були удвічі вищими від допустимих норм. Вміст в ґрунті доступних для рослин форм Fe, дуже різний, в деяких типах ґрунтів він коливається від 0,36 до 174 мг/кг [368].

Лужні ґрунти вважаються Fe дефіцитними для росту рослин, тоді як висока біодоступність цього елемента в кислих ґрунтах може бути токсичною для рослин [34; 309]. Обмежена біодоступність Fe у певних типах ґрунтів є основною причиною їх відсутності в рослинній продукції. Слід також зазначити, що дефіцит Fe, основному спостерігають на лужних та багатих органікою ґрунтах, які займають приблизно 30 % світової ріллі, майже 50 % світових культивованих зернових ґрунтів мають дефіцит Цинку (Zn) [224], що істотно знижує врожайність пшениці [65] та загрожує продовольчій безпеці [114; 309; 357]. Схожий тип ґрунтів характерний для ділянки Дмитрів: лужне рН, багато органіки та дефіцит мікроелементів.

Окрім того, тип ґрунту та його фізико-хімічні властивості є важливими для ґрунтових мікроорганізмів, які впливають на доступність необхідних мікроелементів через солубілізацію та хелатування [301].

### **Підсумки до підрозділу**

Дослідження основних фізико-хімічних характеристик ґрунтів дослідних ділянок Дмитрів та Д. Лужок, продемонструвало відмінності у рН, вмісті ОРГ та

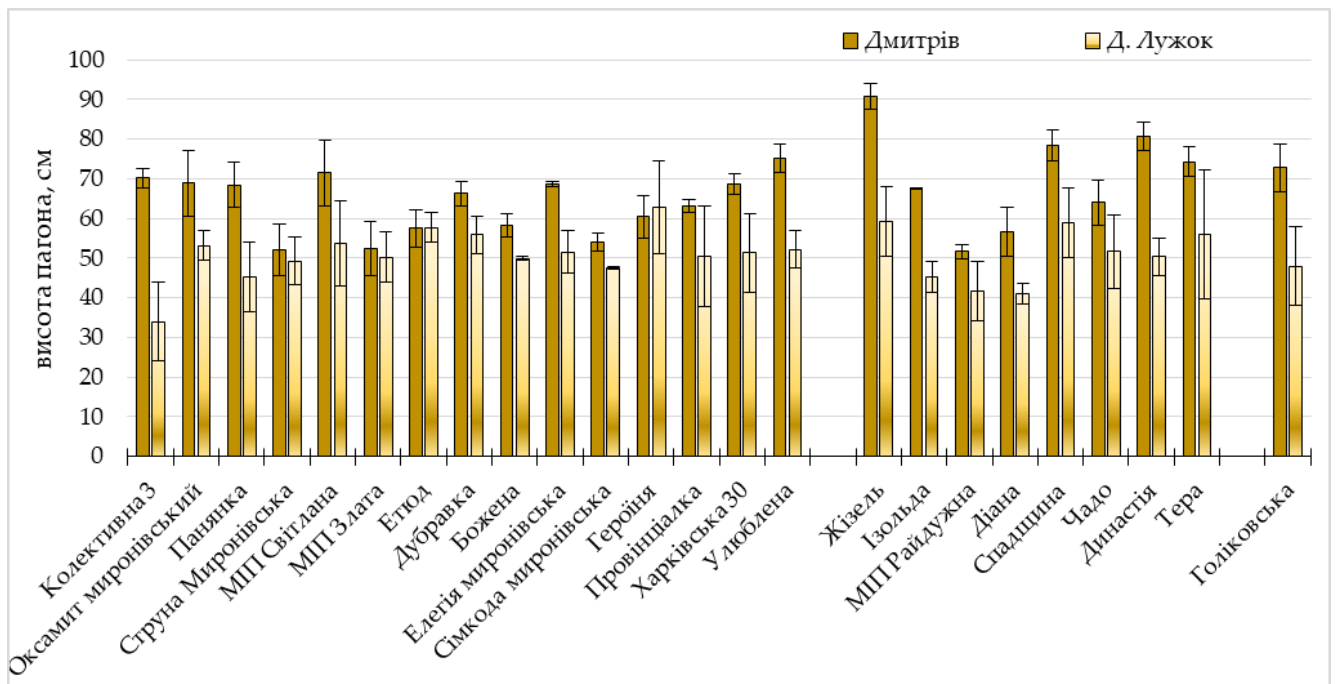
концентрації біодоступних рухомих форм Fe, Cu, Zn. Вищі рН, ОРГ властиві для карбонатних ґрунтів ділянки Дмитрів, порівняно з дерново-буроземними суглинками ділянки Д. Лужок. Відповідно, на ділянці Д. Лужок із нижчим рН і ОРГ виявлено вищі концентрації доступних форм Fe та Cu впродовж двох років досліджень. Вміст Zn на обох досліджуваних ділянках був нижчим від ГДК із максимальним розкидом даних на ділянці Дмитрів.

Представлені вище результати опубліковано у статтях [252, 253] та матеріалах конференцій [470, 477, 479].

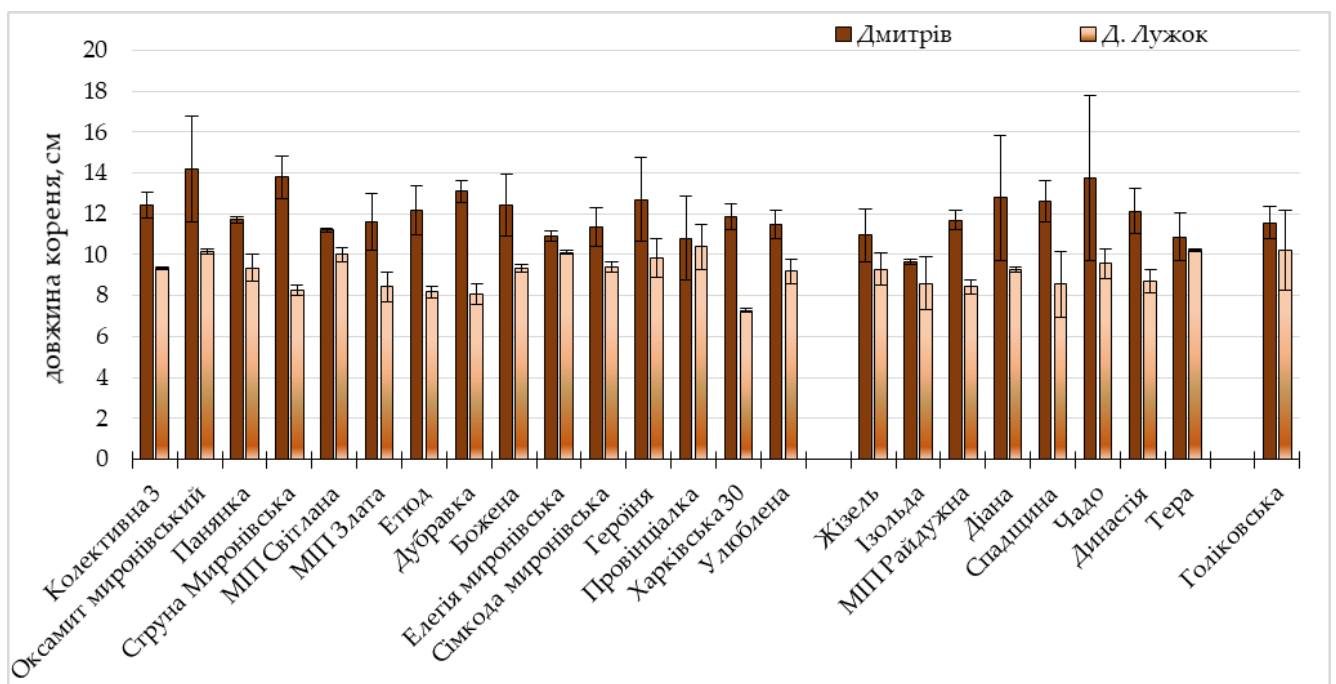
### **3.2. Морфометричні показники рослин пшениці ярої за умов вирощування на ґрунтах із різною біодоступністю мікроелементів**

Зміни ростових показників та параметрів фотосинтетичної поверхності відображають вплив умов навколишнього середовища на ріст і розвиток рослин [6]. Зокрема, площа листків є одним із ключових параметрів моніторингу стану сільськогосподарських культур [362]. Площа листової поверхні є також одним із найважливіших параметрів фотосинтезу. Зменшення площі асимілюючої поверхні призводить до зниження загальної продуктивності рослин, а для рослин пшениці таким ключовим показником є площа прапорцевого листка, від якого відбувається відтік поживних речовин до колоса [32; 140].

Як показано на рис. 3.1 та рис. 3.2 для всіх сортів на ділянці Дмитрів виявлено вищі показники висоти пагона та довжини кореня. В середньому, на ділянці Дмитрів пагони рослин пшениці були вищими на 24 %, а корені на 23 % довшими ніж на ділянці Д. Лужок. Вищий вміст ОРГ ділянки Дмитрів сприяв росту пшениці. Відомо, що на кислих ґрунтах різко підвищується засвоєння Fe та Mn, але зменшується – P, K, Ca і S [287]. Надлишок цих елементів порушує процеси вуглеводного та білкового обмінів і утворення органів розмноження, що значно знижує врожайність. Значний вміст біодоступного Fe та низький вміст ОРГ на ділянці Д. Лужок мали негативний вплив на морфометричні показники пшениці.

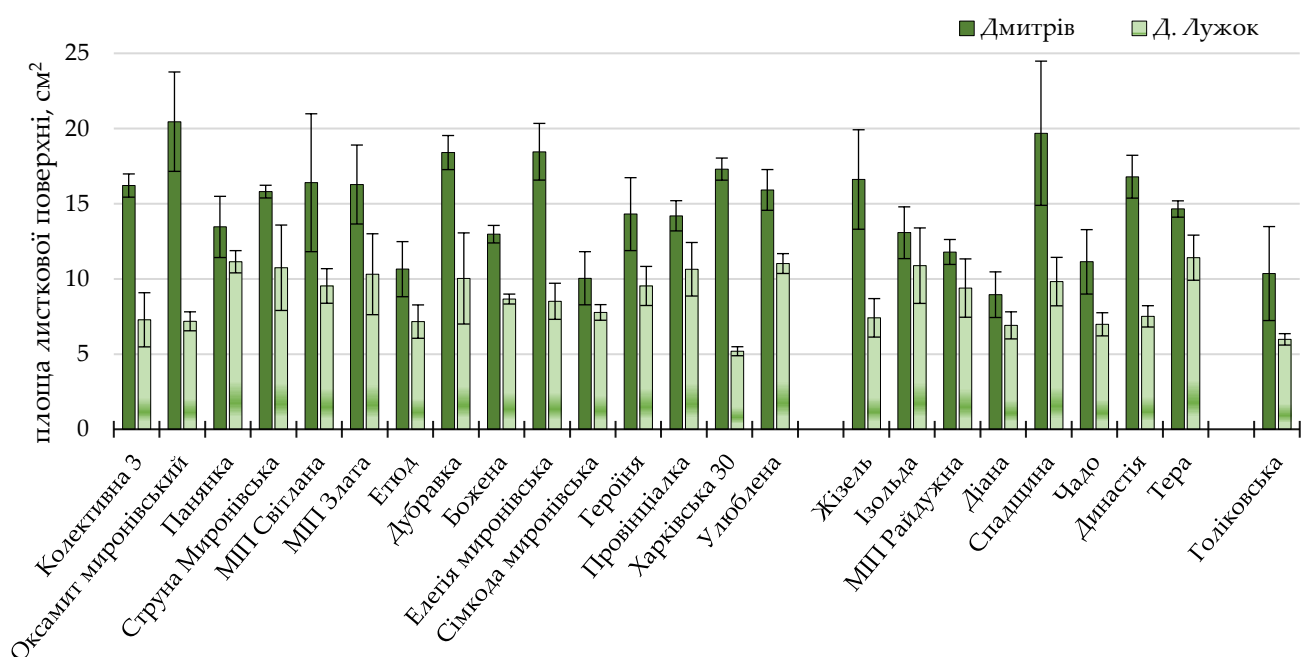


**Рис. 3.1.** Висота пагона (см) рослин пшениці ярої на етапі виходу в трубку (GS43), польовий експеримент, вегетаційний сезон 2017 р., с. Дмитрів (50°13'26,6"N 24°36'50,5"E) та с. Д. Лужок (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E).



**Рис. 3.2.** Довжина кореня (см) рослин пшениці ярої на етапі виходу в трубку (GS43), польовий експеримент, вегетаційний сезон 2017 р., с. Дмитрів (50°13'26,6"N 24°36'50,5"E) та с. Д. Лужок (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E).

Згідно з отриманими даними, більша площа прапорцевих листків у всіх сортів пшениці виявлена у рослин із дослідної ділянки Дмитрів, в середньому на 40 % (рис. 3.3). Враховуючи, що посів на двох дослідних ділянках здійснювався однаковим насінням, а погодні умови в межах Львівської області були схожими, то ймовірно, основним фактором впливу на формування прапорцевих листків стали тип ґрунту та умови ґрунтового живлення, зокрема й доступність важливих елементів мінерального живлення.



**Рис. 3.3.** Площа листової поверхні прапорцевих листків (см<sup>2</sup>) 24 сортів пшениці ярої на етапі виходу в трубку (GS43), польовий експеримент, вегетаційний сезон 2017 р., с. Дмитрів (50°13'26,6"N 24°36'50,5"E) та с. Д. Лужок (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E).

На дослідній ділянці Дмитрів найбільшою площею прапорцевих листків характеризувались м'які сорти Оксамит миронівський, Елегія миронівська та твердий – Спадщина. Найменша площа листків була зафіксована у сортів Сімкода миронівська (м'яка) та Діана (тверда). У рослин із дослідної ділянки Д. Лужок встановлено площу прапорцевих листків більше ніж 11 см<sup>2</sup> для трьох сортів, це м'які сорти Панянка, Улюблена та сорт твердої пшениці Тера. Найменша площа листків була зафіксована у сортів Харківська 30 (м'яка) та Голіковська (полба). На

ділянці Дмитрів площа прапорцевих листків у сорту Оксамит миронівський була майже утричі більша, ніж на ділянці Д. Лужок.

Вчені описують пряму залежність між врожайністю культури та накопиченням вегетативної маси [437]. Схожа закономірність встановлена і в наших експериментах для дослідних генотипів пшениці. Нами встановлено позитивні кореляції між площею прапорцевого листка та врожайністю на ділянці Дмитрів ( $r = 0,23^{**}$ ) та слабкі позитивні кореляції на ділянці Д. Лужок ( $r = 0,07^{**}$ ). Для сортів, які характеризувались більшою площею прапорцевого листка встановлено вищі показники врожайності. Показники врожайності представлено нижче на рис. 3.10 *А, Б* (див. стор. 97).

Згідно з отриманими даними вищі морфометричні показники рослин пшениці на ділянці Дмитрів пов'язані з вищим вмістом ОРГ та типом ґрунту. На формування площі листової поверхні значний вплив має наявність в ґрунті S та Zn, Fe [65; 380]. Встановлено, що за дефіциту Zn знижується метаболізм ауксину, в результаті чого ріст листків припиняється [380]. Тому, більша площа прапорцевих листків на ділянці Дмитрів також може бути пов'язана з вищою концентрацією біодоступних форм Zn. Позакореневе підживлення пшениці в комбінації 100 ppm Fe та 30 ppm Zn збільшують площу прапорцевого листа [313]. Ми припускаємо, що значна концентрація біодоступного Fe в ґрунті на ділянці Д. Лужок мала інгібуючий вплив на формування площі листової поверхні.

#### **Підсумки до підрозділу**

В ході експериментів встановлено вищі показники висоти пагонів та довжини коренів пшениці на ділянці Дмитрів. Виявлено формування прапорцевих листків із більшою площею поверхні для всіх сортів пшениці ярої на черноземних слаболужних ґрунтах дослідної ділянки Дмитрів. Показано існування позитивних кореляційних зв'язків між площею прапорцевого листка та врожайністю на ділянці Дмитрів ( $r = 0,23^{**}$ ) та слабкі позитивні кореляції на ділянці Д. Лужок ( $r = 0,07^{**}$ ).

Представлені вище результати опубліковано у статтях [252] та матеріалах конференцій [473, 478].

### **3.3. Водний режим рослин пшениці за умов вирощування на ґрунтах із низькою доступністю мікроелементів**

Посуха може спричинити дефіцит поживних речовин через прямий вплив на фізико-хімічні властивості ґрунту, зменшуючи рухливість та поглинання мінеральних речовин рослиною [25]. Через зменшення вологи в ґрунті погіршується мінеральне живлення, що призводить до повільної дифузії мінеральних речовин із ґрунту до поверхні коренів та зниження швидкості транслокації до листків. Водний дефіцит викликає закриття продихів, тим самим зменшує швидкість транспірації та обмежує транспортування поживних речовин з кореня до пагона [25; 110].

Через низький рівень води в ґрунті поглинання Zn коренями рослин зменшується, оскільки за цих умов рухливість Zn пригнічується [25]. Вологість ґрунту впливає як на валовий вміст, так і на вміст біодоступних форм Fe. У добре зволжених ґрунтах співвідношення  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  є вищим, про те в умовах посухи співвідношення  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  знижується, ймовірно через збільшення  $O_2$ , що зменшує біодоступні для поглинання рослинами форми, оскільки  $Fe^{3+}$  менш розчинний, ніж  $Fe^{2+}$  [25]. За дефіциту вологи в ґрунті знижується біодоступність Cu [399]. Спричинений посухою дефіцит B і Zn у рослин підвищує накопичення АФО і втрату цілісності мембран [170]. Дефіцит Fe під час посухового стресу призводить до накопичення  $H_2O_2$  у рослинах шляхом інгібування активності гемвмісних ферментів пероксидази і каталази [337]. Окрім того, B, Zn і Si збільшують утримання води клітинами, таким чином зберігаючи цілісність клітинної мембрани та вміст хлорофілу в умовах посухи [48].

#### **3.3.1. Основні показники водного режиму прапорцевих листків як індикатори посухостійкості сортів пшениці ярої**

Умови польового експерименту впродовж вегетаційного сезону 2018 р. характеризувалися низьким рівнем опадів і високими температурами, що створило природні умови для визначення посухостійкості досліджуваних сортів пшениці ярої

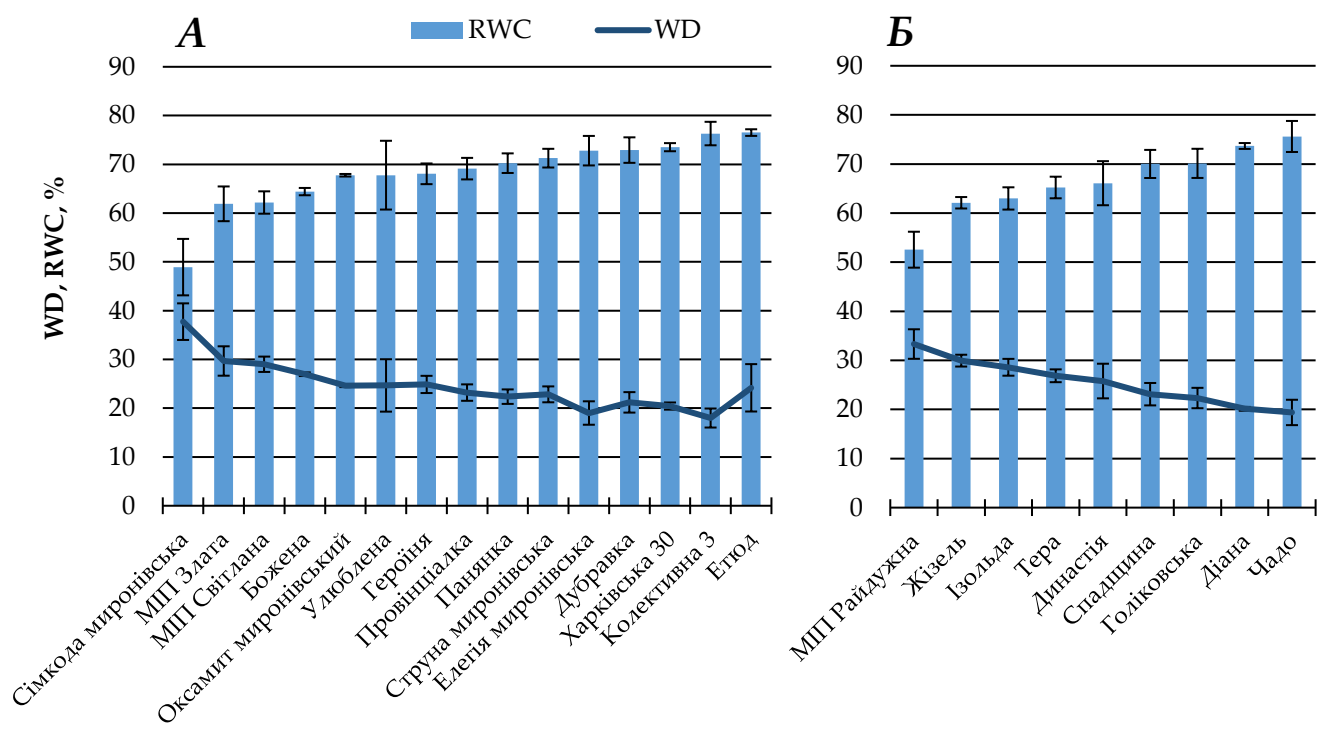


в умовах Західного регіону України [487]. Для оцінки посухостійкості досліджуваних сортів пшениці визначено низку показників водного режиму прапорцевих листків, зокрема, водний дефіцит (WD), відносний вміст води (RWC) (рис. 3.4 *А, Б*), водоутримну здатність листків у перерахунку на масу (EL WLW) та площу (EL WLA) (рис. 3.5 *А, Б, В, Г*). Усі експерименти проводили з рослинним матеріалом, відібраним із рослин, що росли на ділянці Дмитрів.

**Водний дефіцит та відносний вміст води у прапорцевих листках.** Встановлено сортові відмінності у початковому вмісті води в прапорцевих листках усіх досліджуваних сортів пшениці та в усіх зразках через 24 год після повного насичення водою. В умовах природної посухи WD прапорцевих листків коливався від 18,0 до 37,8 % у листках м'яких та від 19,4 до 33,3 % у листках твердих сортів пшениці (рис. 3.4 *А, Б*). Найменший WD ( $\leq 20$  %) зафіксовано у м'яких сортів пшениці Колективна 3, Елегія Миронівська та твердих сортів – Діана, Чадо. Високий WD встановлено у сортів Сімкода миронівська та МПП Райдужна – 37,8 % та 33,3 %, відповідно.

RWC у прапорцевих листках пшениці сорту Елегія миронівська, який вважають за стандартний посухостійкий сорт [3], був на рівні 72 % (рис. 3.4 *А*), RWC вище 75 % виявлено у двох м'яких сортів пшениці – Етюд, Колективна 3 та одного твердого сорту – Чадо. Найнижчий RWC, менше 53 %, зафіксовано у сортів Сімкода миронівська (м'який) та МПП Райдужна (твердий). Тетраплоїдний сорт полба Голіковська також мав порівняно високий RWC (70 %).

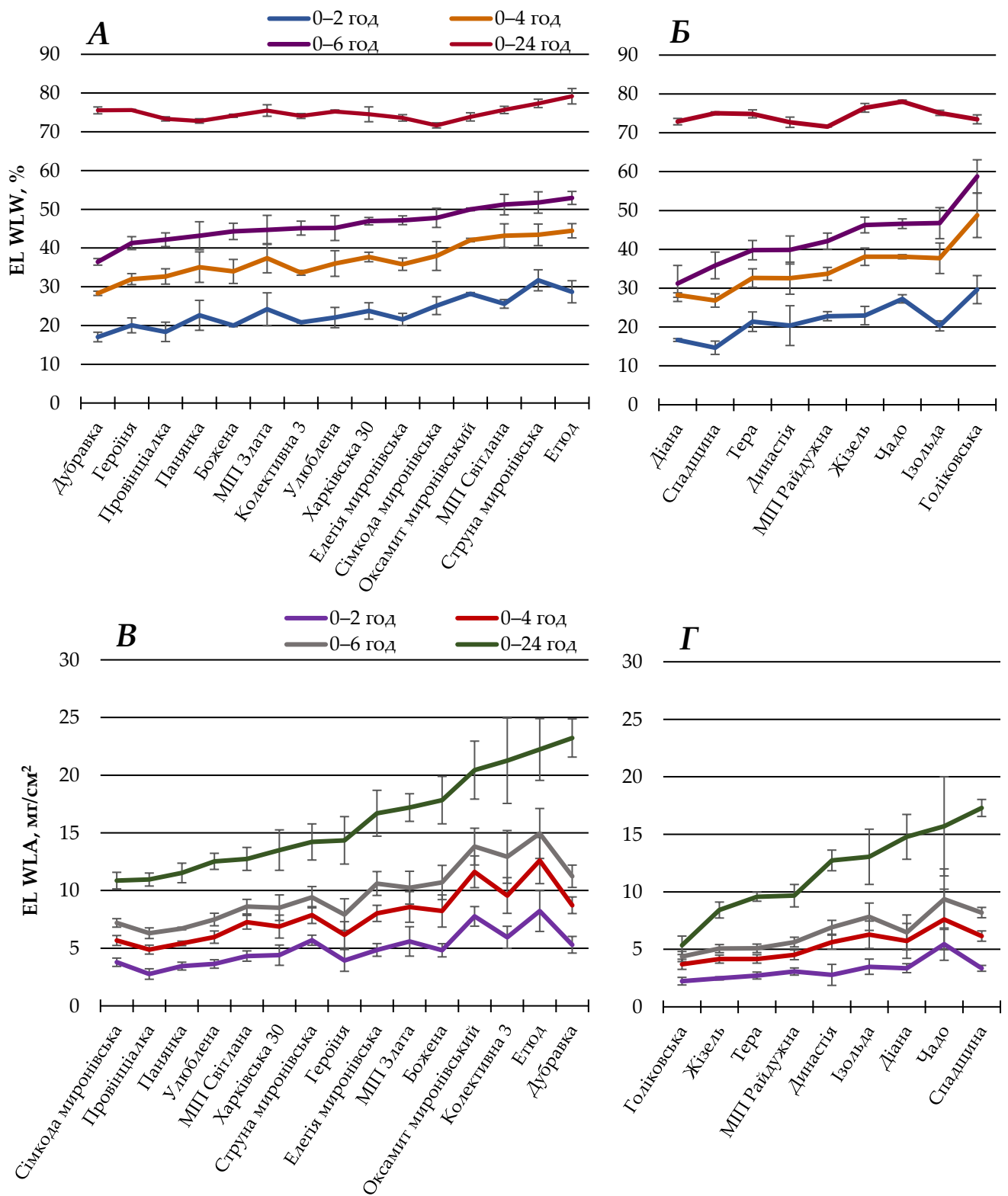
Загалом, між досліджуваними гекса- та тетраплоїдними генотипами пшениці виявлено незначущі відмінності. Згідно з літературними даними, RWC при в'яненні для більшості видів сільськогосподарських культур становить від 60 % до 70 % [247].



**Рис. 3.4.** Водний дефіцит (WD, %) та відносний вміст води (RWC, %) у прапорцевих листках пшениці ярої м'яких (А) та твердих сортів (Б) на етапі виходу в трубку GS43 у польових умовах, вегетаційний сезон 2018 р., дослідна ділянка Дмитрів (50°13'26,6"N 24°36'50,5"E).

**Втрата води листками.** EL WL як показники водоутримної здатності прапорцевих листків розраховували окремо на суху масу EL WLW (рис. 3.5 А, Б) та на площу прапорцевих листків EL WLA (рис.3.5 В, Г). Найвищі показники втрат води відзначені на другу годину експозиції.

Найнижчий EL WLW виявлено у твердих сортів пшениці Спадщина 14,7 % та Діана – 16,7 %, попередньо для цих сортів був встановлений високий WD (рис. 3.4 Б). Серед м'яких сортів пшениці низький рівень EL WLW було виявлено у сортів Дубравка – 17,0 % та Провінціалка – 18,4 %. Тоді як високий EL WLW встановлено у м'якої пшениці Струна миронівська 31,7 %, твердої пшениці Чадо 27,3 % та пшениці полба Голіковська 29,6 %. Досліджувані сорти найбільше втрачали воду впродовж другого та третього двох годинних періодів [252].



**Рис. 3.5.** Водоутримна здатність у перерахунку на масу (EL WLW, %) і площу (EL WLA, мг/см<sup>2</sup>) прапорцевих листків (GS43) пшениці ярої м'яких (**A, B**) та твердих (**Б, Г**) сортів на 0–2, 0–4, 0–6 та 0–24 год, в умовах польового експерименту, дослідні ділянки Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E), вегетаційний сезон 2018 р.

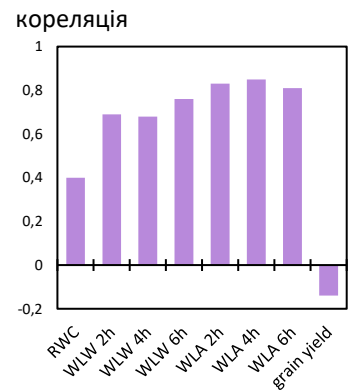
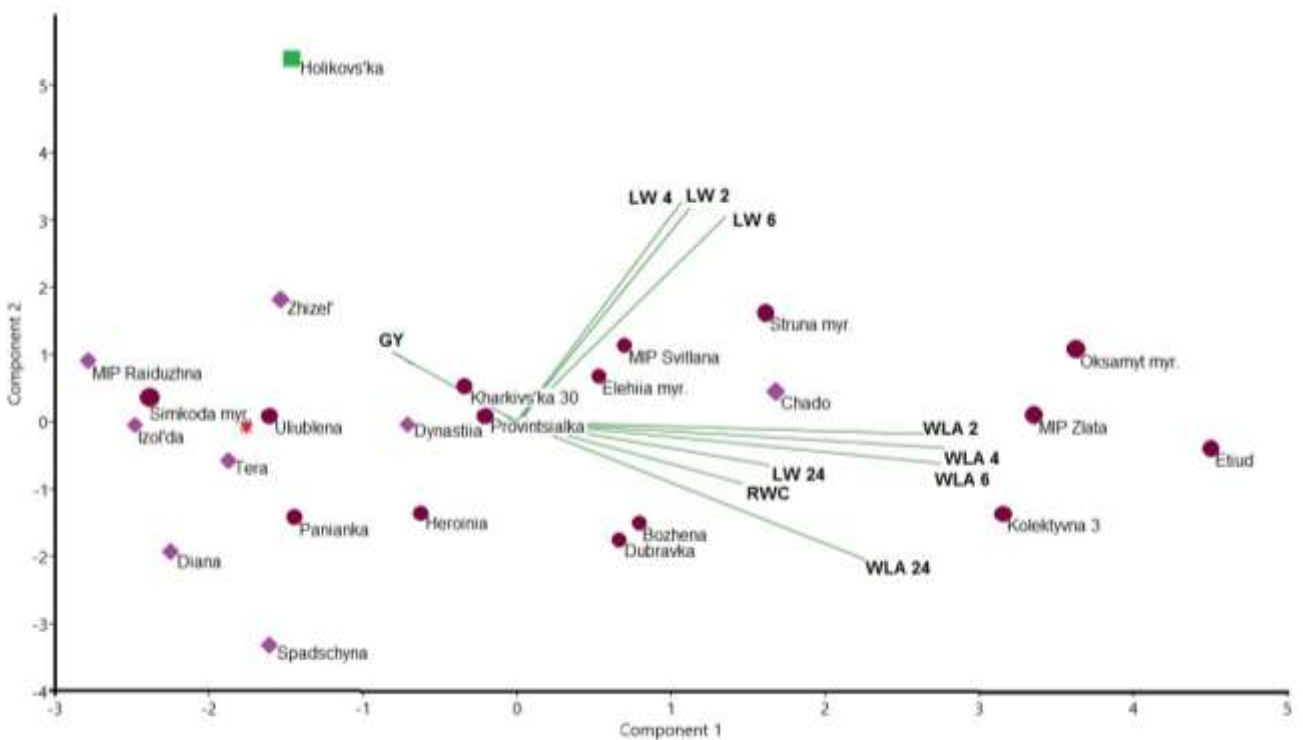
Низький EL WLW виявлено у м'яких сортів Дубравка, Героїня, Провінціалка – 28–42 %, порівняно з максимальними на рівні 43–52 % EL WLW, встановленими для сортів МП Світлана, Струна миронівська та Етюд. Серед твердих сортів відзначено найнижчий EL WLW у сортів Спадщина, Діана – 27–36 %, тоді як найбільші втрати води – у сортів Жізель, Чадо, Ізольда – 37–46 % на 4–6 год досліду. У сорту полба Голіковська на 4 год і 6 год встановлено найвищий EL WLW 48,7 % та 58,7 %, відповідно. На 24 год досліду спостерігали максимум WLW 72–79 %, достовірних відмінностей між досліджуваними сортами не було [252]

Показники EL WLA відрізнялися від EL WLW. Сорти м'якої пшениці Сімкода миронівська, Провінціалка, Панянка та тверді сорти Жізель, Тера та полба Голіковська втрачали найменше води на одиницю площі, максимальні втрати води було зафіксовано у м'яких сортів Етюд, Дубравка та твердих сортів Чадо, Спадщина. Найбільші втрати води під час 2–6 год відмічено для сортів м'якої пшениці Оксамит миронівський, Колективна 3 та Етюд, серед твердих у сортів – Чадо і Спадщина. Для визначення доцільності використання вказаних показників водного режиму було здійснено статистичний аналіз отриманих даних методом побудови подвійного графіка і аналізу головних компонентів PCA з використанням програмного забезпечення Past 3. Результати аналізу головних компонентів (PCA) наведено на рис. 3.6 *A, B, B*.

Компонент 1 склав 43,7 % загальної варіації, Компонент 2 – 28,4 %. Гострі кути між векторами PC EL WLW 2–6 год та EL WLA 2–6 год та показники RWC показали зв'язок цих параметрів. Показник врожайності незначно позитивно корелює з Компонентом 2 (0,17) і негативно (-0,13) з Компонентом 1. Це означає, що врожайність зерна мало залежала від інших факторів. Графіки PC показали що врожайність зерна негативно корелює з EL WLA 2–6 год. З огляду на довжину векторів найважливішими показниками були EL WLW 2–6 год та EL WLA 2–6 год, тоді, як ті ж показники на 24 год досліду та початковий RWC були менш інформативними в аналізі (рис. 3.6 *B*) [252].

**A**

	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4	PC 5	PC 6	PC 7	PC 8
RWC	0.40	-0.40	-0.47	0.71	-0.04	-0.01	0.01	0.001
WLW 2 h	0.69	0.66	-0.04	-0.04	-0.28	0.03	0.08	-0.007
WLW 4 h	0.68	0.69	-0.13	0.02	0.12	-0.14	-0.01	0.03
WLW 6 h	0.76	0.59	-0.16	0.01	0.16	0.12	-0.06	-0.02
WLA 2 h	0.83	-0.42	0.28	-0.04	-0.21	-0.01	-0.10	0.02
WLA 4 h	0.85	-0.48	0.17	-0.07	0.09	-0.06	0.03	-0.06
WLA 6 h	0.81	-0.53	0.16	-0.08	0.13	0.06	0.07	0.04
GY	-0.14	0.40	0.76	0.49	0.04	0.01	0.01	-0.001

**Б****В**

**Рис. 3.6.** Двокомпонентний біplot аналіз показників посухостійкості та врожайності сортів пшениці ярої. **A** – матриця навантажень, **Б** – кореляція, **В** – діаграма розкиду. PC = головні компоненти, PC1-PC8 основні досліджувані параметри пшениці. RWC – відносний вміст води, LW – водоутримна здатність у перерахунку на масу сухої речовини (EL WLW); WLA – втрати води на одиницю площі листка (EL WLA) на 2, 4, 6, 24 год висушування; GY – врожайність зерна, ц/га.

Пшениця сорту полба Голіковська займає чітку окрему позицію на графіку з високою водоутримною здатністю та показниками врожайності. Висока

посухостійкість сорту Голіковська узгоджується з літературними даними [369; 385]. За даними biplot аналізу сорти Жізель, МПП Райдужна, Сімкода миронівська знаходяться в області показників посухостійкості та врожайності; м'які сорти Колективна 3, Етюд – в районі чутливості; сорти Божена та Дубравка – близькі до векторів чутливості та толерантності, згідно з запропонованою Н. Abdi та М. Т. Mazandarai [20] моделлю biplot аналізу.

Нестача вологи на етапі кушіння пшениці сприяє збільшенню неплідних колосків і, як наслідок, спричиняє значну втрату врожаю у пшениці [2; 3; 317; 448]. Існує взаємозв'язок між посухостійкістю культур і високою відносною вологістю, водним потенціалом [94; 330] та цілісністю мембран. Згідно з деякими публікаціями [206], генотипи, які мають вищий RWC, є посухостійкішими, однак з іншого боку RWC залежить від стадії онтогенезу [93].

Вважають, що зниження RWC за умов посухи пов'язане зі здатністю толерантних сортів краще поглинати воду з ґрунту та запобігати транспіраційним втратам [130]. Вищий RWC та водний потенціал листків в умовах посухи встановлено для твердої тетраплоїдної пшениці. Результати, отримані в нашому експерименті на основі RWC, свідчать що стійкими до посухи є наступні сорти пшениці: Етюд, Колективна 3 (м'яка), Чадо, Діана (тверда) та Голіковська (полба) [252].

Високі показники EL WL прапорцевих листків негативно корелюють з врожайністю пшениці в умовах посухи [79]. Також є дані проте, що м'які сорти пшениці стійкіші до нестачі води в ґрунті, ніж тверді [447]. Тверді сорти мають недостатньо розвинену кореневу систему і низьку водоутримну здатність листків на початкових етапах росту [79]. Проте, деякі вчені повідомляють про вищу посухостійкість твердих сортів пшениці [80].

Кращий ріст *T. durum* і *T. dicoccum* за водного стресу, порівняно з гексаплоїдними генотипам *T. aestivum*, може бути пов'язаний з їх кращою здатністю утримувати воду, що пов'язують зі збільшенням вмісту АБК при нестачі води, вищими стабільністю мембран та нітратредуктазною активністю [109].

Показники RWC або ELWL широко використовуються як критерій посухостійкості.

Враховуючи отримані нами дані за значенням EL WLW, посухостійкість сортів знижувалася в такому порядку: Дубравка – Героїня – Провінціалка – Панянка – Божена (м'які) та Спадщина – Діана – Династія – Тера – МПП Райдужна (тверді). Адаптивна здатність до посухи відмічена також у сортів Струна миронівська та Елегія миронівська.

EL WL може більш точно відображати баланс між надходженням води до листків та швидкістю транспірації, здатність рослини відновлюватися після стресу, а отже, до високої врожайності. Цей параметр легко визначити, тому він придатний для використання у великих популяціях.

Водний дефіцит прапорцевих листків пшениці ярої здебільшого визначається сортовими особливостями. Таким чином показники EL WLA та RWC є ефективними інструментами скринінгу на посухостійкість для різних сортів пшениці. За нашими даними кореляція між водоутримною здатністю та водно-дефіцитними показниками у прапорцевих листках ярої пшениці спостерігається не завжди. Згідно з літературними даними особливо чутливою до дефіциту води є репродуктивна фаза розвитку.

### **Підсумки до підрозділу**

Дефіцит вологи спричинив зменшення відносного вмісту води в листках всіх досліджуваних сортів пшениці. Підтверджено відмінності в реакції на посуху серед сортів пшениці *T. aestivum* і *T. durum*. Високі значення WD відзначено для сортів Сімкода миронівська та МПП Райдужна. Низькі значення WLW EL, а отже, вища посухостійкість відмічена для сортів пшениці твердої Спадщина та Діана. Двокомпонентний biplot аналіз підтвердив високу посухостійкість сорту МПП Райдужна. Показники EL WLW та EL WLA, що характеризують водоутримну здатність тканин листків, можуть бути рекомендовані як додаткові показники стійкості до водного стресу.

Представлені вище результати опубліковано у статтях [252] та матеріалах конференцій [473, 478].

### **3.4. Якісні та кількісні показники структури врожаю пшениці ярої за умов вирощування на ґрунтах із різними фізико-хімічними характеристиками**

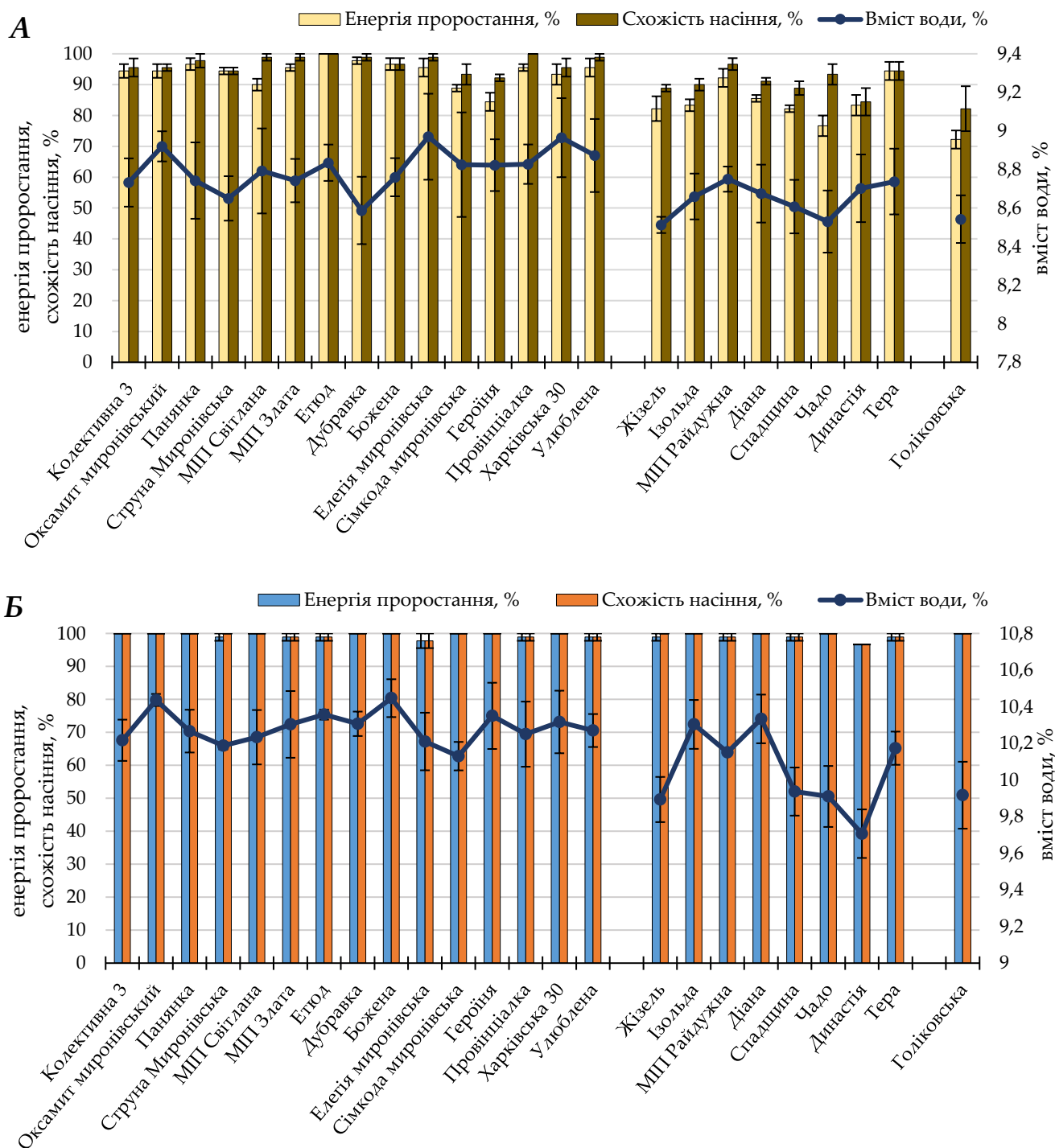
#### **3.4.1. Посівні характеристики насіння пшениці, вирощеної на ґрунтах із різною біодоступністю мікроелементів**

Головними показниками життєздатності насіння слугують енергія проростання та схожість. Згідно з міжнародним стандартом ISTA (International Seed Testing Association) [489] та стандартом України ДСТУ 4138-2002 схожість насіння визначали в лабораторних умовах. Схожість є основним показником якості насіння, який всебічно характеризує його посівну придатність. Енергія проростання насіння характеризує життєздатність насіння та дружність появи нормальних проростків за певний термін. Насіння з високою енергією проростання дає ранні й рівномірні сходи. Високі показники енергії проростання має здорове насіння, вирівняне за фізіологічним станом. Варто зазначити, що показник енергії проростання не визначається за міжнародним стандартом ISTA, а перевіряється лише на відповідність внутрішнім вимогам України ДСТУ.

Для аналізу життєздатності визначали енергію проростання та схожість насіння в лабораторних умовах, використовували насіння отримане у 2017 році із дослідних ділянок Д. Лужок та Дмитрів на двох різних типах ґрунтів, які різнились за рН, доступністю мінеральних елементів та вмістом органічної речовини. Зразки насіння попередньо зберігали в однакових умовах у негерметичній тарі, при неконтрольованому температурному режимі (кімнатна температура) та вологості.

У досліджуваних сортів пшениці ярої енергія проростання насіння варіювала від 72 до 100 %, а схожість – від 82 до 100 %, вміст води в насінні становив 8,53 – 10,45 % (рис. 3.7 А, Б).





**Рис. 3.7.** Енергія проростання (%), схожість насіння (%) та вміст води в зерні (%) 24 сортів ярої пшениці, дослідні ділянки Дмитрів (А) (50°13'26,6"N 24°36'50,5"E) та Д. Лужок (Б) (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E), вегетаційний сезон 2017 р..

Порівнюючи дані щодо посівної якості насіння, отриманого із двох дослідних ділянок, встановлено більші коливання показників енергії проростання та схожості у зразках із дослідної ділянки Дмитрів (рис. 3.7 А). Найвища енергія проростання

була в насіння, отриманого з ділянки Дмитрів: сорт пшениці м'якої Етюд, сорт пшениці твердої Тера. Найнижча енергія проростання була властива насінню м'якої пшениці сорту Героїня та твердої сорту Чадо. У сорту полба Голіковська виявлено найнижчий рівень енергії проростання серед усіх дослідних сортів – 72,21 %.

Енергія проростання насіння усіх 24 сортів пшениці ярої, отриманого з дослідної ділянки Д. Лужок, була практично на одному рівні. У 13 з 24 сортів цей показник досягав значення 100 % (рис. 3.7 **Б**). Найнижча енергія проростання насіння відмічена у сортів Елегія миронівська (м'яка) та Династія (тверда).

Найвища схожість насіння з дослідної ділянки Дмитрів була у сортів Етюд та Провінціалка серед м'яких сортів та МІП Райдужна серед твердих. Найнижча схожість насіння виявлена для сортів Героїня (м'яка) та Династія (тверда). Сорт полба Голіковська характеризувався найнижчою схожістю насіння та енергією проростання серед усіх дослідних сортів з даної дослідної ділянки.

У насіння отриманого з дослідної ділянки Д. Лужок схожість була на рівні 100 % у 15 сортів із 24 досліджених. Найнижчі показники на рівні 97,78 % та 96,66 % у сортів Елегія миронівська (м'яка) та Династія (тверда) відповідно. Проте, достовірної різниці між показниками енергії проростання та схожості насіння не встановлено. Сорт полба Голіковська показав 100 % схожість насіння та енергію проростання, в той час коли на ділянці Дмитрів насіння цього сорту характеризувалось найнижчими показниками життєздатності.

Важливу роль при проростанні насіння відіграє вміст води в зерні. В зерні пшениці, яке зберігається понад 1 рік, міститься 8–15 % води [196]. Чим більший вміст води в зерні тим вищі показники енергії проростання та схожості насіння.

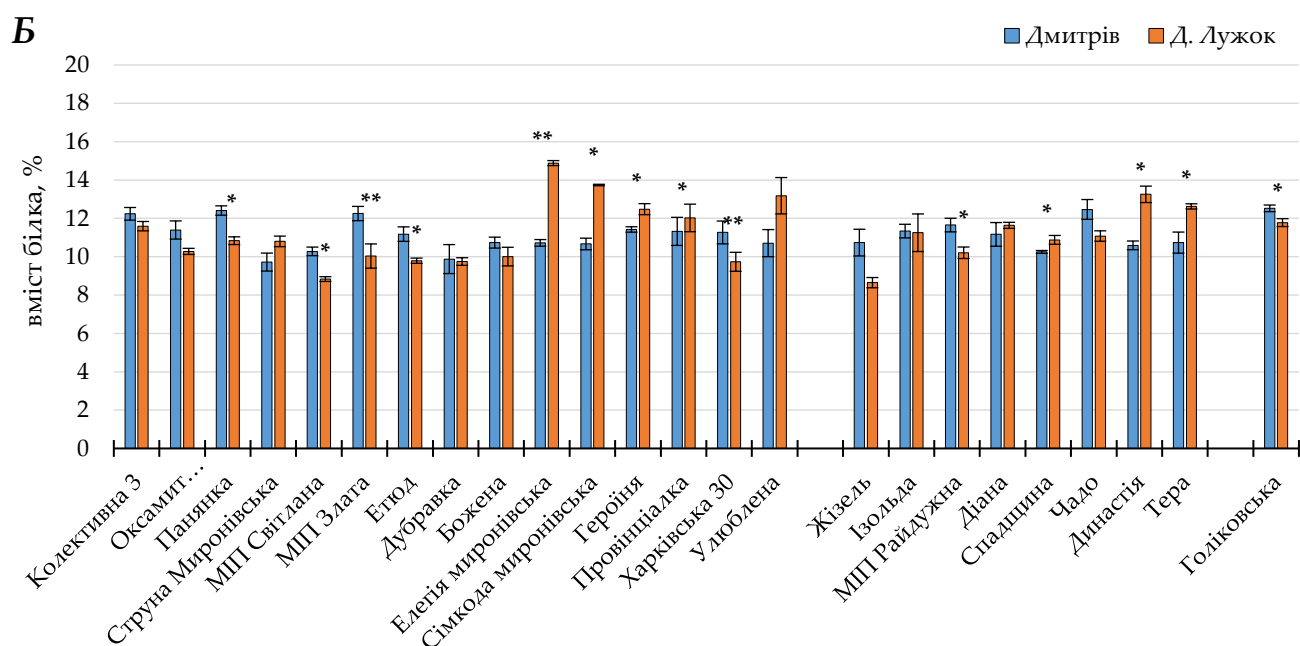
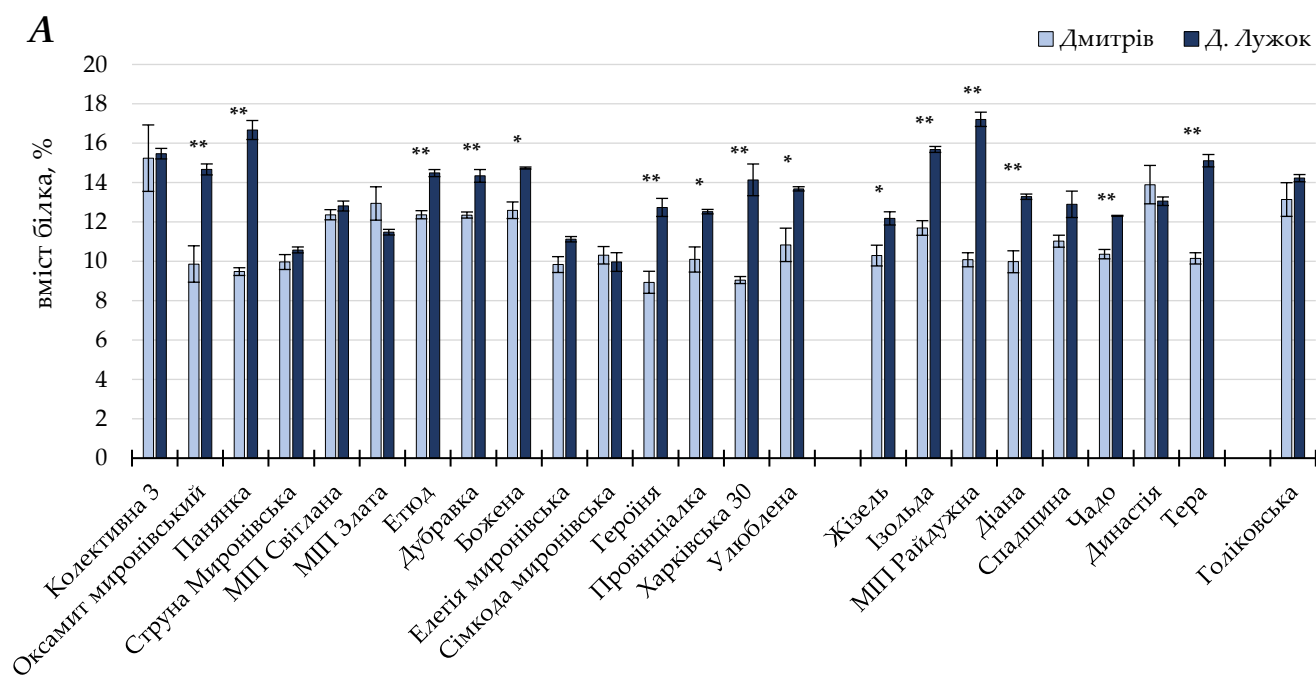
В середньому, вміст води був вищим у м'яких сортів на обох дослідних ділянках (рис. 3.7 **А, Б**). Вищим вміст води в зерні був у всіх сортів на ділянці Д. Лужок, чим можемо частково пояснювати його вищі показники енергії проростання та схожості.

Згідно з отриманими даними, вищий вміст біодоступного Fe та Cu збільшують енергію проростання та схожість насіння (див. табл. 3.1, стор. 74). Встановлено позитивні залежності між енергією проростання та вмістом води в насінні на ділянках Дмитрів ( $r = 0,609^{**}$ ) та Д. Лужок ( $r = 0,482^{**}$ ), та між схожістю насіння та вмістом води –  $r = 0,561^{**}$  та  $r = 0,391^{**}$  відповідно.

#### **3.4.2. Загальний вміст білків у зерні пшениці ярої за різних умов ґрунтового живлення**

Масова частка білка є важливою характеристикою оцінки якості зерна, яка в Україні нормується згідно ДСТУ 3768:2010, це основний критерій прогнозування хлібопекарської якості пшеничного борошна та кінцевої вартості продукту [14; 146; 231].

Визначено загальний вміст білка в зерні пшениці, отриманого із врожаїв двох років польових досліджень (рис. 3.8 *А, Б*). Встановлено, що вміст білків в зерні залежить від фізико-хімічних властивостей ґрунту та має сортові відмінності. Вищий вміст білків в зерні для більшості дослідних сортів спостерігали в зерні врожаю 2017 року порівняно з посушливим 2018 роком: 8,93–17,21 % та 8,65–14,88 %, відповідно. Істотної різниці між показниками вмісту білків для м'яких та твердих сортів не виявлено. Максимальний вміст білка встановлено у зерні рослин, вирощених на ділянці Д. Лужок для твердого сорту МП Райдужна – 17,21 % (2017) найменший – у сорту Жізель – 8,65 % (2018). Серед м'яких сортів високою здатністю до накопичення білків на обох ділянках вирізнялись сорти Колективна 3 та Етюд, серед твердих – Династія та Ізольда. Сорт полба Голіковська вирізнявся високим вмістом білків на обох дослідних ділянках впродовж двох років дослідження (11,78–14,23 %). Припускаємо, що порівняно високий вміст білка зумовлений генетичними особливостями пшениці *T. dicocum*, оскільки такі сорти вважаються цінними через високий вміст білка в зерні [37; 220; 260].



\* – достовірність різниці між дослідними ділянками; \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$

**Рис. 3.8.** Загальний вміст білків (%) в зерні сортів пшениці ярої на етапі GS89 в польових умовах на дослідних ділянках Дмитрів(50°13'26.6"N 24°36'50.5"E) та Д. Лужок (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E), вегетаційні сезони 2017 (А) та 2018 (Б) років.

Повідомляється, що на етапі наливу зерна високотемпературний стрес може знизити не тільки врожайність, але й вміст білків, що в свою чергу погіршить якість зерна та хлібопекарські властивості борошна [40]. Ми припускаємо, що нижчий

рівень білків в зерні у врожаю 2018 року може бути пов'язаний з вищою температурою та малою кількістю опадів у травні та червні, коли рослини перебували на етапі активної вегетації (див. рис. 2.4, стор. 61).

Згідно з отриманими даними, в 2017 р. встановлено вищий вміст білка у 22 сортів на дослідній ділянці Д. Лужок. Сорти МП Злата та Династія вирізнялись вищим вмістом білка на ділянці Дмитрів, однак цей рівень був незначним та перебував в межах стандартних відхилень. Ми припускаємо, що нижчий вміст білків у зерні для більшості сортів на ділянці Дмитрів може бути пов'язаний з дефіцитом біодоступних мікроелементів в ґрунтах (див. табл. 3.1, стор. 74).

Вміст білка в зерні є спадковою ознакою, яка залежить від середовища вирощування та агротехнічних факторів [173]. Більшість сучасних сортів пшениці мають обмеження щодо накопичення білків (10–14 %). Багатообіцяючим джерелом високого вмісту білків є дика пшениця *T. dicoccoides* Schweinf., де вміст білка в зерні коливається від 18 до 30 % [83]. У середньому в 100 г зерна пшениці міститься 9,4–13,9 г білка [467].

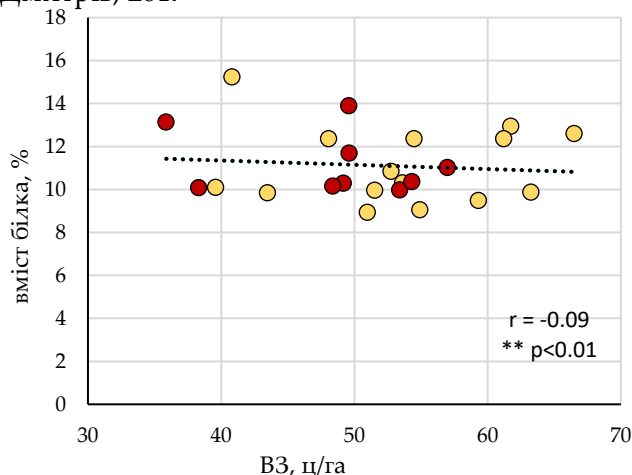
Білок у зерні пшениці накопичується в процесі його наливання переважно внаслідок реутилізації азотовмісних сполук із вегетативних органів, синтезованих до і під час цвітіння [13; 185]. Повідомляється, що прапорцевий листок головним чином важливий для асиміляції N і служить основним джерелом метаболітів N таких як амінокислоти, які згодом транспортуються в зерно [185]. Наявність N у ґрунтовому розчині, що оточує корінь, на цій фазі розвитку має вирішальне значення для використання генетичного потенціалу накопичення білка в зерні. У зрілій зернівці практично весь N міститься в її білках [46; 467]. Сульфур може збільшити врожайність зерна та концентрацію білка, оскільки є необхідним для утворення S-вмісних амінокислот [390]. Хоча всі амінокислоти містять N, дві важливі амінокислоти містять S – метіонін та цистеїн. Метіонін є будівельним матеріалом для синтезу всіх білків, а цистеїн, завдяки своїй здатності утворювати дисульфідні зв'язки, відіграє вирішальну роль у визначенні структури білків [67]. Окрім того, значну роль в концентрації білка відіграє аспарагін, оскільки він

накопичується в умовах стресу як біологічна відповідь на обмеження синтезу білка. Такі стресові умови можуть бути спричинені посухою, патогенами, токсичністю або дефіцитом мінеральних речовин. Високі концентрації вільного аспарагіну в зерні вказують на низьку ефективність використання N, що призводить до зниження якості зерна [430]. Cu є активатором окисно-відновних процесів які впливають на накопичення білків [172], його дефіцит в ґрунті може бути однією з причин низьких показників концентрації білків в зерні на ділянці Дмитрів. Згідно з М. Zeidan та ін. [456] застосування Zn та Fe вмісних добрив збільшує вміст білка в зерні. Окрім того, повідомляється, що зі збільшенням концентрації Fe та/або Zn в зерні вміст білка знижується [439]. Це частково узгоджується з отриманими нами даними (дані щодо концентрації Fe та Zn в зерні представлено на рис. 3.12–3.14), див. нижче стор. 105-108.

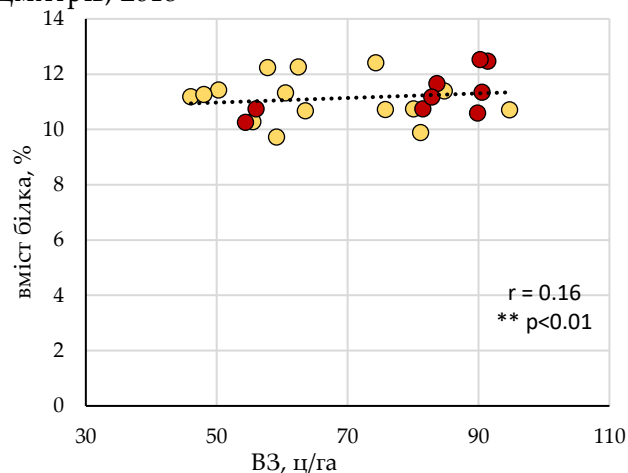
Згідно з літературними даними, у *T. aestivum* врожайність та вміст білка в зерні негативно корелюють [83; 450]. Здійснено кореляційний аналіз, між концентрацією білка та середньою врожайністю (рис. 3.9). Показники врожайності представлено на рис. 3.10 *А, Б* стор. 97 та рис. 3.11 *А, Б* стор. 98.

Слабкі позитивні кореляції між білком та ВЗ було отримано на обох дослідних ділянках у 2018 р. Найвищі позитивні залежності між ВЗ та білком встановлено на ділянці Д. Лужок у 2018 р. ( $r = 0.17^{**}$ ). Для ділянок Дмитрів та Д. Лужок у 2017 році було отримано слабкі від'ємні кореляційні зв'язки. Однак, згідно з отриманими даними, ми не можемо стверджувати, що вміст білків та врожайність завжди негативно корелюють.

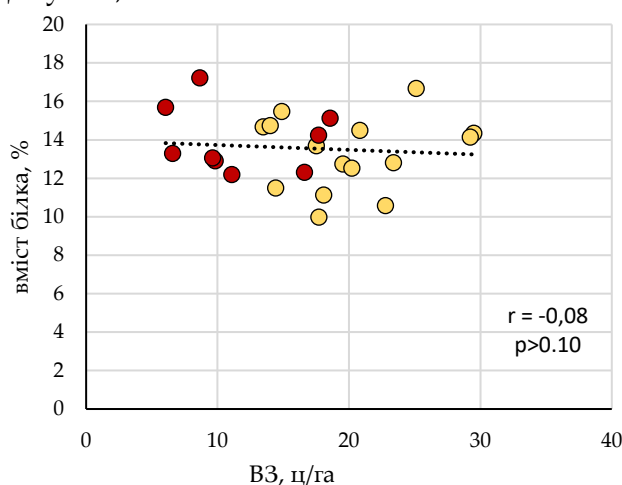
Дмитрів, 2017



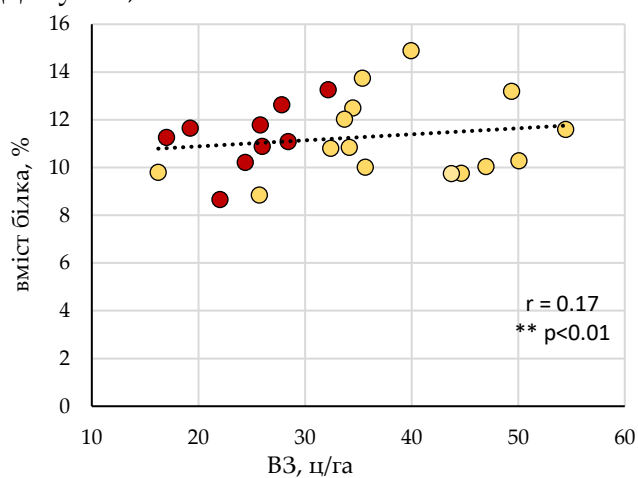
Дмитрів, 2018



Д. Лужок, 2017



Д. Лужок, 2018



\*(червоний – тверді сорти, жовтий – м'які сорти)

**Рис. 3.9.** Кореляційний аналіз залежності між загальним вмістом білка (%) та середньою врожайністю (ВЗ, ц/га) на дослідних ділянках Дмитрів (50°13'26,6''N 24°36'50,5''E) та Д. Лужок (49°27'17.5''N 23°23'02.6''E), польовий дослід, вегетаційні сезони 2017–2018 рр..

### 3.4.3. Врожайність та структура врожаю пшениці за умов вирощування на ґрунтах з різною біодоступністю мінеральних елементів

Врожайність та структура врожаю пшениці визначаються впливом умов навколишнього середовища, агротехнічними заходами, видом та сортом рослин [432]. До показників структури врожаю відносять масу 1000 зерен (МТЗ), кількість зерен на колос (КЗК) та висоту колоса (ВК). У ході проведення експериментів встановлено врожайність (ВЗ) та показники структури врожаю для пшениці ярої

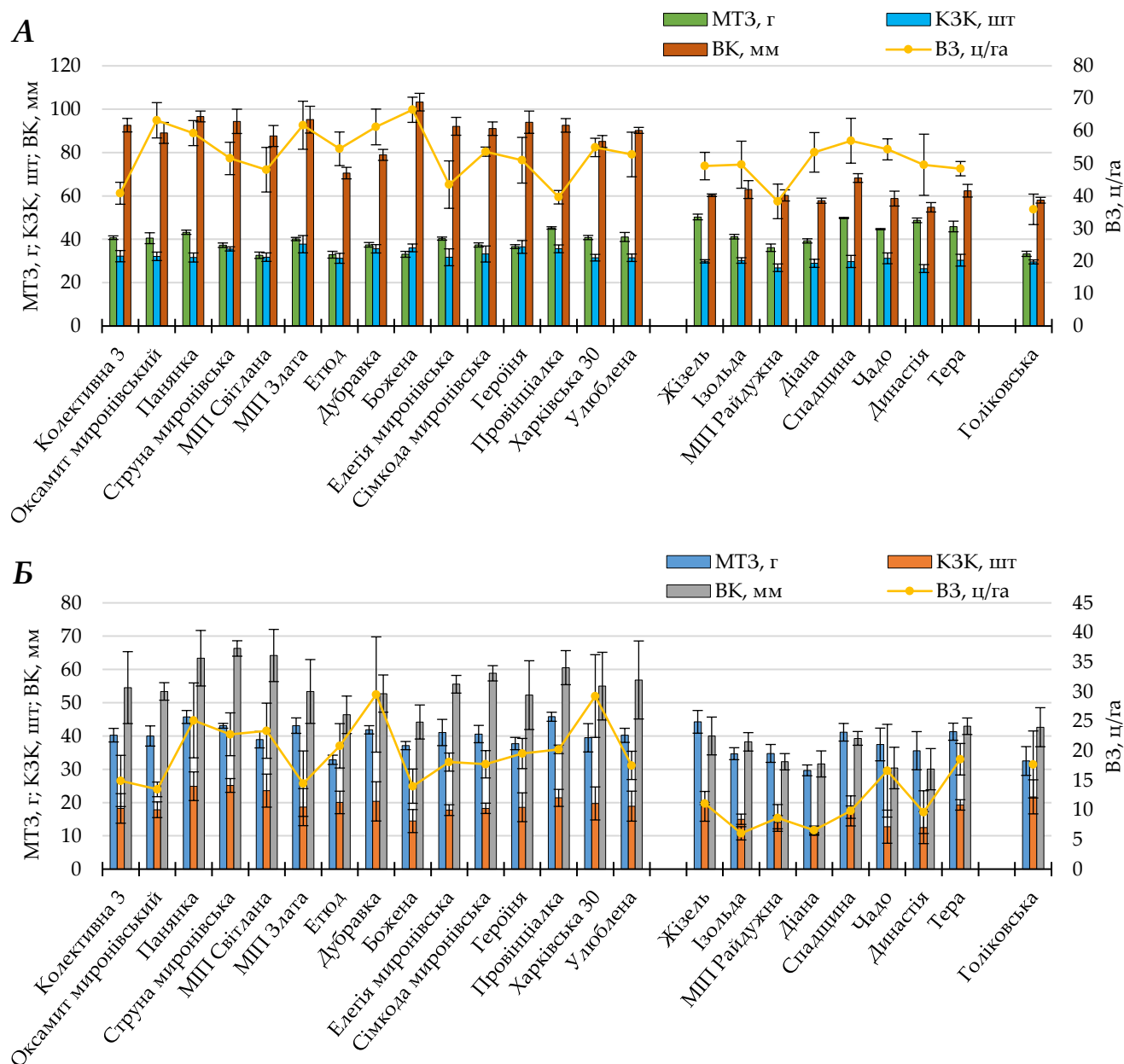
гекса та тетраплоїдних сортів, на дослідних ділянках Дмитрів, які характеризувались як чорноземи на елювії карбонатних порід з лужним рН, високим вмістом ОРГ та дефіцитом доступних форм Fe, Zn та Cu, та ділянках Д. Лужок з дерново-буроземними суглинковими ґрунтами з слабо-кислим рН, нижчим вмістом ОРГ та вищими концентраціями мікроелементів.

Встановлено, більшу висоту колоса для м'яких сортів пшениці у 2017 р. на обох дослідних ділянках (рис. 3.10 *А, Б*). Серед м'яких сортів, на ділянці Дмитрів найдовшим колосом вирізнялись сорти Божена, Панянка та Струна миронівська, серед твердих – Спадщина, Ізольда, Тера. На ділянці Д. Лужок колоси всіх сортів були коротшими (в середньому на 25–30 %). Таким чином, висота колоса залежить не лише від сорту пшениці, але і від ґрунтових умов. Найдовші колоси були у м'яких сортів Струна миронівська, Світлана, Панянка та твердих сортів Спадщина, Тера, Жізель. У 2018 році (рис. 3.11 *А, Б*) найдовшим колосом на ділянці Дмитрів вирізнялись м'які сорти Колективна 3, Оксамит миронівський, Улюблена та тверді МПП Райдужна, Спадщина, Ізольда. На ділянці Д. Лужок найдовші колоси серед м'якої пшениці були у сортів Божена, Героїня, Улюблена, серед твердої у сортів МПП Райдужна, Спадщина, Тера. Сорти Панянка, Божена, Улюблена, Струна миронівська, Тера та Спадщина виділялись більшою висотою колоса незалежно від типу ґрунту. Сорти Струна миронівська, Панянка та Спадщина вирізнялись довгими колосами за різних умов мінерального живлення впродовж 2 років досліджень.

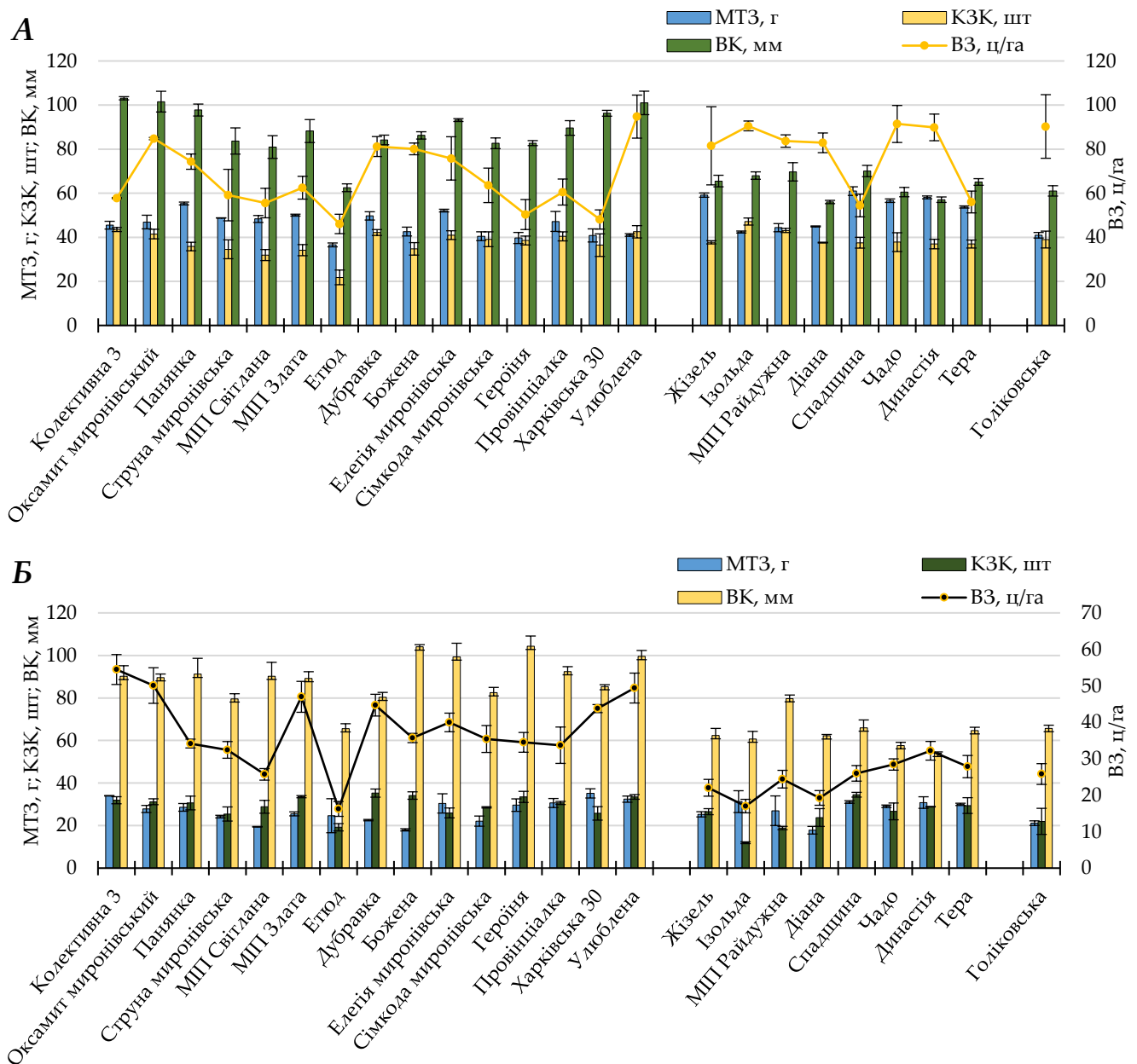
Кількість зерен в колосі – це важливий показник який залежить від здатності колоса генерувати колоски (у більшості сортів пшениці це 10-20 колосків), та диференціювання зачатків квіток, які, зрештою можуть розвинути в зерна і визначити КЗК [457, 462]. Вищі показники КЗК при меншій висоті колоса для всіх м'яких сортів на обох ділянках спостерігали у 2017 р. (рис. 3.10 *А, Б*), тоді як у 2018 р. (рис. 3.11 *А, Б*) не отримали подібних результатів. Ми припускаємо, що менша кількість зерен в колосі на ділянці Д. Лужок у 2017 році пов'язана з високими концентраціями біодоступного Fe в ґрунті, оскільки, повідомляється що значний



вміст біодоступного Fe зменшує кількість квітів, а відповідно і кількість зерен на колос [418]. У 2018 р. на ділянці Д. Лужок кількість зерен на колос у всіх сортів була вищою, а вміст біодоступного Fe в ґрунті був меншим на 93 % ніж попереднього року.



**Рис. 3.10.** Врожайність (VZ, ц/га) та структура врожаю пшениці ярої 2017 р.: маса 1000 зерен (MTZ, г), висота колоса (BK, мм), кількість зерен на колос (KZK, шт), польові умови, дослідні ділянки Дмитрів (А) (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E) та Д. Лужок (Б) (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E).



**Рис. 3.11.** Врожайність (ВЗ, ц/га) та структура врожаю ярої пшениці 2018 р.: маса 1000 зерен (MT3, г), висота колоса (БК, мм), кількість зерен на колос (КЗК, шт), на стаді GS89, польові умови, дослідні ділянки Дмитрів (А) (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E) та Д. Лужок (Б) (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E).

MT3 залежить від біологічних особливостей генотипу та умов навколишнього середовища. MT3 є продуктивною ознакою, яка суттєво впливає на врожайність [108]. Сортові особливості мають значний вплив на відмінності MT3 між сортами (рис. 3.10 А, Б та рис. 3.11 А, Б).

У врожаї 2017 р. середня МТЗ усіх досліджуваних м'яких сортів пшениці на ділянці Дмитрів становила 38,62 г, твердих – 44,50 г, полба – 33,29 г. На ділянці Д. Лужок м'які сорти – 40,51 г, тверді – 37,35 г, полба – 32,49 г (рис.3.10 *А, Б*). Високою МТЗ у 2017 році на обох ділянках серед м'яких сортів виділялись Панянка, Провінціалка, серед твердих сортів – Жізель та Спадщина.

В середньому, МТЗ у врожаї 2018 р. для м'яких сортів на ділянці Дмитрів становила 45,7 г, твердих – 52,53 г, полба – 40,92, на ділянці Д. Лужок м'які – 27,01 г, тверді – 27,79 г, полба – 21,14 (рис. 3.11 *А, Б*). Високою МТЗ у 2018 році на обох ділянках виділялись м'який сорт Елегія миронівська та тверді сорти Спадщина та Династія. На ділянці Дмитрів маса 1000 зерен всіх дослідних сортів була вищою у 2018 році, на ділянці Д. Лужок у 2017 р. Згідно з отриманими даними, твердий сорт Спадщина виділявся високою МТЗ за умов різного забезпечення мінеральними елементами та ОРГ. Отримані дані МТЗ у пшениці полба узгоджуються з даними наведеними в літературі [464]. Повідомляється, про МТЗ для пшениці ярої 22,9 – 42,6 г [266], для озимої у середньому 40 г [10].

Варто зазначити, що врожайність зерна пшениці залежить від низки компонентів, таких як кількість рослин на одиницю площі, кількість колосів на рослину, кількість зерен у колосі, кількість колосків у колосі, кількість зерен на колос та колосок, висота колоса, маса 1000 зерен [107]. Окрім того, врожайність визначається також сортовими особливостями, погодними умовами та фізико-хімічними властивостями ґрунтів.

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 (рис. 3.10 *А, Б*). При цьому, м'які сорти були більш врожайними ніж тверді. Середня ВЗ м'яких сортів на ділянці Дмитрів – 53,48 ц/га, твердих – 49,97 ц/га. М'які сорти з найвищими показниками врожайності – Божена, Оксамит миронівський, Дубравка, тверді – Спадщина, Чадо. На ділянці Д. Лужок середня врожайність м'яких сортів становила 20,05 ц/га. Максимальні ВЗ серед м'яких пшениці отримано у сортів Харківська 30, Дубравка та Панянка. Середня ВЗ

твердих сортів – 10,88 ц/га. Висока ВЗ серед твердої пшениці були у сортів Чадо та Тера. Показники врожайності твердих сортів на даній ділянці були на 78 % нижчими в порівнянні з ділянкою Дмитрів. Твердий сорт Спадщина виділявся високою МТЗ та максимальною врожайністю серед твердих сортів на ділянці Дмитрів. Сорт Панянка вирізнявся високою МТЗ та врожайністю на обох ділянках. Сорт Провінціалка виділявся максимальною МТЗ серед м'яких сортів на обох ділянках у 2017 році, проте найнижчою врожайністю серед м'яких сортів на ділянці Дмитрів, та ВЗ нижче середньої на ділянці Д. Лужок. Твердий сорт Жізель вирізнявся максимальною МТЗ серед твердих сортів на обох ділянках, проте ВЗ нижче середнього.

Вищі показники врожайності зерна для всіх сортів на обох ділянках отримано у 2018 р. (рис. 3.11 *А, Б*). Врожайність зерна на карбонатних чорноземах ділянки Дмитрів була вищою на 53 % порівняно з аналогічним показником на ділянці Д. Лужок. Середня врожайність зерна на ділянці Дмитрів становила 71,46 ц/га, що на 27 % перевищувало ВЗ попереднього року. На ділянці Д. Лужок цей показник був вищим на 49 %, в порівнянні з 2017 р. Середня ВЗ м'яких сортів на ділянці Дмитрів становила 66, 29 ц/га. Високу ВЗ виявлено у сортів Улюблена, Дубравка, Оксамит миронівський та Божена. Середня врожайність твердих сортів на ділянці Дмитрів – 78,78 ц/га. Сорти Ізольда, Чадо та Династія виділялись найвищою врожайністю зерна. На ділянці Д. Лужок середня врожайність для м'яких сортів становила – 38,48 ц/га, для твердих – 24,64 ц/га. М'які сорти з найвищою ВЗ – Колективна 3, Оксамит миронівський, Улюблена, тверді сорти – Династія, Чадо, Тера. Сорт полба Голіковська характеризувався ВЗ вище середньої на ділянці Д. Лужок впродовж двох років досліджень.

Згідно з літературними даними, середня врожайність полби є значно нижчою, ніж у м'якої пшениці [244]. М'які сорти Оксамит миронівський та Дубравка виділялись високими показниками врожайності при порівняно невисокій МТЗ на обох дослідних ділянках впродовж двох років досліджень. Для твердого сорту Спадщина, який виділявся максимальною МТЗ на обох ділянках, встановлено ВЗ

нижче середньої на обох типах ґрунтів. Твердий сорт Династія вирізнявся високою МТЗ та ВЗ у 2018 р. за різного мінерального живлення. Проаналізувавши показники врожайності впродовж двох років досліджень, встановлено, що м'які сорти, як правило, є більш врожайними в порівнянні з твердими, проте, маса 1000 зерен зазвичай є вищою у твердих сортів пшениці.

Врожайність пшениці значною мірою залежить від вмісту води в ґрунті на різних етапах розвитку, особливо важливим є достатній для рослини вміст води на етапах виходу в трубку, колосіння та цвітіння [351]. Припускаємо, що низький рівень опадів впродовж червня 2017 р. (див. рис. 2.4, стор. 61), негативно вплинув на показники врожайності, оскільки на цей період припали етапи колосіння та цвітіння, які є важливими для кінцевої врожайності. Проте, припускаємо, що у 2018 р. (див. рис. 2.4, стор. 61) недостатньо опадів та високі температури впродовж квітня-травня, на які припали етапи кушіння та виходу в трубку, також мали вплив на формування врожайності зерна.

Посуха є основним абіотичним стресом, який значно знижує врожайність сільськогосподарських культур, особливо пшениці [167]. В умовах посухи знижується інтенсивність фотосинтезу, що призводить до зниження виробництва біомаси, та в кінцевому підсумку впливає на врожайність і компоненти, які формують її структуру [336]. Встановлено, що посуховий стрес зменшує висоту колоса, кількість зерен на колос, масу 1000 зерен та загальну врожайність [39; 167]. Окрім того, забезпеченість рослин Цинком та Ферумом суттєво впливають на висоту рослини та колоса, кількість зерен на колос, масу 1000 зерен та врожайність [309]. Встановлено, що забезпеченість біодоступним Zn має значний вплив на врожайність, оскільки він є каталізатором різних процесів росту, таких як фотосинтез, дихання, синтез гормонів та утворення білка [308]. Повідомляється, що маса 1000 зерен значною мірою залежить від кількості зерен на колос та висоти колоса [297].

Проведено кореляційний аналіз між врожайністю, основними компонентами її структури та концентрацією доступних форм мікроелементів в ґрунтах (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Дані кореляційного аналізу між врожайністю (ВЗ), масою 1000 зерен (МТЗ), кількістю зерен в колосі (КЗК), висота колоса (ВК) та концентрацією біодоступних форм Fe, Zn та Cu, дослідні ділянки Дмитрів та Д. Лужок, вегетаційні сезони 2017-18 рр.

Дмитрів 2017	МТЗ	КЗК	ВК	ВЗ
КЗК	-0,311			
ВК	-0,323**	0,778**		
ВЗ	-0,005*	0,401*	0,326*	
Fe ґрунт	-0,029*	-0,202*	-0,190**	-0,100*
Zn ґрунт	-0,275**	0,034**	0,249**	0,276**
Cu ґрунт	-0,552**	0,316**	0,269**	0,024**

Д. Лужок 2017	МТЗ	КЗК	ВК	ВЗ
КЗК	0,580			
ВК	0,630	0,825		
ВЗ	0,428	0,734	0,698	
Fe ґрунт	-0,364**	-0,146**	-0,282**	-0,454**
Zn ґрунт	-0,269	-0,129	-0,046*	-0,462
Cu ґрунт	0,117	0,163	0,282**	-0,049

Дмитрів 2018	МТЗ	КЗК	ВК	ВЗ
КЗК	0,049**			
ВК	-0,201**	0,239**		
ВЗ	0,151**	0,514**	-0,204	
Fe ґрунт	-0,259**	0,196**	0,412**	-0,069*
Zn ґрунт	-0,096**	0,309**	0,327**	-0,003**
Cu ґрунт	-0,139**	-0,088**	0,185**	-0,343**

Д. Лужок 2018	МТЗ	КЗК	ВК	ВЗ
КЗК	0,038			
ВК	0,046**	0,509**		
ВЗ	0,347	0,657	0,640*	
Fe ґрунт	-0,002	-0,119	-0,218**	-0,082*
Zn ґрунт	-0,015**	-0,098**	-0,096**	-0,014**
Cu ґрунт	-0,342*	-0,258**	-0,015**	-0,229**

\*\* p<0.01, \* p<0.05

Кореляційний аналіз здійснено між сімома ознаками: МТЗ, КЗК, ВК, ВЗ, концентрацією біодоступних форм Fe, Zn та Cu в ґрунті (табл. 3.2). Найбільшу позитивну кореляцію ( $r = 0,825$ ) встановлено між КЗК та ВК на ділянці Д. Лужок. Кореляція між даними показниками була позитивною для всіх варіантів дослідження ( $r = 0,778^{**}$ ,  $r = 0,509^{**}$ ,  $r = 0,239^{**}$ ). Найбільша негативна залежність встановлена на ділянці Дмитрів між МТЗ та концентрацією доступних форм Cu в ґрунті ( $r = -0,552^{**}$ ). Найбільше позитивних кореляцій встановлено між такими показниками як ВЗ та КЗК, МТЗ, ВК. Кількість зерен на колос суттєво пов'язана з врожайністю в сучасних сортах пшениці [436], що узгоджується з отриманими нами даними.

Отримано позитивні кореляції між ВЗ та КЗК на обох дослідних ділянках впродовж двох років експериментів (2017: Дмитрів –  $r = 0,401^*$ , Д. Лужок –  $r = 0,734$ ; 2018: Дмитрів –  $r = 0,514^{**}$ , Д. Лужок –  $r = 0,657$ ).

В результаті аналізу отриманих нами даних, враховуючи показники врожайності та структури врожаю, ми припускаємо, що сорти м'якої пшениці Дубравка, Оксамит миронівський та тверді сорти Чадо, Династія є стійкішими до факторів навколишнього середовища, та володіють вищою адаптаційною пластичністю до умов вирощування, оскільки показали високі показники врожайності та відносно високу МТЗ за умов різного забезпечення мінеральними елементами.

#### **3.4.4. Концентрація мікроелементів в прапорцевих листках, колосі, зерні та зародках пшениці за різних ґрунтових умов**

Вміст доступних форм мікроелементів в ґрунті є важливим фактором впливу на концентрацію мікроелементів в органах рослин пшениці, а відповідно і на якість зерна. Низька біодоступність мікроелементів у ґрунтах зумовлена високим рН, вмістом органічної речовини та залежить від мінерального складу, вмісту вологи, щільності та пористості ґрунту [222; 429].

В ході експериментів досліджено концентрацію мікроелементів, а саме Fe, Cu та Zn в органах пшениці ярої. Експерименти здійснено в польових умовах впродовж вегетаційних сезонів 2017 та 2018 рр., на типах ґрунтів, які різнились за рівнем рН, вмістом органічної речовини та доступних форм Fe, Cu та Zn. Дане дослідження дозволить зробити порівняльну характеристику дослідних сортів, та обрати серед них сорти з високою здатністю до накопичення мікроелементів в польових умовах за різного забезпечення мікроелементами.

#### **Концентрація мікроелементів в зерні (2017 р.).**

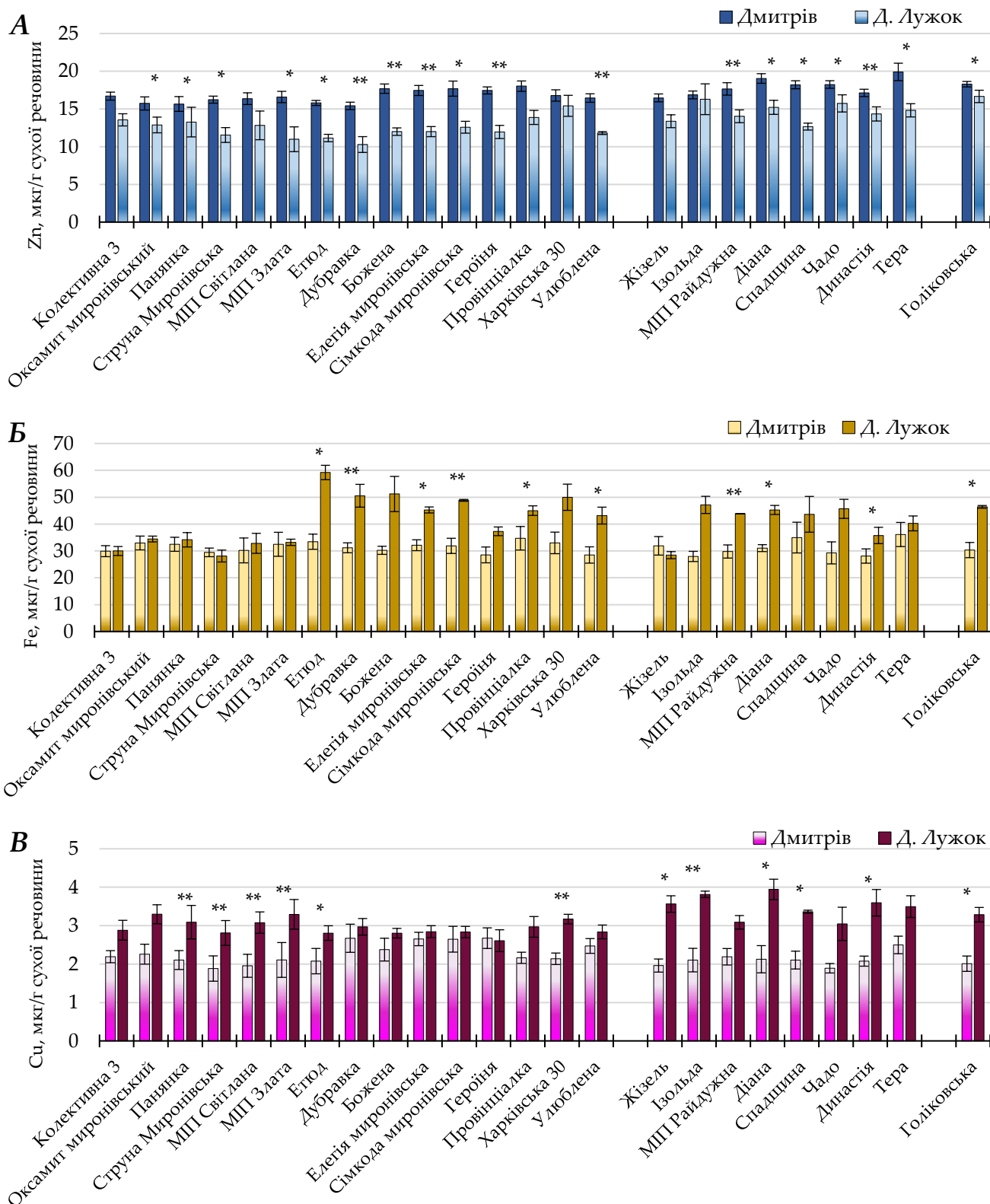
У 2017 році досліджено концентрацію Fe, Cu та Zn в зерні пшениці на етапі повної стиглості GS89 (рис. 3.12 *А, Б, В*). Як показано на рис. 3.12 *А* вищу концентрацію Zn в зерні встановлено для усіх сортів на ділянці Дмитрів. Ймовірно,

це пов'язано з вищим рівнем доступних форм Zn в ґрунті. Серед м'яких сортів пшениці максимальну концентрацію Zn виявлено у сорту Провінціалка, мінімальну у сорту Дубравка. Серед твердих сортів найвищою концентрацією Zn в зерні на ділянці Дмитрів виділявся сорт Тера (19,9 мкг/г). На ділянці Д. Лужок концентрація Zn в зерні менша на в середньому 20 %, а вміст доступних форм даного елемента в ґрунті менший на 24 %. Найвищий вміст Zn встановлено у сортів Харківська 30 (м'яка), Ізольда (тверда) та Голіковська (полба). Для сорту Дубравка виявлена найменша концентрація Zn в зерні на обох дослідних ділянках.

Встановлено вищий вміст Fe в зерні для більшості сортів на дерново-буроземних суглинистих ґрунтах ділянки Д. Лужок (рис. 3.12 **Б**), у 2017 р. ця ділянка характеризувалась високим вмістом біодоступних форм Fe. Найвищі концентрації Fe в зерні виявлено у сортів: Етюд, Дубравка, Божена, Харківська 30, найнижчі у сортів Струна миронівська та Жізель. Припускаємо, що низький вміст Fe в зерні на ділянці Дмитрів спричинений дефіцитом біодоступного Fe в ґрунті та високим вмістом ОРГ.

Щодо концентрації Cu в зерні, виявлено вищі показники на ділянці Д. Лужок, в середньому на 30 % (рис. 3.12 **В**). Сорти *T. turgidum*, на даній ділянці, накопичували більше Cu на 15 %, ніж м'які сорти пшениці. Проте, на ділянці Дмитрів така тенденція не спостерігалась. Найвища концентрація Cu в зерні встановлена у сорту Діана (3,94 мкг/г) на ділянці Д. Лужок, а на ділянці Дмитрів цей сорт показав вдвічі менший вміст Cu в зерні. Схожа тенденція спостерігалась і у сортів Династія, Ізольда та Жізель. Можемо припустити, що рівень Cu в зерні вищезгаданих твердих сортів пшениці є особливо залежним від концентрації доступних його форм у ґрунті. Серед м'якої пшениці найвищий вміст Cu в зерні на ділянці Д. Лужок встановлено у сортів МПП Злата та Оксамит миронівський, на ділянці Дмитрів у сортів Дубравка, Сімкода миронівська та Героїня. Низька біодоступність Cu на ділянці Дмитрів може бути зумовлена високим вмістом органічної речовини у ґрунті, яка, як відомо, знижує біодоступність мікроелементів.





\* – достовірність різниці між дослідними ділянками; \*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$

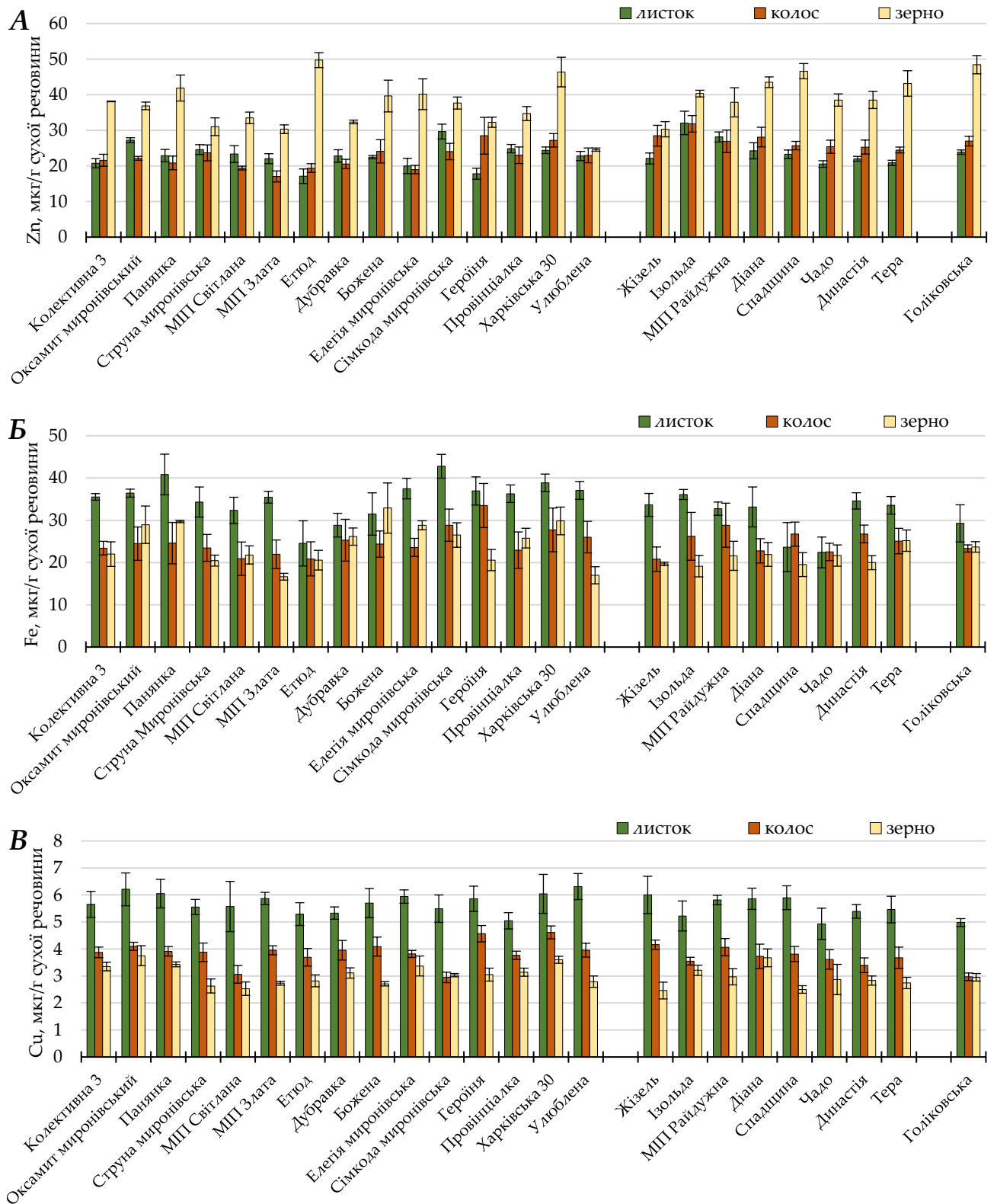
**Рис. 3.12.** Концентрація Zn (А), Fe (Б) та Cu (В) (мкг/г сухої речовини) в зерні на етапі повної стиглості GS89 дослідних сортів пшениці ярої, польовий експеримент 2017 р., дослідні ділянки Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E) та Д. Лужок (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E).

## **Концентрація мікроелементів в прапорцевих листках, колосі та зерні (2018 р.).**

Важливо врахувати, що концентрація мінеральних елементів у зерні пшениці залежить від поглинання мікроелементів із ґрунту, транспортування їх до прапорцевого листка та подальше завантаження в зерно [152; 180; 261]. Тому, у 2018 році визначено концентрацію Fe, Cu та Zn не лише в зерні, але і в інших органах рослин, на найважливіших етапах онтогенезу, оскільки важливим було дослідити поглинання та транспорт мікроелементів рослиною і їх завантаження в зерно. Встановлено концентрацію досліджуваних мікроелементів в зерні на етапі повної стиглості GS89, в прапорцевих листках на етапі виходу в трубку GS49 та в колосі на етапі цвітіння GS65 (рис. 3.13 *A, B, B* та рис. 3.14 *A, B, B*).

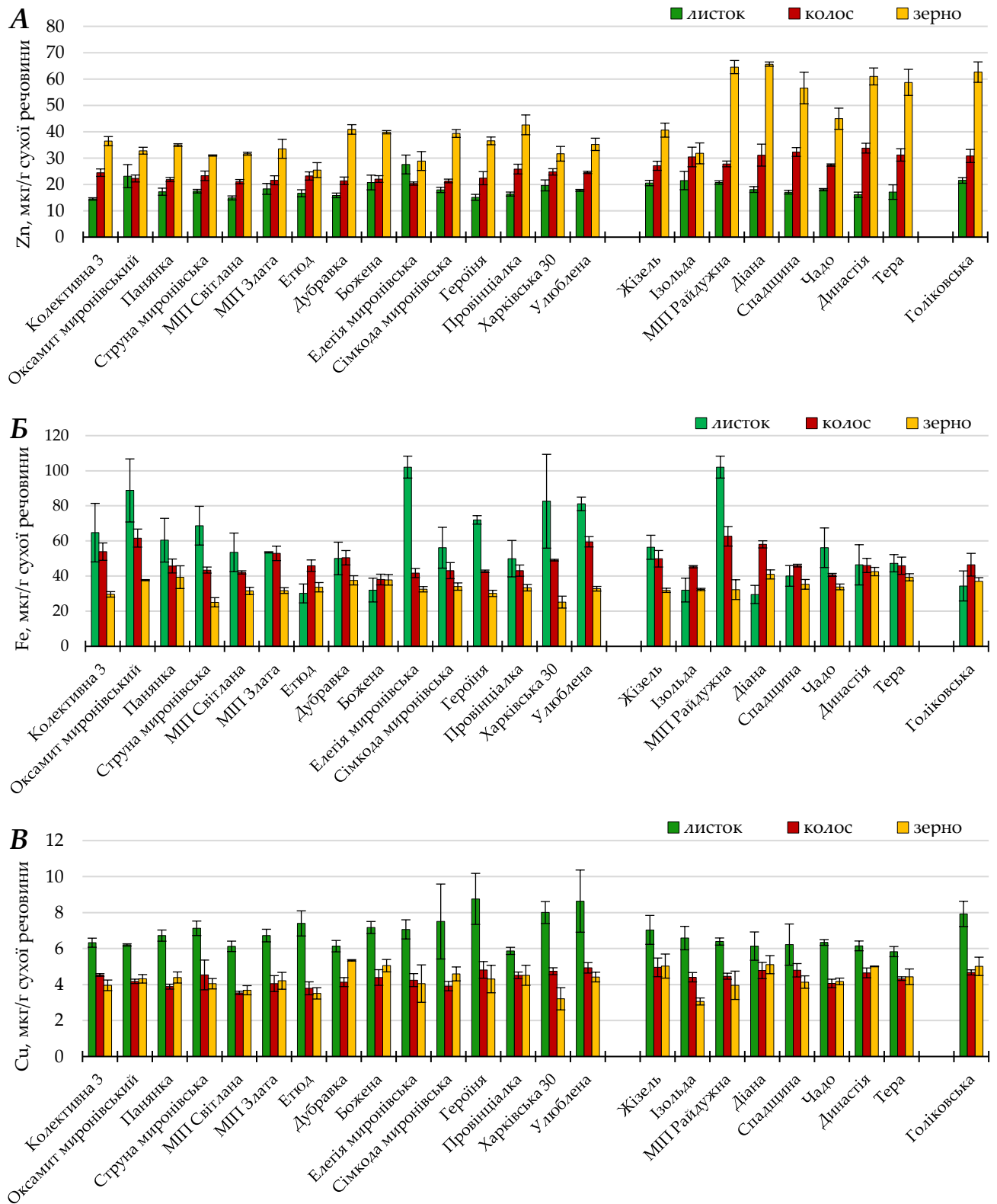
Концентрацію мінеральних елементів у прапорцевих листках розглядають як джерело для завантаження мінералів в зерно [314; 315]. Повідомляється, що вміст Zn і Fe у зерні пшениці, головним чином залежить від прапорцевого листка і, меншою мірою, від нижніх листків [420]. Нами виявлені вищі концентрації Zn, для більшості сортів, в прапорцевих листках на ділянці Дмитрів (рис. 3.13 *A*), в колосах та зерні на ділянці Д. Лужок (рис. 3.14 *A*). В середньому, тверді сорти накопичували більше Zn ніж м'які сорти пшениці в усіх досліджених органах на обох ділянках. М'які сорти накопичували Zn в розподілі зерно>листок>колос або ж зерно>колос>листок. Серед твердих сортів розподіл Zn був таким – зерно>колос>листок. Тверді сорти накопичували найбільше Zn в зерні на ділянці Д. Лужок, що було майже вдвічі більше ніж концентрація Zn у м'яких сортів. Проте, на ділянці Дмитрів така відмінність між м'якими та твердими сортами не виявлена. На ділянці Дмитрів сорт Етюд накопичував найменше Zn в листку (17,10 мкг/г) однак найбільше серед м'яких сортів акумулював в зерні (49,73 мкг/г). У сорту Харківська 30 виявлено значні концентрації Zn в усіх дослідних органах: прапорцевий листок (24,41 мкг/г), колос (27,12 мкг/г), зерно (46,38 мкг/г). Сорт Сімкода миронівська накопичував найбільше Zn в прапорцевому листку (29,64 мкг/г), проте, концентрація Zn в зерні була на середньому рівні (37,67 мкг/г).

## Дослідна ділянка Дмитрів



**Рис. 3.13.** Концентрація Zn (А), Fe (Б) та Cu (В) (мкг/г сухої речовини) в зерні (GS89), прапорцевих листках (GS49) та колосках (GS65) дослідних сортів пшениці ярої, польовий експеримент 2018 р., дослідна ділянка Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E).

## Дослідна ділянка Д. Лужок



**Рис. 3.14.** Концентрація Zn (А), Fe (Б) та Cu (В) (мкг/г сухої речовини) в зерні (GS89), прапорцевих листках (GS49) та колосі (GS65) дослідних сортів пшениці ярої, польовий експеримент 2018 р., дослідна ділянка Д. Лужок (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E).

На ділянці Д. Лужок (рис. 3.14 А) сорт Дубравка (м'яка) вирізнявся низькою концентрацією Zn в прапорцевому листку та колосі, проте високою в зерні – 40,87 мкг/г. Сорт Провінціалка характеризувався найвищими концентраціями Zn в колосі (25,82 мкг/г) та зерні (42,61 мкг/г) серед м'яких сортів. Серед твердих у сорту Ізольда встановлено найвищі концентрації Zn в прапорцевих листках (21,47 мкг/г), проте найнижчі з зерні (31,78 мкг/г). Сорт МПП Райдужна акумулював значну кількість Zn в листках (20,71 мкг/г) та зерні (64,54 мкг/г). В колосі максимальна концентрація Zn встановлено у сорту Династія (33,77 мкг/г). Згідно з отриманими даними, особливість Zn – акумулюватись найбільше в зерні не залежно від сорту пшениці. Сорт полба Голіковська вирізнявся високою здатністю до накопичення Zn в органах за різної його біодоступності.

Серед досліджених нами елементів, рослини пшениці найбільше акумулювали Fe. В середньому, на ділянці Дмитрів концентрація Fe в прапорцевих листках становила – 33,68 мкг/г, в колосі – 24,79 мкг/г, в зерні – 23,33 мкг/г (рис. 3.13 Б), на ділянці Д. Лужок в прапорцевих листках – 57,94 мкг/г, в колосі – 48,12 мкг/г, в зерні – 34,09 мкг/г (рис. 3.14 Б). На ділянці Д. Лужок концентрація Fe в органах пшениці була в середньому на 30 % вищою. Розподіл Fe в дослідних органах пшениці був таким: листок>колос>зерно або листок>зерно>колос. Для більшості сортів встановлено найвищі концентрації Fe в листках. Не виявлено різниці в розподілі між м'якими та твердими сортами пшениці. Серед м'яких сортів на ділянці Дмитрів найвищі концентрації Fe в прапорцевому листку встановлено у сортів Панянка (40,83 мкг/г), Сімкода миронівська (42,78 мкг/г) та Харківська 30 (38,86 мкг/г). Крім того, сорт Харківська 30 вирізнявся високою концентрацією Fe в колосі (27,73 мкг/г) та зерні (29,85 мкг/г). Також, високу концентрацію Fe в зерні було встановлено у сортів Панянка (29,73 мкг/г) та Божена (32,91 мкг/г). Твердий сорт Ізольда накопичував значний вміст Fe в прапорцевих листках (36,11 мкг/г) та колосі (26,21 мкг/г), проте малі концентрації в зерні (19,15 мкг/г). Серед твердої пшениці сорт Тера виділявся максимальною концентрацією Fe в зерні – 25,18 мкг/г. На ділянці Д. Лужок м'який сорт Оксамит миронівський виділявся високою здатністю

до накопичення Fe в прапорцевих листках (88,78 мкг/г), колосі (61,65 мкг/г) та зерні (37,68 мкг/г). Сорт Панянка вирізнявся найвищою концентрацією Fe в зерні серед м'яких сортів – 39,41 мкг/г, при цьому концентрації в прапорцевих листках та колосі була на рівні середньої. Найнижчі концентрації Fe в прапорцевих листках (32,06 мкг/г) та колосах (38,05 мкг/г) продемонстрував сорт Божена, однак концентрація в зерні (37,89 мкг/г) була на рівні вище середнього. Серед твердої пшениці сорт МІП Райдужна виділявся найвищими концентраціями Fe в прапорцевих листках (102,08 мкг/г) та колосі (62,67 мкг/г) та найнижчою в зерні (32,30 мкг/г). Найвища концентрація Fe серед твердих сортів встановлена для сорту Династія – 42,57 мкг/г, концентрація в прапорцевих листках (46,43 мкг/г) та колосі (46,07 мкг/г) вище середньої. Сорт полба Голіковська вирізнявся концентрацією Fe на рівні вище середньої в зерні на обох ділянках. Найвищу концентрацію Fe у сорту Голіковська виявлено в колосі (46,49 мкг/г) на ділянці Д. Лужок.

Середня концентрація Si на ділянці Дмитрів в прапорцевих листках становила – 5,64 мкг/г, в колосі – 3,79 мкг/г, в зерні – 3,01 мкг/г (рис. 3.13 **B**), на ділянці Д. Лужок в прапорцевих листках – 6,84 мкг/г, в колосі – 4,39 мкг/г, в зерні – 4,31 мкг/г (рис. 3.14 **B**). Як показано на рис. 3.14 **B** концентрація Si в органах пшениці була вищою на ділянці Д. Лужок. Розподіл Si в органах пшениці був однаковим для більшості сортів на обох ділянках – листок>колос>зерно. На ділянці Дмитрів концентрація Si в прапорцевих листках була в середньому на 47 % вищою ніж в зерні. Сорт м'якої пшениці Оксамит миронівський характеризувався високою концентрацією Si в усіх органах: прапорцевий листок – 6,21 мкг/г, колос – 4,09 мкг/г, зерно – 3,75 мкг/г. Схожу тенденцію встановлено для сортів Панянка: листок – 6,05 мкг/г, колос – 3,01 мкг/г, зерно – 3,43 мкг/г, та Харківська 30: прапорцевий листок – 6,04 мкг/г, колос – 4,61 мкг/г, зерно – 3,61 мкг/г. Твердий сорт Жізель виділявся високою здатністю до накопичення Si в прапорцевих листках (6,01 мкг/г) та колосі (4,16 мкг/г), проте, концентрація в зерні була нижче середньої (2,46 мкг/г). Найвища концентрацію Si в зерні серед твердих сортів встановлена у сорту Діана – 3,67 мкг/г, також цей сорт виділявся високою концентрацією Si в

прапорцевому листку – 5,86 мкг/г та колосі – 3,73 мкг/г. Сорт полба Голіковська показав низьку здатність до акумулювання Cu на даному типі ґрунту, концентрація Cu у всіх органах була нижче середньої. На ділянці Д. Лужок, серед м'якої пшениці найвища концентрація Cu в зерні встановлена у сорту Дубравка – 5,35 мкг/г, при цьому цей сорт найменше акумулював Cu в прапорцевих листках – 6,12 мкг/г, та нижче середнього в колосі – 4,14 мкг/г. Сорт Харківська 30 характеризувався концентрацією Cu вище середньої в прапорцевих листках (8,01 мкг/г) та колосі (4,74 мкг/г), проте, у цього сорту виявлена мінімальна концентрація Cu в зерні серед м'яких сортів (3,21 мкг/г). Сорт Героїня, для якого встановлено найвищий рівень Cu в прапорцевих листках – 8,76 мкг/г, показав концентрацію нижче середньої в зерні – 4,29 мкг/г. Серед твердих сортів найвищою здатністю до накопичення Cu органах виділявся сорт Жізель. Для цього сорту встановлено найвищі серед твердих сортів концентрації Cu в прапорцевому листку – 7,04 мкг/г, колосі – 4,95 мкг/г та зерні – 5,03 мкг/г. Також, високу концентрацію Cu в зерні встановлено у сортів Діана (5,11 мкг/г) та Династія (5,01 мкг/г). Дані сорти не виділялись високою здатністю до акумулювання Cu в інших органах. На даному типі ґрунту сорт Голіковська показав вищу концентрацію Cu в порівнянні з ділянкою Дмитрів. Сорт Голіковська продемонстрував високу здатність до акумулювання Cu в прапорцевих листках (7,93 мкг/г) та зерні (5,01 мкг/г).

Вміст деяких елементів регламентується законодавчо згідно ДСТУ 3768-2010, ГДК в зерні пшениці для Zn – 50 мг/кг, Cu – 10 мг/кг. У 2018 р. на ділянці Д. Лужок встановлено перевищення допустимих норм ГДК Zn в зерні для твердих сортів: МП Райдужна на 29 %, Діана на 31 %, Спадщина на 13 %, Династія на 22 %, Тера на 17% та Голіковська на 25 %.

Згідно з отриманими даними високий вміст Fe, Zn чи Cu в прапорцевому листку чи колосі не є умовою їх високої концентрації в зерні. Оскільки, саме зерно пшениці є продуктом харчування, важливо виділити сорти з високою здатністю до акумулювання мікроелементів в зерні за умов різної біодоступності мікроелементів. Особливо цінними є сорти, які здатні акумулювати одночасно

високі концентрації Fe, Zn та Cu. Твердий сорт Тера виділявся найвищою здатністю до акумулювання одночасно Fe, Zn та Cu в зерні на обох типах ґрунтів. Сорти Панянка, Харківська 30, Оксамит миронівський, Елегія миронівська, Сімкода миронівська, Спадщина, Провінціалка вирізнялись високою здатністю акумулювати Fe, Zn та Cu в зерні на чорноземах карбонатних порід ділянки Дмитрів, яка характеризувалась низькою біодоступністю цих елементів. На дерново-буроземних суглининкових ґрунтах ділянки Д. Лужок, високою здатністю до накопичення Fe, Zn та Cu в зерні виділялись сорти Дубравка, Божена, Династія, Ізольда, Харківська 30, Діана та Голіковська. Сорт Струна миронівська вирізнявся низькою здатністю одночасно акумулювати в зерні Fe, Zn та Cu за різних умов мінерального живлення.

Показано, що концентрація мінеральних елементів у зерні пшениці залежить від поглинання мікроелементів із ґрунту, транспортування їх до прапорцевого листка та подальше завантаження в зерно [152; 180; 261], проте, як видно з наших експериментів важливу роль відіграють сортові особливості. У такому транспорті беруть участь різні транспортери металів, включаючи регульовані Цинком транспортери (*ZRT*)/регульовані Ферумом транспортери (*IRT*), такі як родини білків ZIP, які беруть участь у транслокації двовалентних металів:  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  і  $Mn^{2+}$ , посилювачі дифузії катіонів (*CDF*), які забезпечують толерантність клітин до іонів двовалентних металів, АТФ-ази Р-типу, які беруть участь у завантаженні в ксилему Zn та інших металів [95; 131], Cu транспортери (*COPTs*) [199; 451] та білки-транспортери YSL (*Yellow Stripe-Like*) [105]. Транспорт металів YSL-білками активується  $H^+$  -симпортом. Транспортери YSL беруть участь в поглинанні металів з ґрунту у однодольних і розподілі металів на великі відстані як у однодольних, так і у дводольних рослин [100]. Білки родини ZIP були виявлені в рису, пшениці, кукурудзи та *Arabidopsis thaliana* [138; 441]. Надекспресія цих білків призвела до накопичення надлишкової кількості Zn у дикої пшениці [126]. Дослідження молекулярних механізмів поглинання, транспорту та накопичення



Fe/Zn від коренів до зерна може сприяти створенню нових та покращенню існуючих сортів пшениці збагаченням Fe/Zn.

Як відомо, пшениця належить до рослин, які використовують стратегію II з точки зору живлення Fe, і долають дефіцит Fe шляхом виділення фітосидеофорів (PS) коренями [221; 364]. На першому етапі корені виділяють PS в ризосферу для розчинення іонів Fe<sup>3+</sup>, на другому – специфічні білкові транспортери переносять Fe<sup>3+</sup> -PS комплекс. У пшениці всі органічні або мінеральні речовини транспортуються від прапорцевого листка до зерна через флоему, оскільки судинні пучки ксилеми не пов'язані із зерном [104]. Однак, рухливість Fe, що поглинається корінням, по флоемі є слабкою, а його транспортування від листя до зерна обмежене [391]. Повідомляється, що різні сполуки N (такі як амінокислоти, нікотинамід, пептиди) є ефективними для завантаження Fe у флоему, його транспортування на великі відстані та акумулювання в зерні пшениці [469]. Якщо рослина отримує достатню кількість N, то близько 60 % Fe може бути транспортовано до зерна, проте, якщо кількість N у рослинах низька, тоді максимум 38 % Fe буде транспортовано в зерно [227]. Вважається, що низький вміст білка в зерні є однією з причин низького вмісту Zn і Fe в зерні. Окрім того, повідомляється про значні позитивні кореляції між Zn та Fe в зерні та вмістом білка в зерні [74]. Ймовірно, гени, які впливають на накопичення Zn, Fe та білка в зерні, тісно пов'язані, як показано у *T. dicoccoides* [75].

Важливим було дослідити концентрацію мікроелементів в колосі на стадії цвітіння GS65, оскільки цвітіння вважається найбільш вразливим періодом, пов'язаним із виробництвом пшениці, вплив цієї фази розвитку на врожайність складає, за різними даними, від 20 % до 25 % [352]. Цвітіння регулюється генами, які реагують на сезонні ознаки, зокрема на тривалість дня та температуру та координують виробництво зерна [154].

Концентрація мікроелементів у тканинах пшениці залежить від багатьох факторів, у тому числі концентрації мінеральних елементів та їх біодоступності в ґрунті. Мінеральні поживні речовини, включаючи макро- та мікроелементи,

відіграють важливу роль у стійкості рослин до посухи. Роль мінеральних елементів у стійкості рослин до абіотичного стресу поки що мало вивчена. Зниження вологості ґрунту під час посухового стресу погіршує мінеральне живлення рослин. Закриття продихів, викликане посухою, також обмежує транспорт мінеральних поживних речовин від кореня до пагона, зменшуючи швидкість транспірації та змінює функції мембранних транспортерів. Мікроелементи, такі як Fe, Cu, Zn та Mn є основними кофакторами антиоксидантних ферментів [25; 49]. Повідомляється про зменшення вмісту Se, Fe, P, Zn та Mg у зерні за водного дефіциту [272]. В наших дослідженнях дефіцит вологи у 2017 році припав на кінцеві етапи онтогенезу, а в 2018 р. на початкові, тому припускаємо, що достатня кількість опадів впродовж червня-серпня 2018 р. сприяла поглинанню мікроелементів рослиною, їх транспортуванню та завантаженню в зерно.

На сьогодні є велика кількість опублікованих експериментальних даних щодо концентрації мікроелементів (Cu, Fe, Mn, та Zn) у зерні сортів *T. aestivum* [56; 103; 106; 165]. Середній вміст Fe у зерні пшениці становить 45,1–48,2 мг/кг [215]. Останніми роками, навіть у розвинутих країнах спостерігають приховане голодування зумовлене нестачею мікроелементів, в т.ч. Fe в продуктах харчування. Різні дослідження показують широкі діапазони концентрацій Fe та Zn у зерні серед генотипів пшениці. Діапазони концентрації Zn 32–57 мг/кг та Fe 39–58 мг/кг серед генотипів ярої пшениці згідно з R. Chatrath та ін. [82]. В наших дослідженнях концентрації Cu, Fe та Zn в зернах сортів *T. aestivum* були невисокими, але в межах діапазонів про які повідомляється в літературі [82; 215]. Згідно з опублікованими даними, такі пшениці як *T. monosocum*, *T. dicoccon* і *T. dicoccoides*, накопичують більше Fe та Zn у зерні ніж гексаплоїдні види [74; 73; 75]. E. Suchowilska та ін. [379] повідомляють про концентрації Fe, Zn і Cu на рівні 49, 54 і 4,1 мг/кг відповідно. Подібним чином, повідомляється про середні концентрації Fe, Zn і Cu в лініях пшениці полби 41,72 мг/кг, 17,06 мг/кг, і 2,85 мг/кг відповідно [393]. Дані отримані в результаті наших досліджень, щодо концентрації мікроелементів у пшениці полба узгоджуються з даними наведеними в літературі. Згідно з літературними

даними [464] середні концентрації Fe та Zn в зерні пшениці полба були такими: Fe – 34,1 мг/кг та Zn – 22,8 мг/кг.

Повідомляється про середню концентрацію Zn у прапорцевих листках пшениці від 12 до 18 мг/кг [188]. За даними E. Rafique та ін. [305], критична середня концентрація Zn в прапорцевих листках пшениці коливається від 12 до 16 мг/кг, нижче цього врожайність зерна обмежена низькою доступністю Zn. В наших дослідженнях концентрацію Zn в прапорцевих листках була вищою ніж 14 мг/кг.

Для визначення взаємозалежності між концентрацією мікроелементів органах рослин та концентрацією їх доступних форм в ґрунті проведено кореляційний аналіз між концентраціями Zn, Fe та Cu в прапорцевих листках, колосі, зерні та ґрунтах (табл. 3.3).

Виявлено сильні позитивні залежності на обох дослідних ділянках між концентрацією Fe та Cu в зерні (Дмитрів  $r = 0,486$ , Д. Лужок  $r = 0,631$ ) (табл. 3.3). Найвищу позитивну кореляцію встановлено на ділянці Д. Лужок між концентрацією Zn в колосі та зерні ( $r = 0,776^{**}$ ). На ділянці Дмитрів цей зв'язок був позитивним, проте менш сильним ( $r = 0,180^{**}$ ). Найвища позитивна кореляція на ділянці Дмитрів отримана між концентрацією Cu в прапорцевому листку та колосі ( $r = 0,579$ ). На ділянці Дмитрів концентрація Fe в листку позитивно корелювала з усіма показниками окрім концентрації Zn в колосі та зерні.

Показано значні позитивні кореляції між вмістом Fe, Zn і Mn у зерні *T. dicocum* [379]. Встановлено позитивні кореляції між вмістом Fe, Zn та Cu в зерні пшениці. Також, повідомляється що концентрація мінералів у прапорцевих листках злаків позитивно корелює з їх накопиченням у зерні [314; 315]. Згідно з нашими даними, такі позитивні кореляції спостерігались не завжди. Показано, що вміст Cu в зерні пшениці позитивно корелює з вмістом Zn [241], таку залежність отримано і в наших дослідженнях. Встановлено позитивні залежності між концентрацією Fe, Cu та Zn в органах пшениці та їх доступними формами в ґрунті. Кореляція між концентраціями різних мікроелементів 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 [83].

Таблиця 3.3

Кореляційний аналіз між концентраціями Zn, Fe, Cu в органах пшениці (прапорцевий листок, колос, зерно) та їх доступними формами в ґрунтах на дослідних ділянках Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E) та Д. Лужок (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E), вегетаційний сезон 2018 р..

Дмитрів	Zn листок	Zn колос	Zn зерно	Fe листок	Fe колос	Fe зерно	Cu листок	Cu колос	Cu зерно	Fe ґрунт	Zn ґрунт
Zn колос	0,385										
Zn зерно	-0,038**	0,180**									
Fe листок	0,358**	-0,011**	-0,314*								
Fe колос	0,202	0,440	-0,037**	0,346**							
Fe зерно	0,085	-0,151	0,331**	0,279**	0,064						
Cu листок	-0,027**	-0,109**	-0,270**	0,440**	0,207**	0,078**					
Cu колос	-0,254**	0,110**	-0,206**	0,137**	0,303**	0,135**	0,579				
Cu зерно	0,237**	0,055**	0,266**	0,438**	0,178**	0,486**	0,212	0,242			
Fe ґрунт	0,096	-0,009	0,115**	0,149**	-0,128	0,022	0,250**	0,129**	0,203**		
Zn ґрунт	0,331**	0,003**	0,029**	0,159**	0,232**	0,024**	0,270**	0,197*	0,326	0,291**	
Cu ґрунт	-0,237**	0,004*	-0,120**	0,333**	0,127**	-0,004**	0,379**	0,407	0,133	0,233**	0,229*

Д. Лужок	Zn листок	Zn колос	Zn зерно	Fe листок	Fe колос	Fe зерно	Cu листок	Cu колос	Cu зерно	Fe ґрунт	Zn ґрунт
Zn колос	-0,059										
Zn зерно	-0,072**	0,776**									
Fe листок	0,367**	-0,400**	-0,240**								
Fe колос	0,092**	0,118**	0,232	0,375							
Fe зерно	0,006**	0,384	0,559	-0,430**	0,068**						
Cu листок	0,118**	-0,290**	-0,322**	0,219*	-0,071**	-0,413**					
Cu колос	0,085*	0,521**	0,394**	0,077**	0,271**	-0,098**	0,312				
Cu зерно	-0,067**	0,127**	0,499**	-0,253**	0,049**	0,631**	-0,102	0,242			
Fe ґрунт	0,215	0,162	0,272**	0,164**	0,171**	-0,007	0,013**	0,254**	0,187**		
Zn ґрунт	-0,128**	0,025**	0,189**	0,059*	0,507**	0,279**	-0,082	-0,043	0,195	0,273**	
Cu ґрунт	0,266**	-0,104**	-0,204**	-0,222**	0,028**	0,238**	-0,125	-0,288	-0,061	-0,245**	0,077**

\*\* p<0.01, \* p<0.05

Згідно з нашими даними, встановлено, що за росту пшениці на дерново-буроземних суглинистих ґрунтах ділянки Д. Лужок, які характеризувались нижчим

pH, вмістом ОРГ та вищими концентраціями доступних форм Cu та Fe у ґрунті, рослини пшениці акумулюють в зерні вищі концентрації цих елементів.

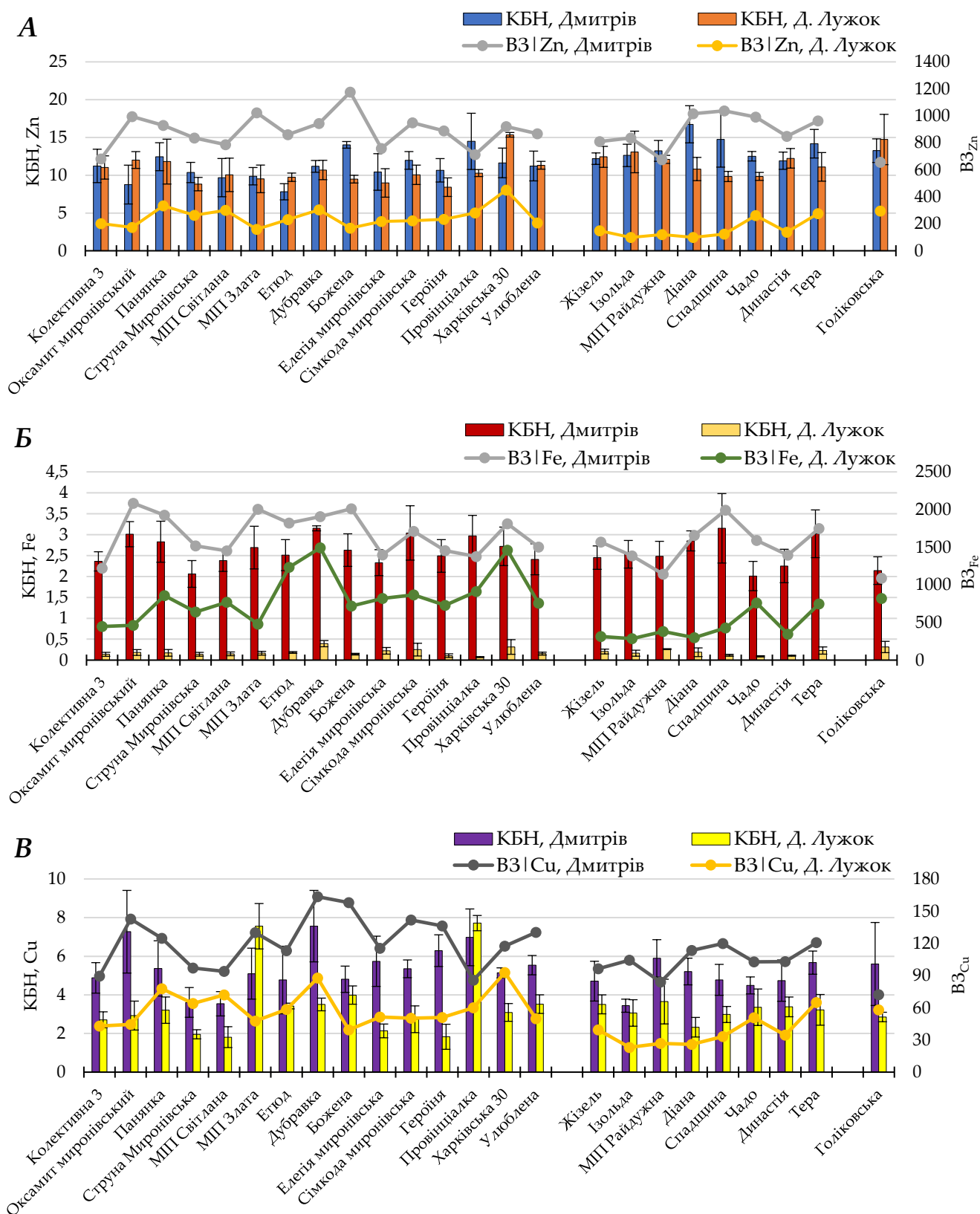
### **Коефіцієнт біологічного накопичення та оцінка врожайності з урахуванням вмісту мікроелементів.**

Наступним етапом нашої роботи був відбір сортів для подальших досліджень. Нашою метою було обрати 4 контрастні сорти за показниками врожайності, концентрації мікроелементів, коефіцієнтом біологічного накопичення (КБН) та оцінкою врожайності з урахуванням Fe, Zn та Cu ( $B_{Zn}$ ,  $B_{Fe}$ ,  $B_{Cu}$ ).

Коефіцієнт біологічного накопичення дає змогу зробити кількісну оцінку надходження мінеральних елементів з ґрунту в рослину, та визначається співвідношенням вмісту елемента в органах рослин до його вмісту в ґрунті. Враховуючи вміст доступних форм мікроелементів в ґрунті та їх концентрації в зерні, ми розраховали КБН Zn, Fe та Cu пшениці ярої, яку вирощували в польових умовах впродовж 2017 року на дослідних ділянках з різною біодоступністю цих елементів (рис. 3.15 *A, B, B*).

Також, в ході експерименту враховували концентрацію мікроелементів в зерні при оцінці врожайності, для забезпечення кількісної оцінки мінеральних елементів в зерні ( $B_{Zn}$ ,  $B_{Fe}$ ,  $B_{Cu}$ ) (рис. 3.15 *A, B, B*). Цей показник дозволяє порівняти сорти пшениці щодо індивідуальної концентрації мінеральних елементів з зерні, на додаток до маси 1000 зерен та кількості зерен на колос. Даний показник розраховували окремо для кожного сорту, враховуючи концентрацію Fe, Cu та Zn в зерні та врожайність.

КБН дає можливість порівняти сортову здатність до поглинання та транспортування мікроелементів до зерна. Як видно з рис. 3.15 *A, B, B* КБН для всіх елементів був вищим на ділянці Дмитрів, яка виділялась дефіцитом доступних форм Fe та Cu в ґрунті. Також, дана ділянка характеризувалась вищим показником врожайності враховуючи концентрації мікроелемента (Zn, Fe, Cu).



**Рис. 3.15.** Коефіцієнт біологічного накопичення (КБН: Zn (А), Fe (Б), Cu (В)) та врожайність з урахуванням мікроелемента (ВЗ<sub>Zn</sub>(А), ВЗ<sub>Fe</sub>(Б), ВЗ<sub>Cu</sub>(В)), ділянки Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E) та Д. Лужок (49°27'17.5"N 23°23'02.6"E), вегетаційний сезон 2017 р..

Найвищі показники КБН Zn (рис. 3.15 *А*) на ділянці Дмитрів серед м'яких сортів пшениці встановлено для сортів Провінціалка, Божена, Панянка, серед твердих для сортів Діана та Спадщина. На ділянці Д. Лужок найвищими показниками КБН Zn характеризувались сорти Харківська 30, Оксамит миронівський, Панянка, серед твердих сорти Ізольда, Жізель, МПП Райдужна. Сорт полба Голіковська продемонстрував одні з найвищих показників КБН Zn на ділянці Д. Лужок. Максимальні значення  $VZ_{Zn}$  на ділянці Дмитрів встановлено для м'якого сорту Божена. Також високими показниками  $VZ_{Zn}$  вирізнялись м'які сорти МПП Злата, Оксамит миронівський, та тверді сорти Діана, Спадщина, Чадо. На ділянці Д. Лужок найвищі значення  $VZ_{Zn}$  встановлено у сортів Харківська 30 (м'яка), Панянка (м'яка), Дубравка (м'яка), Спадщина (тверда) та Тера (тверда).

Максимальні значення КБН Fe (рис. 3.15 *Б*) на ділянці Дмитрів серед м'якої пшениці встановлено для сортів Дубравка, Оксамит миронівський та Сімкода миронівська, серед твердої для сортів Тера та Діана. На ділянці Д. Лужок найвищі значення КБН Fe виявлено для м'яких сортів Дубравка, Харківська 30, Сімкода миронівська. Серед твердої пшениці найвищі значення отримано для сортів МПП Райдужна та Тера. Для сорту Голіковська отримано високі значення КБН Fe на ділянці Д. Лужок. Для м'яких сортів Оксамит миронівський, МПП Злата та Божена встановлено максимальні значення  $VZ_{Fe}$  на ділянці Дмитрів. Найвищі значення  $VZ_{Fe}$  на ділянці Дмитрів отримано для м'яких сортів Дубравка та Харківська 30.

Серед м'якої пшениці високий КБН Cu (рис. 3.15 *В*) на ділянці Дмитрів виявлено для сортів Оксамит миронівський, Дубравка та Провінціалка, серед твердої для сортів Тера та МПП Райдужна. Також, сорти Оксамит миронівський та Дубравка характеризувались одними з найвищих значень  $VZ_{Cu}$  на ділянці Дмитрів. Для м'яких сортів Злата та Провінціалка отримано максимальні КБН Cu на ділянці Д. Лужок. Високі значення  $VZ_{Cu}$  на ділянці Д. Лужок отримано для м'яких сортів Харківська 30, Дубравка та Панянка.

Показники  $GY_{Zn}$ ,  $GY_{Fe}$ ,  $GY_{Cu}$  для всіх м'яких сортів на ділянці Д. Лужок були вищими ніж для твердих сортів. Сорти Дубравка та Оксамит миронівський

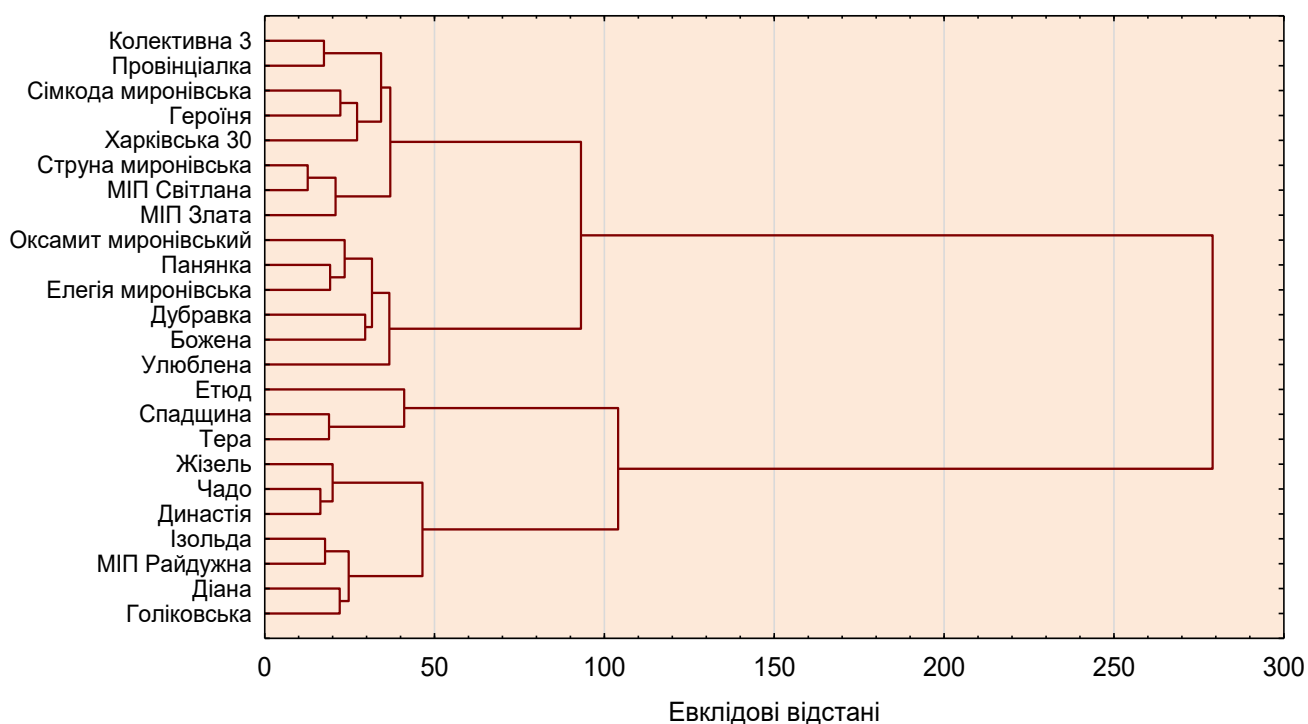
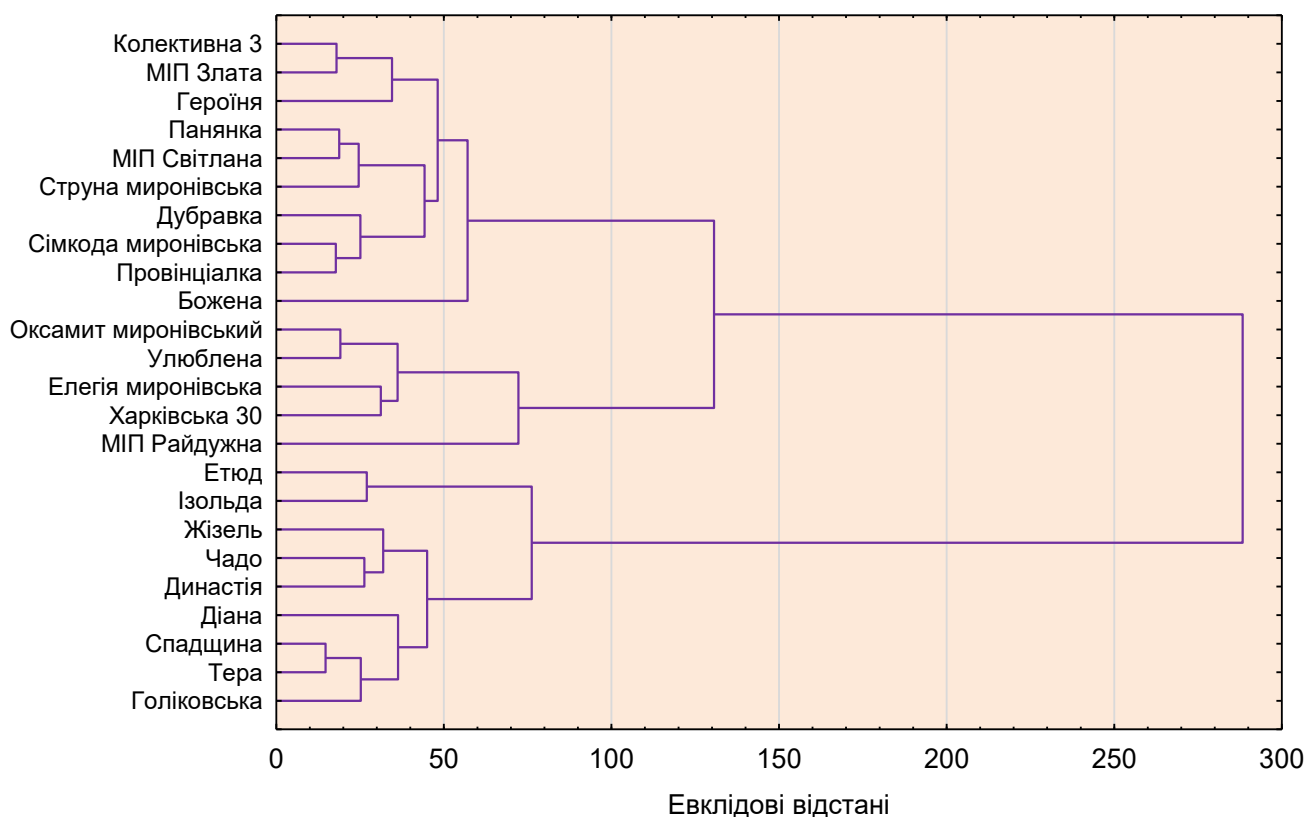
вирізнялись максимальними значеннями КБН Fe та Cu і високими показниками  $VZ_{Fe}$ ,  $VZ_{Cu}$  на ділянці Дмитрів.

### **Кластерний аналіз дослідних сортів пшениці.**

Для відбору сортів та групування їх за показниками, які включали врожайність, структуру врожаю, концентрацію Fe, Cu, Zn в органах пшениці упродовж 2017-2018 рр. здійснено кластерний аналіз для обох дослідних ділянок. Кластерний аналіз, як багатовимірна статистична процедура, виконує збір даних, які містять інформацію про дослідні сорти, дозволяє упорядкувати сорти пшениці в порівняно однорідні групи – кластери. Кластерний аналіз проводили з метою визначення схожих сортів у вибірці за досліджуваними ознаками. Обчислення здійснювали методом Варда (Ward, 1963), оскільки даний метод використовує методи дисперсійного аналізу для оцінки відстаней між кластерами, та є ефективним, тому що створює кластери малого розміру. Кластерний аналіз, за даними дослідних ознак 24 сортів пшениці ярої, дозволяє зробити висновок про пластичність та адаптивну здатність сортів за різних умов мінерального живлення.

Для подальших досліджень ми прагнули обрати сорти, які належать до різних кластерів. Як видно з рис. 3.16 *А, Б* на ділянках Дмитрів та Д. Лужок утворені кластери відрізняються. На нульовій відстані кожен сорт вважається окремим кластером. На першому кроці, об'єднались в кластери сорти з найменшою між ними відстанню, що свідчить про найбільшу схожість між дослідними ознаками даних сортів. На ділянці Дмитрів на евклідовій відстані до 50 утворено чотири кластери. Перший кластер сформували м'які сорти Колективна 3, Провінціалка, Сімкода миронівська, Героїня, Харківська 3, Струна миронівська, МПП Світлана та МПП Злата.



**А****Б**

**Рис. 3.16.** Кластерний аналіз 24 сортів пшениці ярої за врожайністю, елементами її структури та концентрацією мікроелементів в прапорцевому листку, колосі та зерні, 2017-2018 рр.. **А** – дослідна ділянка Дмитрів ( $50^{\circ}13'26.6''N$   $24^{\circ}36'50.5''E$ ), **Б** – дослідна ділянка Д. Лужок ( $49^{\circ}27'17.5''N$   $23^{\circ}23'02.6''E$ ).

Другий кластер також був утворений з м'якої пшениці сортів Оксамит миронівський, Панянка, Елегія миронівська, Дубравка, Божена та Улюблена. Третій кластер був найменший, та включав у себе лише три сорти, серед них два твердих сорти Тера та Спадщина, та один м'який сорт Етюд, про те, цей сорт був максимально близько розташований до кластеру з м'якими сортами. Четвертий кластер сформували лише тверді сорти пшениці Жізель, Чадо, Династія, Ізольда, МПП Райдужна, Діана та Голіковська.

На ділянці Д. Лужок (рис. 3.16 **Б**) евклідові відстані між сортами є більшими ніж на ділянці Дмитрів, що свідчить про меншу схожість між дослідними ознаками. На ділянці Д. Лужок на евклідовій відстані до 80 було сформовано чотири кластери. До першого кластеру, який є найбільшим, належать м'які сорти Колективна 3, МПП Злата, Героїня, Панянка, МПП Світлана, Струна миронівська, Дубравка, Сімкода миронівська, Провінціалка та Божена. Другий кластер утворили м'які сорти Оксамит миронівський, Улюблена, Елегія миронівська, Харківська 30 та твердий сорт МПП Райдужна. Третій кластер утворений лише двома сортами, м'яким – Етюд та твердим – Ізольда. Четвертий кластер сформували тверді сорти Жізель, Чадо, Династія, Діана, Спадщина, Тера та Голіковська.

Найбільшу генетичну дивергенцію між дослідними ознаками продемонстрували сорти Улюблена та Етюд на ділянці Дмитрів, та сорти Божена та МПП Райдужна на ділянці Д. Лужок. Окрім того, встановлено, що тверді та м'які сорти пшениці ярої формували окремі кластери на обох дослідних ділянках.

#### **Кількісні та якісні характеристики врожайності зерна для обраних сортів.**

Наступний етап нашої роботи був зосереджений на більш детальному дослідженні обраних сортів пшениці на дослідній ділянці Дмитрів, тому що саме ці ґрунти характеризуються як лужні, з високим вмістом органічної речовини та низькою біодоступністю мікроелементів, саме такі типи ґрунтів займають близько 30 % світової ріллі. Враховуючи попередні результати дослідження врожайності, здатності до акумулювання мікроелементів, кореляційного та кластерного аналізу ми відібрали 4 контрастні сорти пшениці, а саме 3 м'які сорти Миронівського

інституту пшениці: Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та сорт полба Голіковська Харківського Інституту рослинництва. М'які сорти були обрані тому, що саме *T. aestivum* L. є найпоширенішою пшеницею у світовому споживанні, а сорт полба *T. turgidum* subsp. *dicoccum* належить до одних з найдавніших півчастих пшениць і характеризується високим вмістом білків, вітамінів та мікроелементів

Для обраних сортів провели кореляційний аналіз показників врожайності та якості зерна. Кореляційний аналіз проводили між вмістом білка зерні, площею прапорцевого листка (ПЛ), масою 1000 зерен (МТЗ), кількістю зерен в колосі (КЗК), висотою колоса (ВК), врожайністю зерна (ВЗ), концентрацією Fe, Zn, Cu в зерні та їх доступними формами в ґрунті, вмістом ОРГ та рН ґрунту (табл. 3.4).

Для сорту Оксамит миронівський (табл. 3.4) встановлено найвищі позитивні зв'язки між ПЛ та КЗК ( $r = 0,926^*$ ), ПЛ та ВК ( $r = 0,927^{**}$ ), КЗК та ВК ( $r = 0,998^{**}$ ), концентрацією Fe в зерні та ґрунті ( $r = 0,962^{**}$ ), ВЗ та рН ґрунту ( $r = 0,930^{**}$ ). Для сорту Струна миронівська встановлено сильну позитивну залежність між білком та МТЗ ( $r = 0,824^{**}$ ), концентрацією Zn та Fe в зерні ( $r = 0,949^{**}$ ). Показник КЗК позитивно корелював з більшістю дослідних ознак. Для сорту полба Голіковська встановлено найбільше позитивних залежностей між білком та дослідними ознаками, порівняно з іншими сортами. Зокрема, встановлено майже лінійну залежність між білком та МТЗ ( $r = 0,967^{**}$ ), КЗК ( $r = 0,904^{**}$ ), ВК ( $r = 0,978^{**}$ ) та концентрацією Zn в зерні ( $r = 0,976^{**}$ ). У сорту Дубравка показники ПЛ, КЗК, та ВК позитивно корелювали з більшістю дослідних ознак. Найбільше позитивних залежностей отримано між ВЗ та дослідними ознаками. Негативні зв'язки знайдено лише між ВЗ та концентрацією Zn та Cu в зерні. Для сорту Дубравка встановлено найменше від'ємних кореляцій між дослідними ознаками, в порівнянні з іншими сортами. Для всіх сортів встановлено значні позитивні залежності між КЗК та ВК. Для м'яких сортів відмічено позитивні кореляції між ПЛ та КЗК.

Таблиця 3.4

Кореляційний аналіз між вмістом білка в зерні, площею прапорцевих листків (ПЛ), масою 1000 зерен (МТЗ), кількістю зерен на колос (КЗК), висота колоса (ВК), врожайністю (ВЗ), концентрацією Zn, Cu, Fe в зерні, вмістом доступних форм Zn, Cu, Fe в ґрунті, вмістом органічної речовини ґрунту (ОРГ) та рН ґрунту для сортів Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та Голіковська, вегетаційний сезон 2017 року, дослідна ділянка Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E).

Оксамит миронівський	Білок	ПЛ	МТЗ	КЗК	ВК	ВЗ	Zn зерно	Fe зерно	Cu зерно
ПЛ	-0,353**								
МТЗ	0,333**	-0,751**							
КЗК	-0,650**	0,926*	-0,821						
ВК	-0,617**	0,927**	-0,858**	0,998**					
ВЗ	-0,213**	-0,530**	-0,113**	-0,231**	-0,204**				
Zn зерно	-0,855*	0,720	-0,416**	0,849**	0,812**	-0,298**			
Fe зерно	-0,282**	0,541*	0,134	0,407	0,355**	-0,857**	0,671**		
Cu зерно	0,707	-0,837**	0,447**	-0,877**	-0,843**	0,494**	-0,970*	-0,768**	
Zn ґрунт	0,645	-0,076**	0,595**	-0,414**	-0,434**	-0,789**	-0,284*	0,518**	0,111
Fe ґрунт	-0,177*	0,294	0,398**	0,153**	0,095**	-0,820**	0,511	0,962**	-0,591
Cu ґрунт	0,002	-0,195**	0,783**	-0,306**	-0,366**	-0,582**	0,161**	0,718**	-0,186
ОРГ	0,822**	-0,680**	0,811**	-0,904**	-0,905**	-0,190	-0,788**	-0,104**	0,716**
рН	-0,451	-0,552*	0,058**	-0,201**	-0,199**	0,930**	-0,076	-0,622**	0,311

Струна миронівська	Білок	ПЛ	МТЗ	КЗК	ВК	ВЗ	Zn зерно	Fe зерно	Cu зерно
ПЛ	-0,115*								
МТЗ	0,824**	-0,221**							
КЗК	-0,722**	0,612**	-0,420						
ВК	-0,738**	0,487**	-0,362**	0,987**					
ВЗ	0,761**	-0,297**	0,315*	-0,933**	-0,978**				
Zn зерно	-0,537**	0,652	-0,188**	0,968**	0,960**	-0,901**			
Fe зерно	-0,753**	0,630**	-0,488	0,997	0,975**	-0,913**	0,949*		
Cu зерно	-0,833	-0,388**	-0,769**	0,227**	0,276**	-0,370**	0,001**	0,265**	
Zn ґрунт	-0,242	0,970**	-0,210**	0,770**	0,673**	-0,509**	0,815**	0,775**	-0,313**
Fe ґрунт	-0,250	0,967	-0,209**	0,778**	0,683**	-0,521**	0,824	0,783**	-0,307
Cu ґрунт	-0,463	0,933**	-0,516**	0,789**	0,679*	-0,515**	0,752**	0,818**	-0,036
ОРГ	0,530**	0,518**	0,703**	0,199**	0,177**	-0,097**	0,430**	0,144**	-0,887**
рН	-0,043	-0,929	-0,101**	-0,619**	-0,532**	0,373**	-0,738*	-0,605**	0,582

Дубравка	Білок	ПЛ	МТЗ	КЗК	ВК	ВЗ	Zn зерно	Fe зерно	Cu зерно
ПЛ	0,506**								
МТЗ	-0,290**	0,645**							
КЗК	0,595**	0,908**	0,57						
ВК	0,728**	0,780**	0,359**	0,960**					
ВЗ	0,410**	0,854**	0,709**	0,973**	0,912**				
Zn зерно	-0,414*	-0,563	-0,038**	-0,219**	-0,096**	-0,054**			
Fe зерно	0,355**	0,703	0,645	0,914	0,898**	0,970**	0,182*		
Cu зерно	-0,099	-0,908**	-0,892**	-0,770**	-0,560**	-0,800**	0,427*	-0,658**	
Zn ґрунт	0,615	0,813**	0,498**	0,982**	0,987**	0,965**	-0,061*	0,950**	-0,654
Fe ґрунт	0,367	0,760	0,679**	0,939**	0,905**	0,987**	0,103	0,996**	-0,716
Cu ґрунт	-0,134	-0,062**	0,312**	0,310**	0,394**	0,466**	0,858*	0,662**	-0,021
ОРГ	0,901**	0,770**	0,010**	0,700**	0,713	0,519*	-0,715**	0,372**	-0,445**
pH	-0,719	0,212*	0,874**	0,118**	-0,109**	0,307**	0,181	0,288**	-0,598

Голіковська	Білок	ПЛ	МТЗ	КЗК	ВК	ВЗ	Zn зерно	Fe зерно	Cu зерно
ПЛ	-0,022*								
МТЗ	0,967**	-0,170**							
КЗК	0,904**	-0,431**	0,911						
ВК	0,978**	0,006**	0,899**	0,897**					
ВЗ	-0,958**	0,113**	-0,884	-0,936	-0,991**				
Zn зерно	0,976**	-0,119	0,998**	0,902**	0,915**	-0,895**			
Fe зерно	-0,280**	0,798**	-0,276	-0,642	-0,363**	0,488	-0,249**		
Cu зерно	0,767	0,296	0,579**	0,630**	0,874**	-0,858**	0,614**	-0,270**	
Zn ґрунт	-0,814	0,184	-0,696**	-0,869**	-0,906**	0,946**	-0,707**	0,661**	-0,884
Fe ґрунт	-0,727**	0,425	-0,878**	-0,760**	-0,586**	0,584**	-0,854	0,228**	-0,120**
Cu ґрунт	-0,591	-0,373*	-0,661**	-0,293**	-0,443**	0,339**	-0,673*	-0,524**	-0,178
ОРГ	-0,138**	0,726**	-0,101**	-0,502**	-0,255	0,382*	-0,079**	0,979**	-0,258**
pH	-0,906	0,058	-0,795**	-0,884**	-0,972**	0,986**	-0,811**	0,511**	-0,919

\*\* p<0.01, \* p<0.05

Згідно з літературними даними кількість зерен на колос має істотний вплив на масу 1000 зерен [297], в нашому дослідженні така тенденція встановлена для сортів Голіковська та Дубравка. Отримані кореляційні залежності є різними для окремих генотипів, що свідчить про сортові особливості кожного досліджуваного нами сорту. Повідомляється, що у пшениці (*Triticum aestivum*) врожайність та вміст білка в зерні негативно корелюють [83; 450]. В наших експериментах така тенденція встановлена для сортів Голіковська ( $r = -0,958^{**}$ ) та Оксамит миронівський ( $r = -0,213^{**}$ ) (табл. 3.4). Позитивні кореляції між ВЗ та білком отримано для сортів Дубравка ( $r = 0,410^{**}$ ) та Струна миронівська ( $r = 0,761^{**}$ ). Повідомляється про

значні позитивні кореляції між Zn та Fe в зерні з білком зерна [74] в ході нашого експерименту такі позитивні зв'язки встановлено у сортів Голіковська та Дубравка.

Врожайність та харчова цінність зерна залежать від взаємодії багатьох генетичних факторів та факторів навколишнього середовища [270]. Досліджено зв'язки між концентрацією мікроелементів (Zn, Fe, Cu) у зерні та деякими показниками структури врожаю для обраних сортів. Зокрема, це кількість зерен на колосі (КЗК), висота колоса (ВК), маса 1000 зерен (МТЗ) та врожайність (ВЗ) вегетаційного сезону 2017-18 рр. (табл. 3.5, рис. 3.17 *А, Б*).

Таблиця 3.5

Врожайність та структура врожаю ярої пшениці, етап повної стиглості (GS89), дослідна ділянка Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E), сезон врожаю 2017 та 2018 рр.

Рік дослід.	Сорт пшениці	Кількість зерен на колос, шт	Висота колоса, мм	Маса 1000 зерен, г	Врожайність, ц/га
		КЗК	ВК	МТЗ	ВЗ
2017	Оксамит миронівський	32.52 <sup>AB</sup> ± 1.21	88.81 <sup>ABC</sup> ± 3.41	40.01 <sup>AB</sup> ± 1.85	63.26 <sup>a</sup> ± 3.84
	Струна миронівська	35.77 <sup>A</sup> ± 1.04	85.84 <sup>AB</sup> ± 3.55	37.83 <sup>AB</sup> ± 0.92	59.14 <sup>a</sup> ± 3.21
	Дубравка	35.62 <sup>A</sup> ± 1.93	78.93 <sup>AC</sup> ± 2.53	37.46 <sup>AB</sup> ± 1.05	60.66 <sup>a</sup> ± 2.12
	Голіковська	29.57 <sup>B</sup> ± 0.94	58.02 <sup>D</sup> ± 1.34	33.29 <sup>B</sup> ± 1.18	34.64 <sup>b</sup> ± 3.54
2018	Оксамит миронівський	41,48 <sup>AB</sup> ± 2,18	101,55 <sup>A</sup> ± 4,71	46,93 <sup>ABC</sup> ± 3,09	84,78 <sup>B</sup> ± 0,51
	Струна миронівська	34,55 <sup>ACD</sup> ± 4,28	83,68 <sup>ABC</sup> ± 5,94	48,79 <sup>AB</sup> ± 0,05	59,15 <sup>db</sup> ± 11,68
	Дубравка	42,17 <sup>A</sup> ± 1,33	84,17 <sup>BC</sup> ± 2,19	49,70 <sup>aB</sup> ± 1,88	81,176 <sup>BC</sup> ± 4,53
	Голіковська	38,98 <sup>ABC</sup> ± 3,83	61,05 <sup>d</sup> ± 2,35	40,92 <sup>CD</sup> ± 1,26	90,28 <sup>ABc</sup> ± 14,43

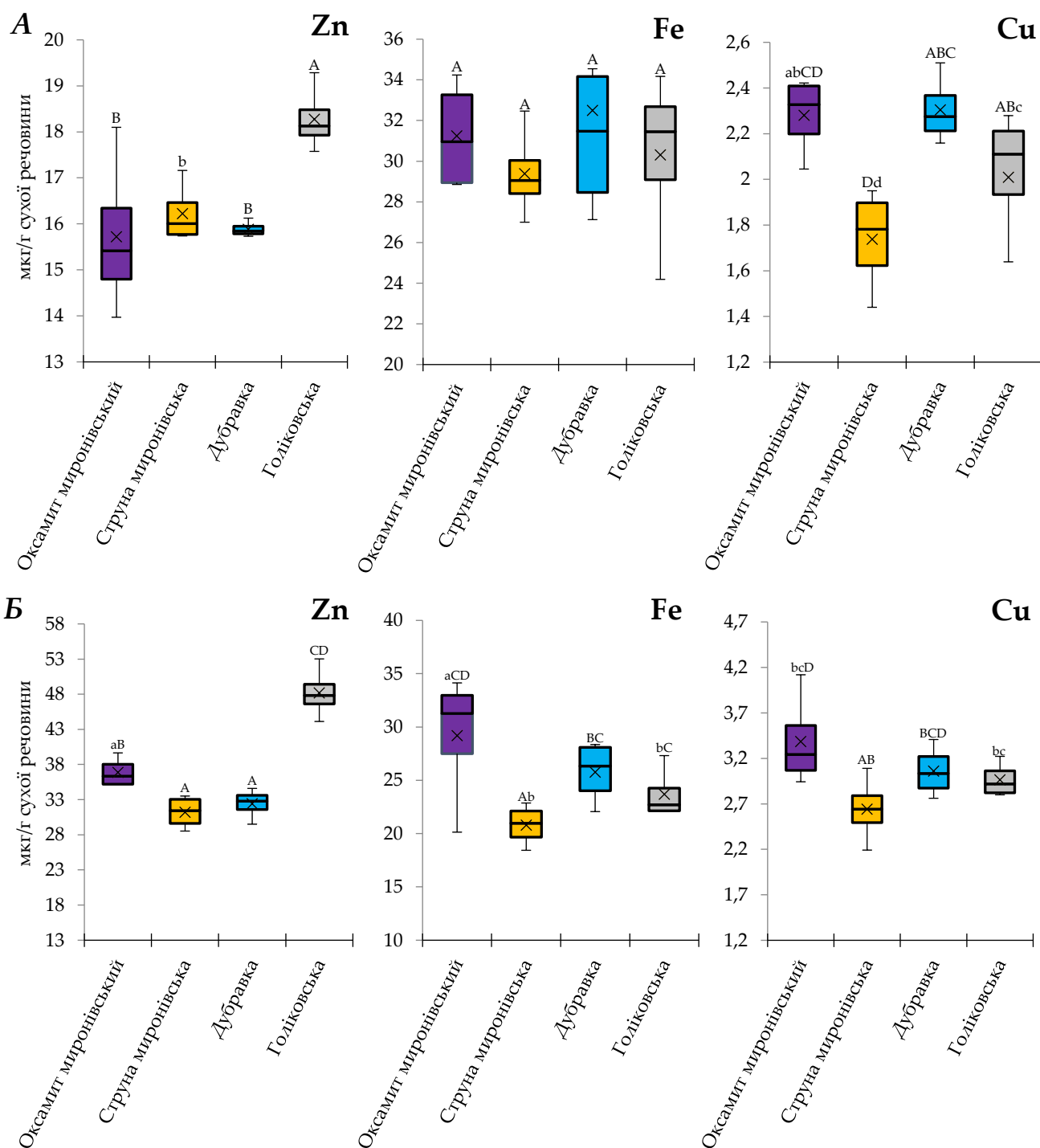
\* Рівні, не з'єднані однією буквою значно відрізняються, великі літери  $p < 0.05$ ; малі літери  $p < 0.01$ ; стандартні відхилення та середні значення були розраховані з використанням чотирьох повторів

У нашому дослідженні показники КЗК, МТЗ і ВЗ несуттєво відрізняються між трьома генотипами *T. aestivum*: Оксамит миронівський, Струна миронівська та Дубравка (табл. 3.5), проте, відрізнялись між роками дослідження. Сорт полба Голіковська характеризується значно нижчими показниками структури врожаю у 2017 році (на 27–34 % ВК, на 9–18 % КЗК) у порівнянні з м'якими сортами пшениці. У 2017 році найвища ВЗ встановлена у сорту Оксамит миронівський (63,26 ц/га), з

МТЗ 40,01 г, нижча врожайність була у сорту Дубравка (60,66 ц/га) та найнижча серед м'яких сортів у сорту Струна миронівська (59,14 ц/га). Найнижчу врожайність серед сортів у 2017 році зафіксовано у сорту Голіковська (34,64 ц/га) [253].

У 2018 році для сортів Оксамит миронівський, Дубравка та Голіковська було встановлено вищі показники структури врожаю та врожайності порівняно з 2017 роком. Сорт Струна миронівська характеризувався нижчими показниками КЗК та ВК та вищим МТЗ порівняно з 2018 роком, проте ці відмінності були незначними. Врожайність даного сорту перебувала практично на одному рівні впродовж двох років. Найвища врожайність встановлена для сорту Голіковська 90,28 ц/га, і є втричі вищою ніж попереднього року.

Відомо, що концентрація мікроелементів у тканинах рослин, і зокрема в зерні залежить від багатьох факторів, у тому числі від концентрації мінеральних елементів та їх біодоступності в ґрунті, рН ґрунту, умови навколишнього середовища, методів обробки ґрунту та здатності рослини до транспортування та акумулювання цих елементів. Концентрації Zn, Fe і Cu в зернах досліджуваних генотипів пшениці представлено на рис. 3.17 *А, Б*. Встановлено суттєві відмінності у концентраціях мікроелементів, окрім Fe, між досліджуваними сортами пшениці врожаю 2017 р. Сорт полба Голіковська виділявся найвищою концентрацією Zn в зерні (18,28 мкг/г) та середнім вмістом Fe і Cu – 30,32 мкг/г і 2,01 мкг/г відповідно. Генотип з найвищим середнім значенням біоконцентрації Fe в зерні – сорт Дубравка – 32,49 мкг/г, за ним сорт Оксамит миронівський – 31,25 мкг/г та Голіковська – 30,32 мкг/г, а найменшу концентрацію виявлено у сорту Струна миронівська – 29,39 мкг/г. Максимальна концентрація Cu встановлена для сортів Оксамит миронівський – 2,40 мкг/г та Дубравка – 2,31 мкг/г, мінімальні значення показав сорт Струна миронівська – 1,74 мкг/г [253].



\* Рівні, не з'єднані однією буквою значно відрізняються, великі літери  $p < 0.05$ ; малі літери  $p < 0.01$ ; стандартні відхилення та середні значення були розраховані з використанням чотирьох повторів

**Рис. 3.17.** Концентрації Zn, Fe та Cu в зерні (мкг/г сухої речовини), етап повної стиглості (GS89), польовий експеримент, дослідна ділянка Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E), вегетаційний сезон 2017 (А) та 2018 (Б) рр..

У зерні врожаю 2018 року виявлено вищі концентрації Zn та Cu та менші Fe (рис. 3.17 Б). Вищий рівень Cu ймовірно пов'язаний з вищим рівнем його



біодоступності в ґрунті. Тенденція накопичення Cu по сортах така ж як і у 2017 р. Найвищі концентрації у сорту Оксамит миронівський (3,39 мкг/г) > Дубравка (3,06 мкг/г) > Голіковська (2,96 мкг/г) > Струна миронівська (2,64 мкг/г). Найвища концентрація Zn, як і в попередньому році, виявлена у сорту Голіковська – 48,20 мкг/г, найменша у сорту Струна миронівська – 32,23 мкг/г. Концентрація Fe в зерні в середньому становила від 20 до 30 мкг/г. Найвища концентрація виявлена у сорту Оксамит миронівський, найменша у сорту Струна миронівська. У зерен врожаю 2018 року встановлено найменші концентрації всіх дослідних мікроелементів у сорту Струна миронівська.

Враховуючи біодоступність елементів в ґрунтах, сорти Оксамит миронівський та Дубравка можна виділити як сорти з високою здатністю до акумулювання в зерні Cu та Fe, а полбу Голіковська як сорт який може нагромаджувати значні концентрації Zn. Ми припускаємо, що суттєві відмінності між концентраціями Zn і Cu в зерні досліджуваних сортів, спричинені низькою біодоступністю цих елементів в ґрунті та ефективністю їх засвоєння досліджуваними сортами.

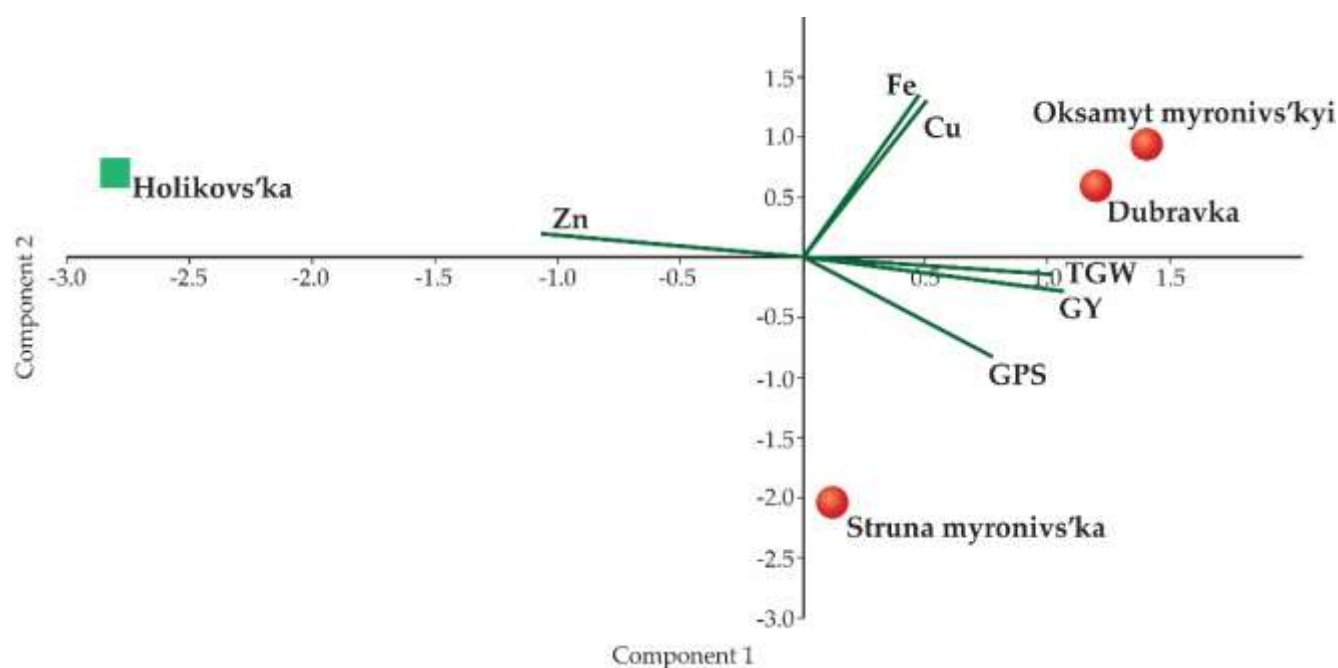
Для досліджуваних сортів пшениці за результатами досліджень 2017 року побудовано biplot PCA, який включає аналіз показників МТЗ, КЗК, ВЗ та концентрації Zn, Fe та Cu. Важливими є перші два компоненти, які пояснюють максимальні кумулятивні дисперсії 0,94828 % (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Векторні навантаження та варіації у відсотках, які пояснюються трьома принципами компоненти (PC).

	PC1	PC2	PC3
КЗК	0.72112	-0.55793	0.41075
МТЗ	0.93699	-0.092344	-0.33693
ВЗ	0.97985	-0.19252	-0.053142
Fe	0.44635	0.89224	0.06846
Cu	0.46273	0.87517	0.14126
Zn	-0.99163	0.12679	0.024547
<b>Навантаження:</b>			
Власні значення	3.75474	1.93496	0.310304
% variance	0.62579	0.32249	0.051717

Серед усіх PCs перший PC (0,62579 %) має найбільшу вагу у загальній дисперсії. Основними компонентами, які сприяли створенню першого PC були Zn, ВЗ, МТЗ і КЗК. Основними компонентами, які другого PC були Fe і Cu. КЗК і Cu були основними компонентами третього PC. Biplot пояснює зв'язок чотирьох генотипів пшениці з компонентом (рис. 3.18). У всіх сортів ВЗ позитивно пов'язана з КЗК, МТЗ, Cu і Fe та негативно з Zn. Fe і Cu були згруповані разом та МТЗ, ВЗ, КЗК були згруповані разом. Сорти Дубравка та Оксамит миронівський згруповані разом, тоді як сорт Голіковська розташовувався віддалено. Biplot PCA показує що сорт полба Голіковська має позитивний зв'язок із Zn. Це означає що врожайність Голіковської була меншою, але цей сорт може накопичувати високі рівні Zn. Сорти Дубравка та Оксамит миронівський мали високі концентрації Cu та Fe, на відміну від сорту Струна миронівська [253].



**Рис. 3.18.** Аналіз основних компонентів (PCA) для Fe, Cu, Zn, врожайності (GY), кількості зерен на колос (GPS) та маси 1000 зерен (TGW) ярої пшениці (середнє за 2017 р..).

### **Концентрація мікроелементів в зародках пшениці.**

Зародок пшениці становить близько 2,5-3,8 % від загальної маси зернівки [63]. Пшеничні зародки є унікальним висококонцентрованим джерелом поживних речовини таких як білки, ліпіди, цукри та мінерали, вітамін E (токоферол), вітаміни

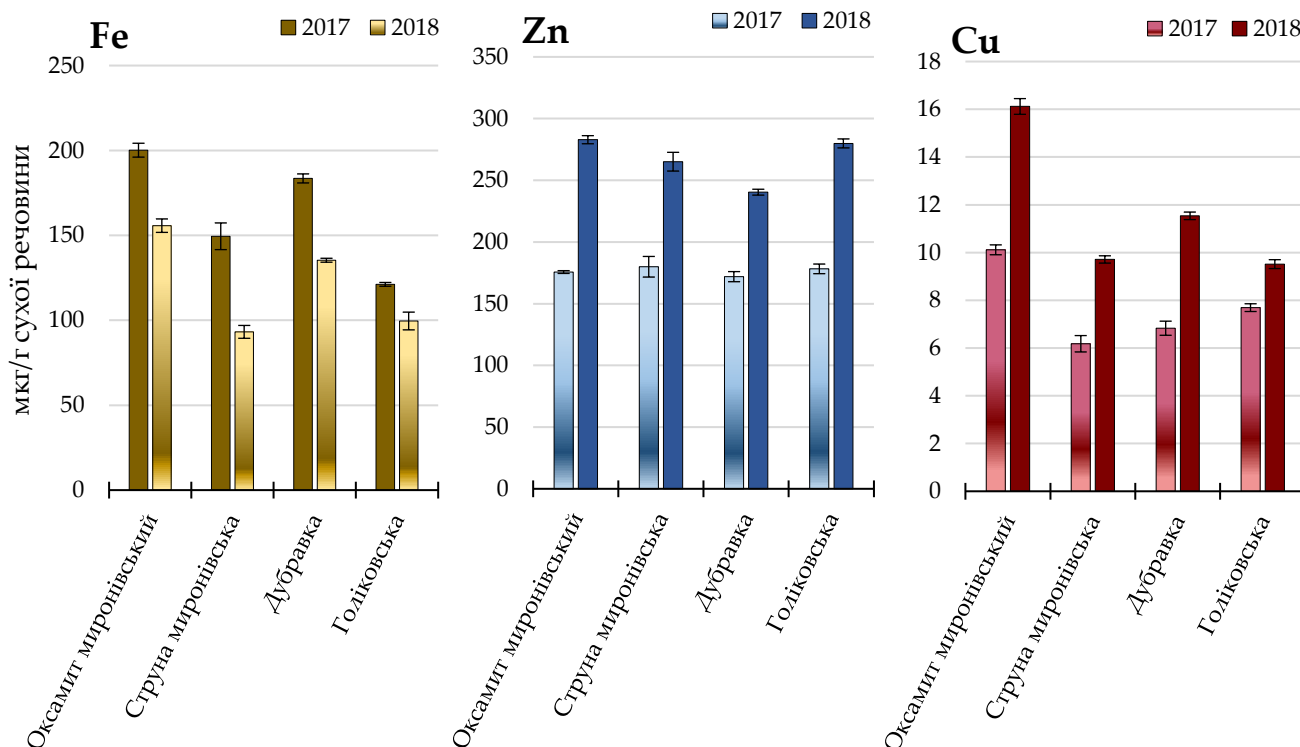
групи В (тіамін, рибофлавін), каротиноїди, флавоноїди, фітостероли та полікозаноли. Зародок містить близько 10-15 % ліпідів, 26-35 % білків, 17 % цукрів, 1,5-4,5 % целюлози та 4 % мінералів [63; 132; 405].

Найважливішу роль при проростанні зерна відіграє зародок, тоді як ендосперм вважається запасальною тканиною, яка постачає поживні речовини на початкових етапах росту рослин [444]. Склад ендосперму, в тому числі і концентрація мікроелементів, може змінюватись в умовах стресу, що в свою чергу буде впливати на розвиток зародка та вміст у ньому мінеральних елементів, білків, вуглеводів. Дані визначення концентрації Fe, Cu та Zn в зародках (GS89) чотирьох сортів пшениці, контрастних за здатністю до накопичення мікроелементів, впродовж 2 вегетаційних сезонів на чорноземах карбонатних порід ділянки Дмитрів, яка характеризувалась лужним рН, високим вмістом ОРГ та низькою біодоступністю Fe, Zn та Cu, наведено на рис. 3.19.

Для визначення концентрації мікроелементів було ізольовано приблизно 1500 зародків кожного сорту. Зародки містили вищі, порівняно з іншими досліджуваними органами, концентрації досліджуваних елементів. Вищі концентрації Fe за роками досліджень виявлено у 2017 р., а Zn та Cu – у 2018 р. (рис. 3.19). Ймовірно, концентрація елементів в зародках пов'язана з концентрацією доступних форм Zn, Fe, Cu в ґрунті (див. табл. 3.1, стор. 74).

У зерна врожаю 2017 р. (рис. 3.19) середні значення, концентрації мікроелементів були такими: Fe 30,53 мкг/г, Zn 16,53 мкг/г, Cu 2,09 мкг/г, в зародках: Fe 163,57 мкг/г, Zn 176,44 мкг/г, Cu 7,71 мкг/г.

У зерна врожаю 2018 р. (рис. 3.19) середні значення концентрації мікроелементів були такими: Fe 24,87 мкг/г, Zn 37,18 мкг/г, Cu 3,01 мкг/г, в зародках: Fe 120,96 мкг/г, Zn 267,06 мкг/г, Cu 11,72 мкг/г. Згідно з отриманими даними, встановлено, що середня серед сортів концентрація Fe, Cu чи Zn в зародку залежить від концентрації в зерні, чим вища концентрація певного елемента в зерні, тим вона вища і в зародку.



**Рис. 3.19.** Концентрація Fe, Zn та Cu (мкг/г сухої речовини) в зародках пшениці ярої на етапі повної стиглості (GS89), в польових умовах на дослідній ділянці Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E), сезон врожаю 2017-2018 рр..

Сорт Оксамит миронівський виділявся найвищими концентраціями Fe, Zn та Cu в зародках упродовж двох років дослідження. Найнижчі концентрації Fe у 2017 році були виявлені у сорту Струна миронівська, у 2018 році у сорту Голіковська. Сорт Дубравка виділявся найнижчими концентраціями Zn в зародках упродовж двох років. Найнижчі концентрації Cu у 2017 році було встановлено у сорту Струна миронівська, у 2018 році у сорту Голіковська.

За даними літератури ендосперм і алейроновий шар разом містять близько 70 % від загальної кількості Fe в зерні, тоді як 7–8 % міститься в зародку. Більша частина Zn міститься в алейроновому шарі та зародку, тоді як ендосперм має значно нижчі концентрації Zn. Концентрація Zn в зародку становить близько 150 мг/кг і приблизно 15 мг/кг в ендоспермі [282; 29]. Біологічне значення цих відмінностей у локалізації двох мінералів в зерні на сьогодні невідоме. Отримані нами дані свідчать проте, що найбільше в зародку накопичується Zn. За іншими

даними, концентрація мікроелементів у зародках становила Fe – 79 мкг/г, Cu – 13 мкг/г, Zn – 158 мкг/г [434].

Оскільки, існує залежність акумулювання елементів в зерні від їх поглинання та транспортування до різних частин рослини, ми проаналізували накопичення Zn, Fe та Cu в прапорцевих листках, колосі на етапі цвітіння, зерні та зародках пшениці на етапі повної стиглості (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

Розподіл концентрації Zn, Fe, Cu в прапорцевих листках, колосі, зерні та зародках пшениці, дослідна ділянка Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E), вегетаційний сезон 2018 р.

Мікроелемент	Сорт	Накопичення Zn, Fe, Cu			
Zn	Оксамит миронівський	колос <	прапорцевий листок <	зерно <	зародок
	Струна миронівська	колос <	прапорцевий листок <	зерно <	зародок
	Дубравка	колос <	прапорцевий листок <	зерно <	зародок
	Голіковська	прапорцевий листок <	колос <	зерно <	зародок
Fe	Оксамит миронівський	колос <	зерно <	прапорцевий листок <	зародок
	Струна миронівська	колос <	зерно <	прапорцевий листок <	зародок
	Дубравка	колос <	зерно <	прапорцевий листок <	зародок
	Голіковська	колос <	зерно <	прапорцевий листок <	зародок
Cu	Оксамит миронівський	зерно <	колос <	прапорцевий листок <	зародок
	Струна миронівська	зерно <	колос <	прапорцевий листок <	зародок
	Дубравка	зерно <	колос <	прапорцевий листок <	зародок
	Голіковська	зерно <	колос <	прапорцевий листок <	зародок

\*кольорова шкала, забарвлення від світлішого до темнішого зі збільшення концентрації елемента в частинах пшениці

Як видно з табл. 3.7, для сорту Оксамит миронівський, який виділявся найвищими концентраціями Fe, Zn, та Cu в прапорцевих листках, виявлено також найвищі концентрації цих елементів в зародках. Окрім того, для цього сорту встановлено найвищі концентрації Cu в усіх досліджуваних частинах. Сорт полба Голіковська вирізнявся найвищою концентрацією Zn в колосі та зерні, проте, його концентрація в зародку була на рівні середньої. Максимальну концентрацію Zn в колосі отримано в сорту Дубравка, тоді як концентрація в зерні та зародку була на середньому рівні.

Для встановлення ефективності переміщення мікроелементу між ґрунтом та надземними частинами пшениці ми розрахували величину фактора транслокації (ФТ) для Fe, Zn та Cu, як співвідношення концентрації елементів прапорцевий листок/ґрунт, колос/прапорцевий листок, зерно/колос, зерно/прапорцевий листок, зародок/зерно (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Фактор транслокації (ФТ) Fe, Zn та Cu між органами пшениці ярої в польових умовах ділянки Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E), врожай 2018 р.

Фактор транслокації	Оксамит миронівський	Струна миронівська	Дубравка	Голіковська	
<b>Fe</b>	прапорцевий листок/ґрунт	1,763	1,624	1,584	1,577
	колос/прапорцевий листок	0,681	0,699	0,927	0,827
	зерно/колос	1,284	1,018	1,334	1,067
	зерно/прапорцевий листок	0,829	0,640	0,909	0,857
	зародок/зерно	5,609	4,603	5,248	4,121
<b>Zn</b>	прапорцевий листок/ґрунт	47,439	45,665	42,057	51,734
	колос/прапорцевий листок	0,814	0,985	0,914	1,113
	зерно/колос	1,671	1,433	1,636	1,470
	зерно/прапорцевий листок	1,354	1,195	1,353	1,612
	зародок/зерно	7,578	8,606	7,430	7,294
<b>Cu</b>	прапорцевий листок/ґрунт	11,165	10,932	11,468	10,437
	колос/прапорцевий листок	0,672	0,703	0,753	0,598
	зерно/колос	0,861	0,703	0,830	1,018
	зерно/прапорцевий листок	0,618	0,473	0,600	0,606
	зародок/зерно	4,720	3,766	3,735	3,244

Отримані результати щодо фактора транслокації (табл. 3.8) між ґрунтом та надземними органами пшениці варіювали залежно від вмісту Fe, Zn та Cu в ґрунті та органах. Найвищими були показники ФТ Zn ґрунт/прапорцевий листок для сорту Голіковська. Як згадано вище цей сорт вирізнявся високою здатністю до акумуляції Zn за різних умов мінерального живлення. Проте, сорт Струна миронівська виділявся максимальним ФТ Zn зародок/зерно. Для сорту Оксамит миронівський встановлено максимальні ФТ Fe та Cu зародок/зерно. Окрім того, для усіх сортів виявлено, вищі ФТ Fe та Cu зерно/колос, ніж зерно/прапорцевий листок, що 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 рослин. Отримані

дані можуть свідчити про подібність механізмів завантаження Fe та Cu в зерно пшениці.

### **Підсумки до підрозділу**

Вищий вміст білка в зерні пшениці отримано на дерново-буроземних суглинкових ґрунтах ділянки Д. Лужок з слабо-кислим рН, нижчим вмістом ОРГ та вищою біодоступністю мікроелементів. Виокремлено сорти з високою здатністю до накопичення білків в зерні за різних умов мінерального живлення: Етюд, Колективна 3, Династія, Ізольда та Голіковська.

Отримано вищу врожайність зерна для всіх сортів на чорноземах карбонатних порід ділянки Дмитрів. Встановлено залежність концентрації мікроелементів в зерні від їх доступних форм в ґрунті. Досліджено здатність різних сортів пшениці ярої до акумулювання та транслокації Fe, Zn та Cu від ґрунту до репродуктивних органів та завантаження в зерно за різних умов мінерального живлення. Твердий сорт Тера виділявся найвищою здатністю до акумулювання Fe, Zn та Cu в зерні на обох типах ґрунтів.

Для подальших досліджень обрано сорти Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та Голіковська, які різнилились здатністю акумулювати Fe, Zn та Cu за умов дефіциту їх доступних форм в ґрунті. Сорт Оксамит миронівський, який виділявся високими концентраціями Fe, Zn, та Cu в органах пшениці за умов різного мінерального живлення, можна розглядати як генотип з високою врожайністю та здатністю до акумулювання мікроелементів.

Представлені вище результати опубліковано у статтях [252, 253] та матеріалах конференцій [470, 471, 472, 474, 475, 477, 479, 480, 481, 482, 483].

### **3.5. Бактеріальні ендofіти пшениці ярої та їх ймовірна роль у засвоєнні Fe, Cu та Zn рослинами за низької біодоступності цих елементів у ґрунті**

Збільшення концентрації мікроелементів в зерні пшениці шляхом інокуляції ендofітами різних родів останніми роками заявлено як один із підходів до біофортифікації пшениці [207; 364; 365; 366; 429]. Ендofітні бактерії створюють різні типи взаємодій з рослинами: симбіоз, мутуалізм, коменсалізм або трофічні зв'язки [192]. У польовому експерименті позакореневе внесення ендofітних бактерій збільшило висоту рослин пшениці, площу листків, висоту колоса та біомасу рослин [445]. Враховуючи вищенаведене та отримані результати, у наступному блоці експериментів, досліджено наявність бактеріальних ендofітів у зерні та тканинах проростків, вирощених із поверхнево стерильного зерна в умовах *in vitro*. Ці результати можуть показати потенціал використання деяких бактерій як біодобрива.

Нами досліджено склад бактеріальних ендofітів в зерні та ендofітного мікробіому тканин проростків *in vitro* чотирьох сортів пшениці ярої української селекції, які різнилися здатністю до поглинання мікроелементів.

#### **3.5.1. Ідентифікація ізолюваних ендofітів**

Зерно, до складу якого входять три основні компартменти – зародок, ендосперм та оболонка є одними з найважливіших органів рослин, колонізованих ендofітною мікробіотою [354; 289]. У ході досліджень виділено та ідентифіковано бактеріальні ендofіти із зерна сортів *T. aestivum* L. та *T. turgidum* subsp. *dicoccum*, отриманого в польових умовах на ділянці Дмитрів в 2017-18 рр.. Із зерна врожаю 2017 року було отримано 34 мікробних ізоляти, а із зерна 2018 року – 19 ізолятів. Усі ізоляти було поділено на групи зі схожими морфологічними ознаками (табл. 3.9).



Таблиця 3.9

Бактеріальні ізоляти, отримані із зерна чотирьох сортів ярої пшениці в умовах польового експерименту, дослідна ділянка Дмитрів (50°13'26.6''N 24°36'50.5''E), вегетаційний сезон 2017 та 2018 рр. (абревіатура ідентичності: + так, - ні)

Джерело ізолювання	2017					2018				
	Всі отримані ізоляти	Колір ізолятів	# ізолятів при ідентифікуванні	Ідентифіковано	Фарб. за Грамом	Всі отримані ізоляти	Колір ізолятів	# ізолятів при ідентифікуванні	Ідентифіковано	Фарб. за Грамом
Оксамит миронівський зерно U.MO	11	Жовтий	U.MO1	+	+	3	Жовтий	U.MO2.1	+	+
		Жовтий		+	+		Бежевий		U.MO2.2	+
		Білий	U.MO2	+	-		Бежевий	U.MO2.3	+	+
		Білий								
		Білий								
		Бежевий	U.MO3	+	-					
		Бежевий								
		Жовто-бежевий	U.MO4	-	-					
		Жовто-бежевий								
		Жовтий	U.MO5	-	-					
Жовтий										
Струна миронівська зерно U.SM	11	Жовто-кремовий	U.SM1	+	-	-				
		Жовто-кремовий								
		Жовто-кремовий	U.SM2	+	+					
		Бежево-рожевий								
		Жовтий								
		Жовтий	U.SM3	+	+					
		Жовтий								
		Жовтий								
		Жовтий	U.SM4	-	-					
		Бежевий								
Бежевий										
Дубравка зерно U.D	8	Жовто-кремовий	U.D1	+	+	9	Жовто-бежевий	U.D2.1	+	+
		Жовто-кремовий								
		Жовто-бежевий	U.D2	+	+		Жовтий			
		Жовто-бежевий								
		Жовто-бежевий								
		Жовтий	U.D3	-	-		Жовтий			
		Жовтий								
		Бежевий	U.D4	+	-		Бежевий	U.D2.3	-	-
Бежевий										
Голіковська зерно U.H	4	Бежевий	U.H1	+	+	7	Жовтий	U.H2.1	+	+
		Жовтий		+	+		Жовто-бежевий		U.H2.2	+
		Жовто-кремовий	U.H3	+	-		Білий	U.H2.3	+	+
		Жовто-кремовий								
		Жовто-кремовий								
	U.H2.4	-	-	Бежево-рожевий						
	U.H2.5	-	-	Жовто-кремовий	U.H2.5	-	-			

Для подальшої ідентифікації обрано ізоляти з цих груп. В результаті було виділено й ідентифіковано 12 різних ізолятів із зерна врожаю 2017 року та 8 ізолятів – 2018 року. Зокрема, із зерна врожаю 2017 року сортів Оксамит миронівський та Струна миронівська, для яких властива здатність до ефективного поглинання і накопичення мікроелементів, одержано по 11 окремих ізолятів. Із зерна сорту Дубравка отримано 8 окремих ізолятів. Найменша кількість однорідних ізолятів – 4, виділено із зерен тетраплоїдної півчастої полби Голіковська. Натомість із зерна врожаю 2018 року отримано 3 ізоляти із зерна сорту Оксамит миронівський, 9 – із зерна сорту Дубравка та 7 – із зерна полби. Не вдалось виділити жодного ізолята із зерна сорту Струна миронівська. Водночас, слід враховувати, що згідно з літературними даними, лише 0,001-1 % від загальної кількості ендofітних угруповань можуть культивуватися [400].

Із кожної групи ізолятів, що представляли певну морфологічну групу, було відібрано ізоляти для детальної ідентифікації. Виділені мікроорганізми із зерна 2017 р. мали шість типів пігментації (додаток Б, рис. Б.3). Мікроорганізми виділені із зерна сорту Оксамит миронівський мали чотири типи пігментації: жовта (36,5 %), біла (27,5 %), бежева (18 %) і жовто-бежева (18 %). Ізоляти із зерен сорту Струна миронівська: жовто-кремова (27,3 %), бежева (12,5 %), бежево-рожева (27,3 %) та майже половина зразків мала жовту (45,5 %) пігментацію. Жовто-кремові (25 %), жовто-бежеві (37,5 %), жовті (25 %) і бежеві (12,5 %) колонії спостерігали для мікроорганізмів, виділених із зерен сорту Дубравка. Для сорту Голіковська відмічено три типи пігментації мікроорганізмів: жовто-кремова (50 %), бежева (25 %) і жовта (25 %) [253].

Ізоляти отримані із зерна 2018 р. теж мали аналогічні шість варіантів пігментації, але в іншому співвідношенні (додаток Б, рис. Б.4). Мікроорганізми, отримані із зерен сорту Оксамит миронівський 2 типи пігментації: жовта (25 %) та бежева (75 %). Пігментації жовтого, жовто-бежевого та бежевого кольорів в однаковому співвідношенні (33,3 %) спостерігались у колоній ізольованих із зерна сорту Дубравка. Ізоляти із зерен сорту полба Голіковська врожаю 2018 року мали

найбільше різноманіття пігментації, 5 різних типів: жовто-кремова (42,8 %), жовта (14,3 %), жовто-бежева (14,3 %), біла (14,3 %) та бежево-рожева (14,3 %).

Аналіз у межах кожного сорту показав переважання мікроорганізмів із жовтою пігментацією (додаток Б, рис. Б.3, рис. Б.4). Найбільше варіантів пігментації виявлено для колоній бактерій, ізольованих із зерна сорту Голіковська врожаю 2018 року.

Використовуючи систему BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) та базу даних NCBI (National Center for Biotechnology Information), всі ізоляти ідентифіковано до родів, базуючись на даних нуклеотидної послідовності гену 16S рРНК. Встановлено приналежність до шести родів штамів, отриманих із зерен 2017 р., а саме – *Staphylococcus* (4), *Pantoea* (2), *Sphingobium* (2), *Bacillus* (2), *Kosakonia* (1) та *Micrococcus* (1). Культивовані штами із зерна врожаю 2018 р. належали до чотирьох родів: *Kocuria* (1), *Staphylococcus* (5), *Corynebacterium* (1), *Micrococcus* (1) (табл. 3.10).

Ідентифікування ізолятів із зерна врожаю 2017 р. показало наявність двох штамів роду *Pantoea* та один *Staphylococcus* spp. у сорту Оксамит миронівський. Виділені штами із зерна сорту Струна миронівська, належали до трьох різних родів: *Kosakonia*, *Micrococcus* і *Staphylococcus*. З чотирьох ізолятів, отриманих із зерна сорту Дубравка ідентифіковано три штами родів *Bacillus*, *Staphylococcus* і *Sphingobium*. У сорту Голіковська ідентифікували штами тих самих родів і позначені як U.H1, U.H2 та U.H3 (табл. 3.10).

Із зерна 2018 р. ідентифіковано штами бактерій, які належать до чотирьох родів. Проте, із зерна сорту Струна миронівська не вдалось виділити та ідентифікували жодного штаму. У сорту Оксамит миронівський виявлено два штами роду *Staphylococcus* та один штам *Kocuria*. З трьох обраних ізолятів, які отримали із зерен сорту Дубравка, вдалось ідентифікувати два штами родів *Staphylococcus* та *Corynebacterium*. У сорту Голіковська ідентифікували два штами роду *Staphylococcus* та один *Micrococcus* (табл. 3.10).

Перелік ідентифікованих бактеріальних ендоситів (присвоєні номери GenBank, NCBI), які були виділені із зерна пшениці ярої, отриманого в умовах польового експерименту, дослідна ділянка Дмитрів (50°13'26.6''N 24°36'50.5''E), вегетаційні сезони 2017 та 2018 рр.

Сорт пшениці	2017			2018		
	Рід бактерій	Culture collection ID	Присвоєні номери GenBank	Рід бактерій	Culture collection ID	Присвоєні номери GenBank
Оксамит миронівський	<i>Staphylococcus</i>	U.MO1	MT302199	<i>Kocuria</i>	U.MO2.1	OP445710
	<i>Pantoea</i>	U.MO2	MT302200	<i>Staphylococcus</i>	U.MO2.2	OP445711
	<i>Pantoea</i>	U.MO3	MT302201	<i>Staphylococcus</i>	U.MO2.3	OP445712
Струна миронівська	<i>Kosakonia</i>	U.SM1	MT302202	–	–	–
	<i>Micrococcus</i>	U.SM2	MT302203	–	–	–
	<i>Staphylococcus</i>	U.SM3	MT302204	–	–	–
Дубравка	<i>Bacillus</i>	U.D1	MT302194	<i>Staphylococcus</i>	U.D2.1	OP445716
	<i>Staphylococcus</i>	U.D2	MT302195	<i>Corynebacterium</i>	U.D2.2	OP445717
	<i>Sphingobium</i>	U.D4	MT302196	–	–	–
Голіковська	<i>Staphylococcus</i>	U.H1	MT302197	<i>Micrococcus</i>	U.H2.1	OP445713
	<i>Bacillus</i>	U.H2	MT312840	<i>Staphylococcus</i>	U.H2.2	OP445714
	<i>Sphingobium</i>	U.H3	MT302198	<i>Staphylococcus</i>	U.H2.3	OP445715

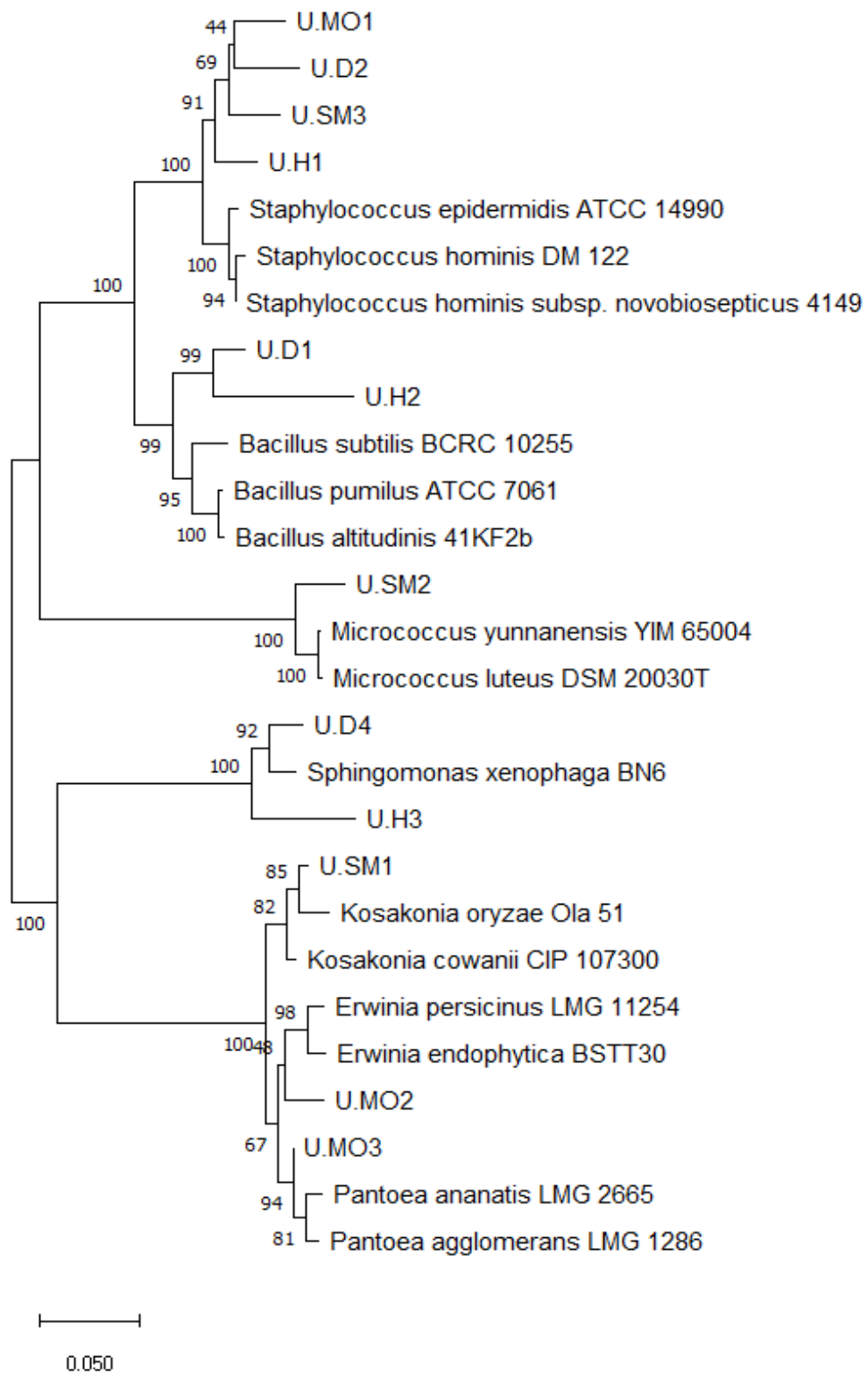
Культивовані ендоситні мікроорганізми представлені родами *Staphylococcus*, *Pantoea*, *Kosakonia*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Sphingobium*, *Corynebacterium* та *Kocuria*. Наше дослідження підтвердило, що мікробіом зерна пшениці різних сортів пшениці ярої може відрізнятися як кількісним, так і якісним складом, що узгоджується з даними інших публікацій [97].

Пов'язані з насінням мікробіоми, які, як вважають, передаються вертикально, мають потенціал коадаптуватися разом зі своїм господарем протягом поколінь до різних умов існування [281]. Показано також, що бактерії, асоційовані з насінням м'яких сортів *T. aestivum* менш різноманітні порівняно з насінням пшениці *T. dicoccoides*. Проте, на відміну до описаних даних, ми не спостерігали більшого різноманіття ізолятів із зерен сорту Голіковська, порівняно з ізолятами з

досліджуваних м'яких сортів пшениці. Бактерії деяких родів, що виявлені у досліджуваних об'єктах, зареєстровані як інокулянти для біозбагачення пшениці Zn, Cu або Fe [365; 366; 426].

За результатами філегенетичного аналізу гену 16S рРНК досліджувані штами згрупувались по двох незалежних кладах (рис. 3.20). Зокрема штами U.MO2, U.MO3, U.SM1, U.H3 та U.D4 групувалися з представниками типу Proteobacteria, а саме: штами U.MO2, U.MO3 групувалися з близькоспорідненими родами *Erwinia* та *Pantoea*, штамом U.SM1 з родом *Kosakonia*, а штами U.H3 та U.D4 з родом *Sphingomonas*. Роди *Erwinia*, *Pantoea* та *Kosakonia* належать до класу  $\gamma$ -Proteobacteria, тоді як рід *Sphingomonas* до класу  $\alpha$ -Proteobacteria. Це вказує на різноманітність Proteobacteria в ендосфері рослин пшениці. Крім того, штамом U.SM1 групувався з *Kosakonia oryzae* Ola 51, яка є ендofітом рису.

Решта досліджуваних штамів групувалися в основному з грам-позитивними бактеріями (рис. 3. 20). Зокрема, штамом U.SM2 утворює спільну кладу з представниками роду *Micrococcus*, це рід представлений коками, які часто утворюють тісні взаємодії з рослинами та продукують широкий спектр вторинних метаболітів. Штами U.D1 та U.H2 групувалися з представниками роду *Bacillus*, проте, варто відмітити, що ці штами утворювали незалежну кладу в середині класу роду *Bacillus*. Ймовірно, це пов'язано з тим, що наші штами ендofітні форми рослин, тоді як *Bacillus*, які представлені на філогенетичному дереві, вільноживучі ґрунтові бактерії. Подібно згрупувалися штами U.MO1, U.D2, U.SM3 та U.H1, які хоч і групувалися з представниками роду *Staphylococcus*, проте, утворили незалежну гілку, оскільки ендofітні штами відокремлені від штамів, які є патогенами людини та тварин. Припускаємо, що дослідження ендofітних бактерій роду *Staphylococcus* є мало поширеним, а видове різноманіття рослинних симбіонтів недостатньо вивчено.



**Рис. 3.20.** Філогенетичне дерево нуклеотидних послідовностей гену 16S рРНК штамів ендofітних бактерій зерна пшениці ярої (метод об'єднання сусідів). Величина бутстреп-аналізу = 1000 реплік.

З огляду на отримані результати, припускаємо, що видове різноманіття рослинних ендоефітів мало досліджено. Про це свідчить велика кількість штамів, які групувались окремо від гомологічних представників роду. Штами, які утворювали окремі клади є потенційно новими видами, а їх подальше дослідження дозволить розширити уявлення про видовий склад ендосфери рослин, особливо сільськогосподарських культур, що в майбутньому дозволить розробити методи підвищення врожайності та стійкості рослин.

### **3.5.2. Метагеномний аналіз бактеріальних ендоефітів рослин пшениці в умовах *in vitro***

Ендоефіти пов'язані з рослинами впродовж усього життєвого циклу від проростання насіння до розвитку плодів. Один з найважливіших органів рослини, колонізованих ендоефітами – зерно. Детальне дослідження складу та функції ендоефітного мікробіому різних сортів пшениці перспективне з огляду на можливість виявлення вираженого складу бактеріальних угруповань, які потенційно можна розглядати як засіб підвищення стійкості, врожайності та покращення харчової цінності зерна цієї культури.

Незважаючи на те, що ендоефітні бактерії демонструють низьку культивованість [400], дослідження цієї групи мікроорганізмів постійно розширюються завдяки застосуванню різних незалежних від культивування методів, заснованих на ізоляції всіх 16S рРНК, присутніх у рослинах, які призначені для виявлення як культивованих, так і не культивованих ендоефітів [129; 402]. Одним з таких методів є секвенування наступного покоління (NGS) за допомогою технології MiSeq 2000 від Illumina. Існує обмежена кількість досліджень структури ендоефітів у підземних і надземних органах рослин пшениці на основі NGS. NGS –це незалежний від культури метод, який дає можливість дослідити всю мікробну популяцію в певному зразку. Послідовність NGS фрагмента ДНК (16S рРНК) у формі зчитування (короткий фрагмент ДНК) дає

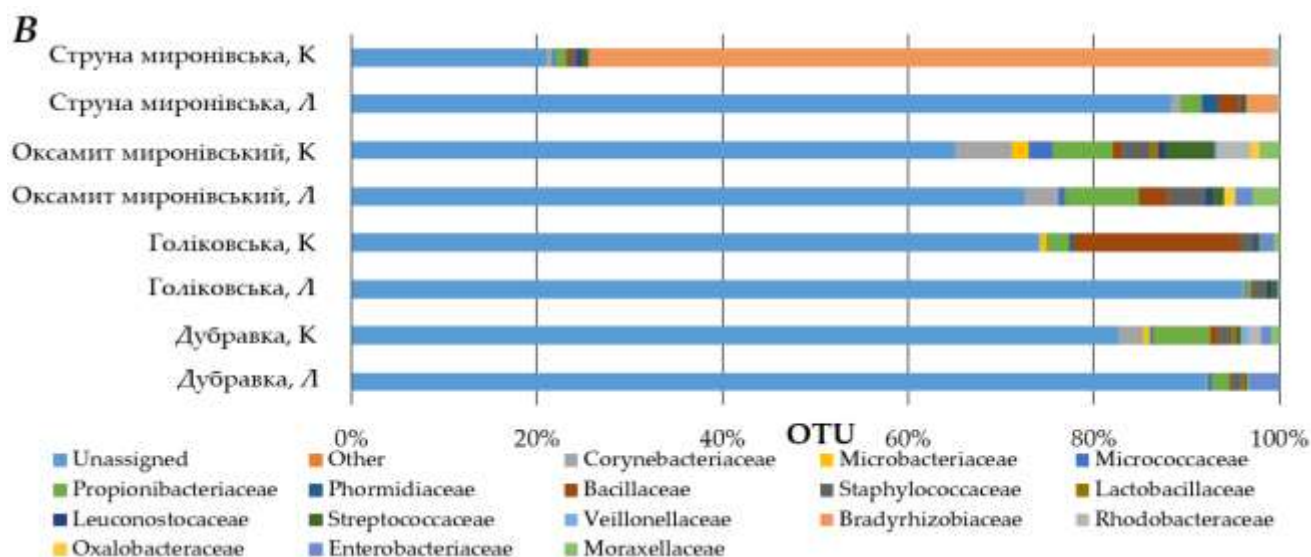
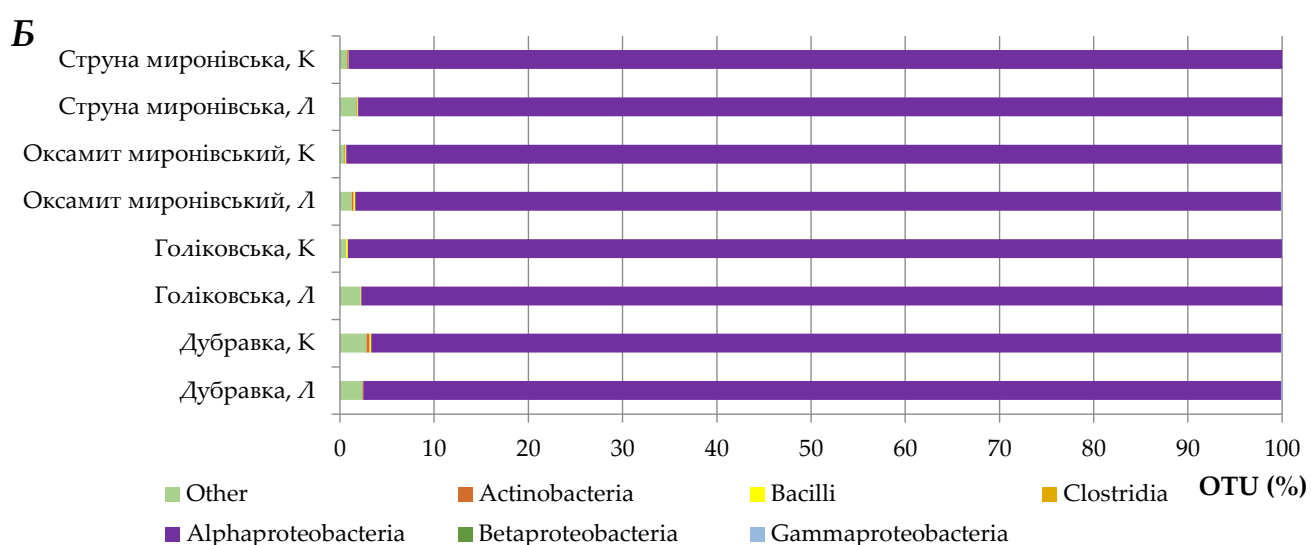
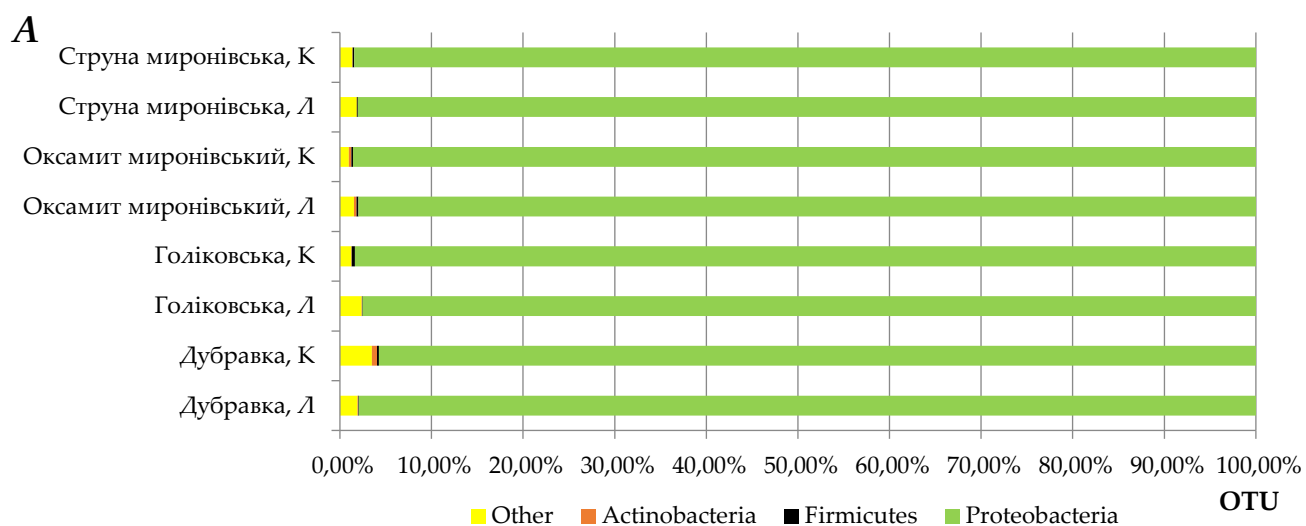
змогу за менший час зробити порівняння з еталонними послідовностями з баз даних для ідентифікації спорідненої бактерії з цим фрагментом [209].

Наступним етапом нашої роботи був аналіз ендоефітного мікробіому тканин проростків чотирьох обраних сортів пшениці ярої, що вирощувалися в умовах *in vitro* (сорта Дубравка, Струна миронівська, Оксамит миронівський, Голіковська) і та різнилися здатністю до поглинання мікроелементів та порівняти ці дані з даними вмісту мікроелементів (Fe, Cu, Zn) у зародках відповідних сортів. Зерно для проведення даного експерименту отримано з дослідної ділянки Дмитрів у 2017 році.

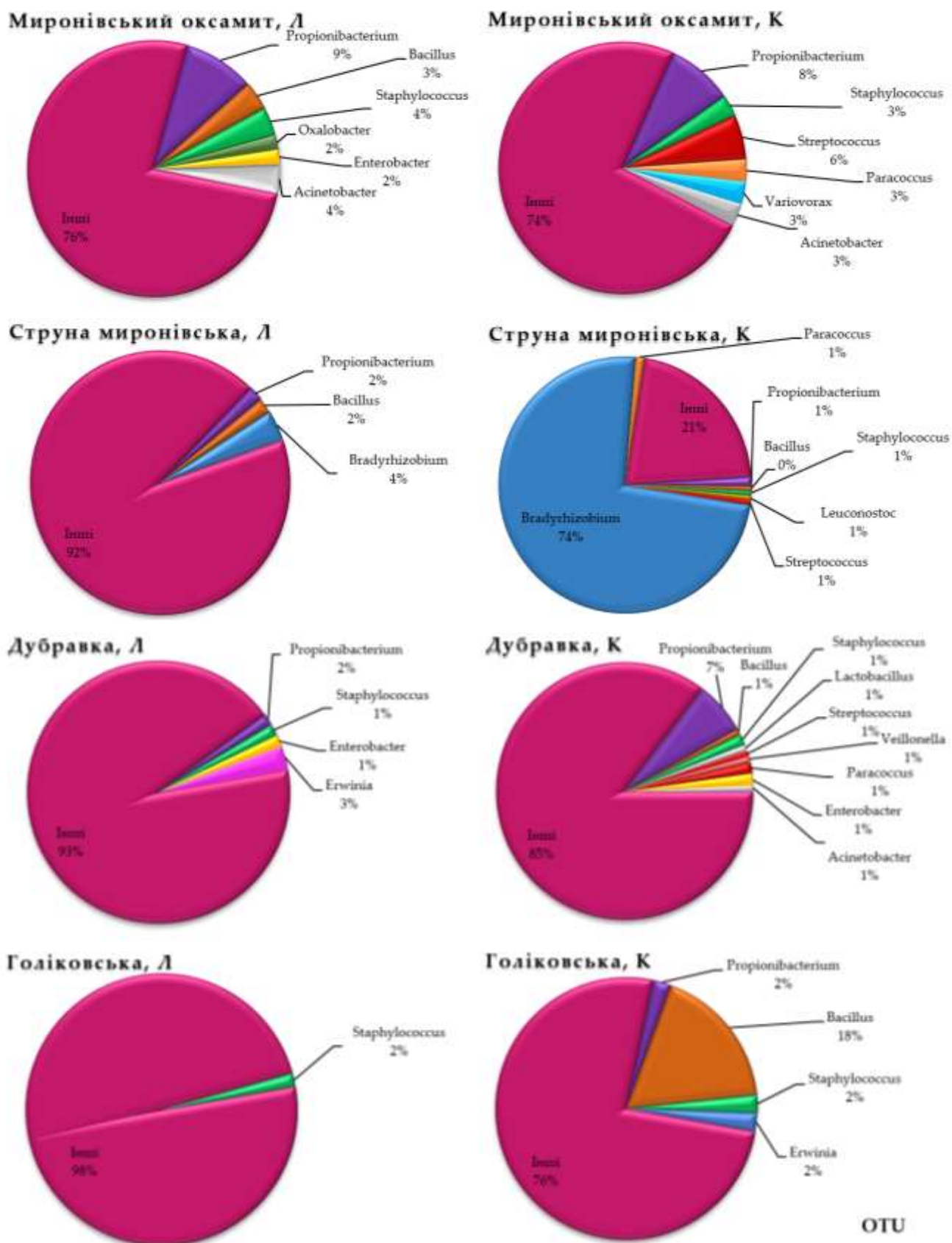
Із насіння *T. aestivum* L. сортів Оксамит миронівський, Струна миронівська та Дубравка та одного сорту *T. dicoccum* – Голіковська, було ізольовано зародки для культивування *in vitro*. Стерильні зародки вирощували *in vitro* до етапу трьох розгорнутих листків GS13. ДНК була виділена з листків та коренів проростків пшениці, які не мали симптомів бактеріальної чи грибової інфекції під час культивування *in vitro*. Встановлено, що в умовах *in vitro* ендоефіти присутні як у тканинах коренів, так і листків (рис. 3.21 *A, B, B* та рис. 3.22). Цей факт незаперечно доводить, що навіть стерильні зародки пшениці, що ростуть в умовах *in vitro*, не слід розглядати як стерильну нішу, оскільки вони заселені ендоефітним мікробіомом, що передається насінням, який далі транспортується в коріння та листки навіть в умовах *in vitro*. Спільноти ендоефітів в тканинах пшениці характеризувались різноманітністю в досліджуваних сортах.

Метагеномний аналіз мікробіому показав, що досліджені фрагменти пшениці (різних сортів), що росли в умовах *in vitro*, колонізуються ендоефітними бактеріями які належать до різних таксономічних груп. Як показано на рис. 3.21 *A, B, B* на рівні типу (*A*) та класу (*B*) не встановлено значної відмінності між сортами пшениці. Значно різноманітнішим виявився нижчий рівень таксономії, а саме родини (рис. 3.21 *B*). Виявлено 16 родин бактерій у тканинах листків та коренів дослідних сортів. Найбільша різноманітність родин бактерій виявлено у сорту Оксамит миронівський.





**Рис. 3.21.** Типи (А), класи (Б) та родини (В) ендofітних бактерій отриманих з тканин коренів (К) та листків (Л) проростків пшениці ярої пшениці в умовах *in vitro*, етап трьох розгорнутих листків GS13, NGS метод.



**Рис. 3.22.** Частка родів ендofітних бактерій тканин листків (Л) та коренів (К) проростків пшениці в умовах *in vitro*, етап трьох розгорнутих листків GS13, NGS метод.

З тканин листків та коренів чотирьох сортів пшениці ярої ідентифіковано бактерії, які належали до 14 родів: *Propionibacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Bradyrhizobium*, *Paracoccus*, *Variovorax*, *Oxalobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia* та *Acinetobacter* (рис. 3.22).

Кореневі та листкові угруповання пшениці відрізнялись за складом бактерій-ендофітів. Роди *Propionibacterium*, *Bacillus* та *Staphylococcus* були доміантними родами бактерій у тканинах пшениці. Загалом, коріння пшениці вважаються органами з вищим біорізноманіттям [155; 257; 332], що також виявлено в нашому експерименті. В коренях досліджуваних сортів виявлено однакових представників 3 родів бактерій. До них належать *Propionibacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*. У коренях сорту Дубравка виявлено найбільше родів бактерій: *Propionibacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Paracoccus*, *Enterobacter* та *Acinetobacter*. Найменше різноманіття родів бактерій у коренях було виявлено у сорту Голіковська: *Propionibacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Erwinia*.

На відміну від досліджень корневих ендоефітних бактерій, листкові ендоефітні бактерії вивчені менше [122]. Встановлено, що коріння всіх сортів пшениці були кращими органами для бактерій ендоефітів, ніж листки, де біорізноманіття було обмеженим. У листках найбільшу родову різноманітність бактерій виявлено у сорту Оксамит миронівський, ідентифіковані бактерії належали до 6 родів: *Propionibacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Oxalobacter*, *Enterobacter* та *Acinetobacter*. Найменшу різноманітність родів ендоефітів виявлено в листках сорту Голіковська – тільки *Staphylococcus*.

Встановлено, що надземні тканини швидко колонізуються ендоефітами які передаються насінням, і що спільноти листків дуже нагадують спільноти ендоефітів насіння [175], проте в наших експериментах ми не виявили такої схожості. У зерні пшениці (*T. aestivum* L. і *T. dicoccum*) виявлено бактеріальні ендоефіти, які належать до родів *Pantoea*, *Kosakonia*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Sphingobium*, *Bacillus*,

*Corynebacterium* та *Kocuria*. Згідно з отриманими даними, спільними для зерна та тканих проростків *in vitro* були лише два роди бактерій, *Bacillus* та *Staphylococcus*.

Варто зазначити, що передачу мікроорганізмів через насіння слід розглядати як важливий фактор, що впливає на структуру мікробіома рослин і, зрештою, на продуктивність рослин [354]. А. Kuzniar зі співавторами [229] припускають, що у пшениці бар'єри в ксилемі та халазальних клітинах можуть обмежувати справжню вертикальну передачу від материнської до дочірньої тканини. Ендofітні та патогенні бактерії зазвичай пов'язані з насінневою оболонкою чи ендоспермом, і рідше з зародком [229]. Повідомляється, що насіннева мікробіота є початковою точкою для утворення спільноти нового мікробіому проростків і одночасно кінцевою точкою утворення спільноти в насінні [354; 355]. Тобто, в нашому експерименті мікробіота зародка була початковою для утворення спільнот ендofітів в тканинах пшениці.

Попередні дослідження показали, що різні ендofіти колонізують різні частини насіння рослин [354], наприклад, *Fusarium culmorum* і *Epichloe typhina* виявлені в зародках пшениці [354], *Clavibacter michiganensis* і *Verticillium dahliae* присутні в ендоспермі помідорів [388], тоді як *Bacillus* і *Alternaria alternata* колонізували оболонку насіння виноградної лози [99]. Наявність бактерій роду *Bacillus* та *Pantoea* в ендоспермах ярої пшениці показали D. Herrera зі співавторами [120].

Структура ендofітної мікробіоти в насінні пшениці (окремо в зародку та ендоспермі) є недостатньо вивчена. R. J. Robinson та ін. [331,332] висунули гіпотезу, що бактеріальні спільноти переносяться в оболонку насіння пшениці та ендосперм, але відсутні в зародках пшениці. Очікується, що після проростання насіння основний ендofітний мікробіом ендосперму колонізує інші тканини рослини (тобто зародок, коріння, листя), досягаючи як ендo-, так і екзоризосфери [120]. А. Kuzniar та ін. [228] повідомляють про наявність чотирьох родів бактерій (*Pantoea*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* і *Paenibacillus*) у зародках *T. aestivum* сорту Honda. Проте, дослідження бактеріального мікробіому зародків як початкової

точки для заселення тканин листків та коренів *T. aestivum* та *T. dicocum* бактеріальними ендofітами є обмеженим.

Припускаємо, що концентрації мікроелементів в зерні та зародках пшениці можуть бути пов'язані з наявністю бактерій-ендофітів. У зародках пшениці сорту Оксамит миронівський виявлено найвищі концентрації Fe та Cu в зародках, та високі концентрації цих мікроелементів в зерні, врожайність для даного сорту була вище середніх значень. Водночас, зерно вирощувалось в польових умовах за низької біодоступності Zn, Fe і Cu. Окрім того, сорт Оксамит миронівський характеризувався найвищою різноманітністю родів бактерій в тканинах листків, та високою різноманітністю в тканинах коренів. Тому, припускаємо, що значний вплив на концентрацію мікроелементів та врожайність мала наявність ендofітів певних родів, зокрема *Bacillus*, *Staphylococcus* та *Pantoea*. Високі концентрації Zn в зерні та зародках сорту Голіковська можуть бути пов'язані з наявністю бактерій родів *Bacillus* та *Erwinia*, які, як відомо характеризуються ріст-стимулюючими властивостями [142; 182; 207; 413].

Штами мікроорганізмів *Staphylococcus* spp. були виділені з зерна кожного дослідного генотипу пшениці 2017 та 2018 рр. та з тканин проростків *in vitro* усіх сортів (див. табл. 3.10, рис. 3.22). Їх вплив на мікробіом рослин, а отже і на саму рослину може проявлятися від стимулювання росту до підвищення стійкості до біотичних і абіотичних стресів. Як повідомили А. Jaya Kumar зі співавторами [192], штам Seb1 *Staphylococcus* sp., отриманий із кореневища *Curcuma longa*, синтезував значні кількості ІОК та допомагав переносити посуху. *S. pasteurii* MBL\_B3 з *Corchorus olitorius* істотно стимулював ріст, тому розглядається як перспективний біоінокулянт для рослин роду *Corchorus* [166]. PGPB *Staphylococcus* sp. виділена з коренів *Salicornia* sp., здатна продукувати АСС-деаміназу та ІОК, зменшувала шкідливий вплив засолення, а її використання як біоінокулянта підвищувало врожайність пшениці [370]. Окрім того, бактерії цього роду, наприклад *S. aureus* продукують харчові токсини, які можуть викликати інтоксикацію організму людини [123]. Згідно з отриманими даними, всі виділені штами роду *Staphylococcus*

spp. синтезували порівняно невеликі кількості IRCs (рис. 3.23, стор. 157). Їх конкретна роль в метаболізмі пшениці потребує подальшого дослідження. Можемо припустити існування вертикальної передачі бактерій роду *Staphylococcus*, оскільки, вони були виявлені в кожного роду впродовж двох років досліджень.

Бактерії роду *Bacillus* spp. було ізольовано із зерна пшениці сортів Дубравка та Голиковська врожаю 2017 р., проте їх не було виділено із зерна 2018 р. Також бактерії цього роду були виділені з тканин коренів сортів Струна миронівська, Дубравка, Голиковська та з тканин листків сортів Оксамит миронівський і Струна миронівська (див. табл. 3.10, рис. 3.22). За даними наукових публікацій, ендofіти *Bacillus* spp. здатні стимулювати ріст пшениці, впливати на поглинання елементів мінерального живлення; в основному їх виділяють із зерна та ризосфери [89 ;371; 389]. Інокулювання зерна пшениці ендofітами *B.subtilis* DS-178e та *Arthrobacter* sp. ДС-179 збільшувало вміст Zn вдвічі, стимулювало ріст та підвищувало врожайність як в лабораторних, так і в польових дослідженнях [365; 366]. Повідомляється, що багато ендofітних бактерії *Bacillus* spp. ефективно захищають рослини проти патогенних видів *Fusarium* [42; 214; 277]. Як повідомляє D. Pan зі співавторами [283], *B. megaterium* (BM1) та *B. subtilis* (BS43, BSM0, BSM2), виділені з зерна пшениці, характеризувались високою антагоністичною активністю проти *F. graminearum*. Протигрибкові властивості мали ендofіти зерна м'якої пшениці *B. gibsonii* і *B. pumilus* [97]. Механізм впливу ендofітних бактерій на мінеральне живлення рослин та захист від патогенів пов'язують із їхньою здатністю продукувати сидерофори, які хелатують іони Fe, утворюють іони Fe<sup>3+</sup> які, потрапляючи всередину клітин мікроорганізмів, що конкурують за цей елемент із фітопатогенами і так захищають рослину від хвороб [133; 340]. Солюбілізація Zn ендofітами визначається кількістю споживання Zn рослиною, у відповідь на потреби рослин та мікроорганізмів для нормального росту та розвитку. Деякі ріст-стимулювальні бактерії, наприклад *B. aryabhattai* [307], *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium* та інші бактерії *Bacillus* spp. [182; 413] солюбілізують Zn, і так стимулюють ріст та збільшують накопичення Zn рослиною [142; 207]. Аналіз

наукових публікацій засвідчив відсутність на сьогодні даних про ізолювання та ідентифікування бактеріальних ендоефітів з зерна *Triticum turgidum* subsp. *dicoccum*. Тому наші дані є першими про виділення бактеріальних ендоефітів з цього роду пшениці [253]. Нами виділено два штами роду *Bacillus*, один з них, а саме *Bacillus* spp. УН2 ізолюваний із зерна полби сорту Голіковська. Є дані щодо виділення грибкових ендоефітів з *T. turgidum* ssp. *dicoccum* і *T. dicoccoides* [124; 278; 382].

Бактерії роду *Pantoea* (родина *Erwiniaceae*) було виділено з зерна лише одного сорту – Оксамит миронівський (див. табл. 3.10). Цей сорт характеризувався високою врожайністю та високим вмістом Cu та Zn у зерні. Ми припускаємо, що високі значення цих показників, окрім сортових особливостей, можуть бути пов'язані з наявністю ендоефітів *Pantoea* spp.. Ці припущення узгоджуються з численними публікаціями про ріст-стимулювальний вплив *Pantoea*, підвищення стресостійкості та солубілізуванню Zn за участі ендоефітів пшениці. Згідно з M. G. Links та ін. [238] бактерії цього роду мають антагоністичний вплив на фітопатогенні гриби пшениці. Повідомляється також, що *Pantoea* spp. підвищують стійкість пшениці до водного дефіциту [86]. Інокулювання рослин *Triticum durum* L. штамом *P. agglomerans* Pa сприяло проростанню насіння, збільшувало вміст хлорофілів, знижувало накопичення проліну та сприяло нагромадженню іонів K<sup>+</sup>. Також, цей штам характеризується здатністю до синтезу вторинних метаболітів, які зменшують стрес від засолення та стимулюють ріст рослин. Тому, штам *P. agglomerans* Pa запропоновано використовувати як біодобриво для пшениці в посушливих та засолених регіонах [90]. Інший вид цього роду, *P. alhagi* має здатність стимулювати ріст і підвищувати толерантність пшениці до посухи [86]. На сьогодні, більшість публікацій описують штами *P. agglomerans*, які можна використовувати для профілактики та/або лікування хвороб людей і тварин, біоремедіації навколишнього середовища [127]. Останніми роками деякі жовті, грамнегативні бактерії роду *Pantoea* використовують промислово для боротьби з бактеріальними опіками яблунь та груш, наприклад BlightBan C9-1 та Bloomtime™ Biological. Інші мають потенціал до біоремедіації ґрунтів, характеризуються

здатністю розкласти гербіциди без утворення токсичних продуктів. Штами *P. dispersa*, виділені з *Ipomoea batatas* істотно пригнічували життєздатність фітопатогенного *Ceratocytis fimbriata* [193]. Цікаві результати були отримані для штамів *P. dispersa* і *P. agglomerans*, які були виділені з пшениці [207]. Інокуляція зерна пшениці штамом *P. agglomerans* (EPS 17), який продукував високі концентрації ІОК (8,449 мкг/мл), призводила до збільшення накопичення Zn у коренях та зерні пшениці та підвищення концентрації біодоступного Zn.

Бактерії роду *Kosakonia* виділено лише з зерна сорту Струна миронівська (див. табл. 3.10). Штами *K. radicincitans*, які стимулюють ріст рослин та істотно підвищують врожайність і якість зерна, останнім часом виявлено в тканинах різних сільськогосподарських культур [51; 54; 62; 323; 431]. Зокрема, встановлено, що штам *K. radicincitans* DSM 16656T (раніше відомий як *Erwinia radicincitans* DSM 16656T і як *Pantoea agglomerans* D5/23) [62] виділений із філосфери озимої пшениці, здатний до біологічної фіксації атмосферного азоту [431]. Також повідомляють, що *P. agglomerans* можна використовувати для стимулювання росту коренів *T. aestivum* [323]. Один і той самий штам здатний колонізувати як ризосферу, так і філосферу злакових культур та мігрувати всередині рослини. Посилений ріст коренів покращує поглинання води та засвоєння мінеральних речовин, тим самим збільшуючи врожайність. Інокуляція *K. radicincitans* озимої пшениці сорту Alcedo призводила до підвищення врожайності [51]. Штам *K. oryzae* EPS 7, отриманий з пшениці, синтезував сидерофори та підвищував ефективність мінерального живлення [207]. Штами *Kosakonia* sp. ICB 117 та *K. radicincitans* DSM 16656T отримані з цукрової тростини, синтезували ауксини та цитокініни, сприяли росту і інтенсифікували метаболізм рослин [76; 350].

Ще один штам бактерій, який було виділено лише з зерна сорту Струна миронівська у 2017 р. був *Micrococcus* spp. U.SM2, також *Micrococcus* spp. U.H2.1 виділений у 2018 р. із зерна сорту Голіковська (див. табл. 3.10). На сьогодні виявлено два повідомлення про виділення *Micrococcus* sp. із зерна *T. aestivum* [371; 414]. Згідно з публікацією Р. Verma та ін. [414], *M. luteus* асоційований із



пшеницею, характеризується здатністю солюбілізувати Фосфор та синтезувати гіберелову кислоту. *M. luteus* також є частиною природної мікрофлори шкіри людини та синтезують антимікробні метаболіти із пробіотичними властивостями [422]. Разом з тим, стійкий до кадмію RGPB *Micrococcus* sp. TISTR2221, виділений з *Helianthus annuus* L., сприяє збільшенню довжини коренів кукурудзи за впливу кадмію [346; 300]. А. Raza та М. Faisal [316] встановили, що інокуляція *M. luteus*-ср 37 збільшує кількість листків, довжину пагона, кореня та масу рослин кукурудзи. *Micrococcus* sp. NII-0909 із високою здатністю продукувати ІОК, у рослин стимулював ріст *Vigna unguiculata*. [115]. Однак, у високоврожайного сорту Струна миронівська нами не виявлено високої концентрації мікроелементів в зерні, тоді як врожайність була порівняно високою, тому, ймовірно ці показники не пов'язані з наявністю штамів U.SM1 та U.SM2 і ми не можемо розглядати ці штами як інструмент біофортificaції.

Ендofітні бактерії *Sphingobium* spp. виділено із зерна пшениці сортів Дубравка (U.D4 MT302196) та Голіковська (U.H3 MT302198) (див. табл. 3.10). *Sphingobium* sp. – це типові ендofіти багатьох рослин, які як відомо, є корисними для рослин завдяки продукції фітогормонів та стимулюванню росту [38; 212]. Штами ендofітних бактерій *Sphingobium* spp. виділено з різних рослин: *Oryza sativa* [88], арахісу [450], *Ammophila breviligulata* [417], *Fortunella hindsii* [446] та кукурудзи [292]. Дані бактерії виділені із коренів, листків та квітів, показано, що вони захищають рослини від фітопатогенів [212; 248]. Обробка насіння рису бактеріями *S. yanoikuyae* MN394206 і *Azospirillum brasilense* призводила до збільшення висоти рослин, об'єму кореневої системи та сирої маси зерна [302]. Молекулярна ідентифікація показала високий рівень гомології нуклеотидних послідовностей ізольованих та культивованих нами бактеріальних штамів *Sphingobium* sp. (GenBank: MT302196, MT302198) із штамом *Sphingobium* sp. SMB MK386690, який було виділено з ґрунту [458]. Внаслідок інокулювання насіння пшениці штамом *Sphingomonas* spp. збільшувалася маса кореневої системи та концентрація поживних речовин [438]. Вищезгадані ознаки *Sphingobium* spp. викликають

особливий інтерес, припускаючи їх можливу роль у стимулюванні росту та розвитку рослин. Ідентифіковані нами штами бактеріальних ендоефітів *Sphingobium* spp. U.D4 MT302196 і U.H3 MT302198 потребують більш детального вивчення на рівні взаємодії рослина-бактерія-грунт, та їх впливу на врожайність та мінеральне живлення пшениці.

Ендобактерії роду *Kocuria* вперше виділені з *Prosopis laevis* [335]. В нашому дослідженні бактерії цього роду виділено із зерна сорту Оксамит миронівський врожаю 2018 р. (U.MO2.1 OP445710) (див. табл. 3.10). *Kocuria* sp. позитивно впливають на рослину, їх дію часто пов'язують із підвищенням солестійкості [121; 334; 335]. Приміром, інокулювання насіння пшениці штамом *Kocuria* sp. 26E зменшувало шкідливий вплив засолення, збільшуючи суху масу кореня, хлорофільний індекс, концентрацію Фосфору в коренях та масу 1000 зерен [43]. *Kocuria kristinae*, виділені з пшениці, проявляли антагоністичну активність щодо *F. graminearum* [413]. *Kocuria* sp. штам MBL\_B19 отриманий із *Corchorus olitorius* показав високу здатність до синтезу ІОК та солюбілізації фосфатів [166]. Інокулювання сої *K. rhizophila* збільшувало загальну біомасу [181], кукурудзи – підвищувало стійкість до сольового стресу шляхом регулювання фітогормонального балансу, поглинання поживних речовин, окисно-відновного потенціалу, іонного гомеостазу, фотосинтетичної здатності та експресії генів, які реагують на стрес [236].

Єдиний штам бактерій роду *Corynebacterium* виділено із зерна сорту Дубравка врожаю 2018 р. (U.D2.2 OP445717) (див. табл. 3.10). Ендофітні *Corynebacterium* виявлені у рослинах кукурудзи, бульбах картоплі, коренях лимона (*Citrus jambhiri*), корені буряка (*Beta vulgaris*), плодах рамбутану (*Nephelium lappaceum*), пагонах *Kalidium cuspidatum* [81; 143; 381]. Більшість ендоефітів *Corynebacterium* сприяють кращому росту, пригнічуючи колонізацію іншими штамми та проявляють антагонізм щодо фітопатогенних грибів [59; 361]. Деякі ендоефіти роду *Corynebacterium* можуть сприяти синтезу Rubisco, тим самим впливаючи на процес фотосинтезу [148].

Бактерії роду *Erwinia* було ізольовано з тканин коренів сорту Голіковська та тканин листків сорту Дубравка в умовах *in vitro* (див. рис. 3.22). Грамнегативний рід *Erwinia* (тип Proteobacteria) часто асоціюється з рослинними патогенами, наприклад у насінні квасолі [254] та зерні рису [386]. Однак бактерії роду *Erwinia* також пов'язують з біоконтролем грибкових патогенів у зерні пшениці [117]. Штам A4 *Erwinia gerundensis* виділений з тканин листя мигдалю здатний колонізувати підземні та надземні тканини *Arabidopsis thaliana*. Він характеризується властивостями покращувати ріст рослин, підвищувати доступність мікроелементів та виробляти поліамін спермідин, який зменшує негативний вплив стресу [344]. Окрім того, бактерії роду *Erwinia* характеризуються здатністю до фіксації N<sub>2</sub>, синтезу сидерофорів, ІОК та сольобілізації Цинку і Фосфору [395]. Штам *Erwinia persicina* EU-A3SK3 отриманий з кореневих тканин пшениці описують як сольобілізатор Фосфору [118].

Повідомляється про виділення бактерій-ендофітів роду *Enterobacter* з насіння пшениці [198], *Propionibacterium* з листків та коренів, *Paracoccus* з ендосперму пшениці сорту Hondia [228; 229], *Lactobacillus* з колосів на етапі зрілості [262], *Variovorax* з тканин листків та коренів пшениці в польових умовах [331], прете, їх роль як RGPB для пшениці залишається невідомою.

Дане дослідження забезпечує більш повне уявлення про структуру ендоефітів, що колонізують тканини пшениці, і є новим елементом дослідження, оскільки, зв'язок між насінням і мікробіомом *in vitro* залишається ще невивченим.

### **3.5.3. Синтез IRCs штамами бактерій ендоефітів**

Використання ізолятів ендоефітних бактерій сприятиме поліпшенню харчової цінності зерна пшениці та врожайності. Отримані результати дозволяють припустити ймовірний вплив ендоефітної колонізації на діапазон надходження мікроелементів у рослину та їх завантаження в зерно.

Припускають, що здатність ендобактерій до синтезу сполук ауксинового типу призводить до стимулювання росту й розвитку рослини-господаря, в тому числі й

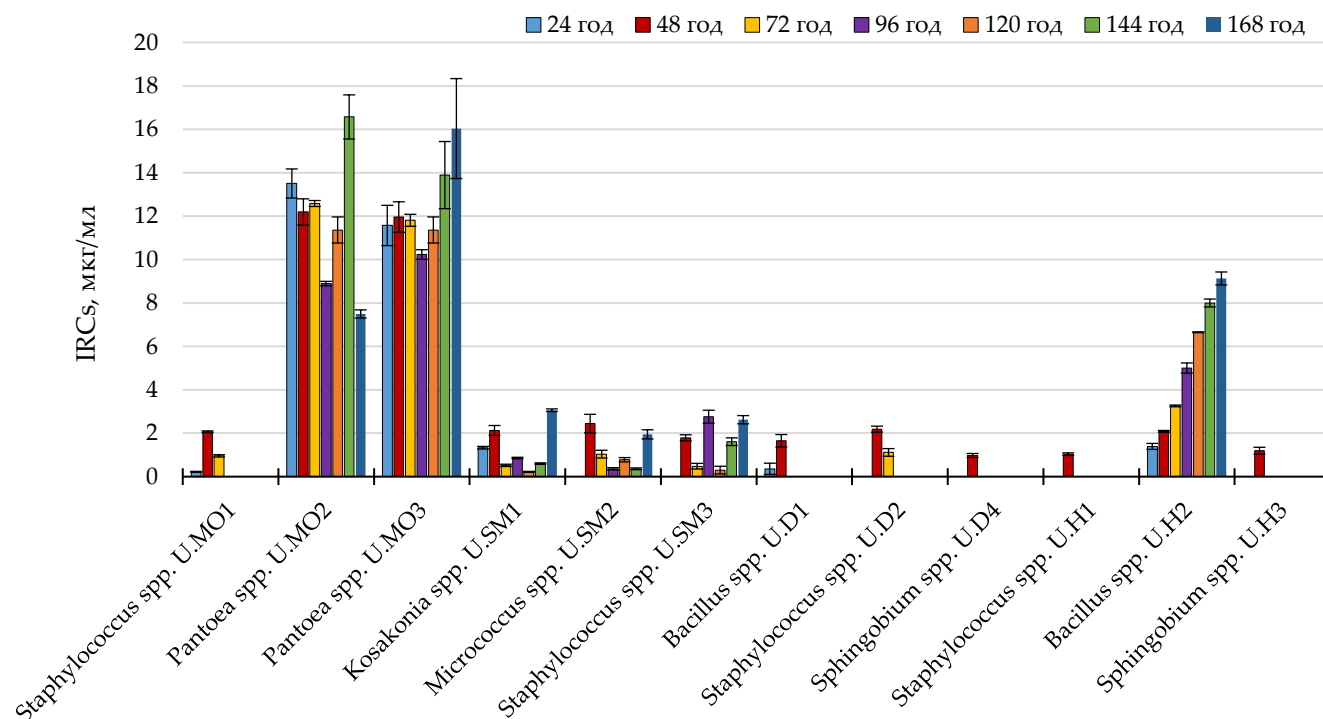
за рахунок покращення мінерального живлення. Тому, одним із етапів роботи було встановлення здатності отриманих ізолятів синтезувати ауксин-подібні сполуки (IRCs).

Терміном IRCs позначають сукупність різних сполук ауксинового ряду. Природні ауксини трапляються в таких активних формах як: індоліл-3-оцтова кислота (ІОК), 4-хлор-індоліл-3-оцтова кислота (4-Cl-ІОК) і фенілоцтова кислота (РАА). Неактивними попередниками вважають індоліл-3-піровиноградну кислоту (ІРуА), індолацетамін (ІАМ), індоліл-3-ацетальдоксим (ІАОх), індоліл-3-ацетонітрил (ІАН) та індоліл-3-ацетальдегід (ІААld); а формами запасання: індоліл-3-масляна кислота (ІМК), метил-ІАА (MeІАА) та ауксини, кон'юговані з амінокислотами або цукрами [223; 230; 449]. Ауксини, зокрема ІОК можуть діяти як сигнальні молекули у взаємодії між бактеріями та рослинами [57; 240; 374], найкраще вивчена роль ІОК.

Усі виділені та ідентифіковані штами бактерій із зерна пшениці ярої вегетаційного сезону 2017 р. продемонстрували здатність синтезувати IRCs під час росту *in vitro* в присутності L-триптофану, який вважається ключовим попередником ІОК у триптофан-залежному шляху [210]. Усім ізолятам була притаманна здатність змінювати забарвлення культурального середовища у реакції з реактивом Сальковського від світло-рожевого до рожевого, що підтверджувало наявність у середовищі IRCs [157; 160]. Дані кількісного визначення IRCs (мкг/мл), яку досліджувані штами бактерій виділяли в культуральне середовище збагачене 5 мМ L-триптофаном впродовж 24-168 год наведено на рис. 3.23.

Усі досліджені штами характеризувалися достовірними відмінностями в здатності до синтезу IRCs у рідкому живильному середовищі з L-триптофаном впродовж 168 год ( $p < 0.00001$ ). Встановлено, що ізольовані штами одного й того ж роду, наприклад, *Bacillus* продукують різні кількості IRCs. Зокрема, штам *Bacillus* spp. U.D1 синтезував низькі концентрації IRCs через 24 та 48 годин (0,36 та 1,65 мкг/мл), тоді як штам *Bacillus* spp. УН2 – значно більші кількості IRCs впродовж експерименту (1,39 – 9,13 мкг/мл). В ході 168-годинного експерименту

встановлено, що штами *Pantoea* spp. U.MO2, U.MO3, *Kosakonia* spp. U.SM1, *Micrococcus* spp. U.SM2, *Staphylococcus* spp. U.SM3 і *Bacillus* spp. U.H2 безперервно виділяли IRCs у культуральне середовище (рис. 3.23).



**Рис. 3.23.** Концентрація ауксиноподібних сполук (IRC, мкг/мл), виділених штамами ізольованих ендоситів зерна в рідкому культуральному середовищі з додаванням 5 мМ L-триптофану при постійному струшуванні. Реакція Сальковського, відбір зразків кожні 24 год.

Причому, *Pantoea* spp. U.MO2 і U.MO3 продукували велику кількість IRCs впродовж усього часового відрізка експерименту. Максимальний синтез IRCs для *Pantoea* spp. U.MO2 зафіксовано на 144 год – 16,57 мкг/мл, а мінімум було виявлено на 168 год – 7,49 мкг/мл. Низькі концентрації IRCs виявляли у культуральному середовищі наступних штамів: *Staphylococcus* spp. U.MO1 – 0,22-2,07 мкг/мл, U.H1 – 1,04 мкг/мл, U.D2 – 1,12-2,19 мкг/мл; *Bacillus* spp. U.D1 – 0,36-1,65 мкг/мл, *Sphingobium* spp. U.D4 – 0,98 мкг/мл, та U.H3 – 1,19 мкг/мл.

Усі досліджені штами бактерій синтезували різну кількість IRCs впродовж росту *in vitro*. На думку М. Woźniak та ін. [433] майже всі ендоситні ізоляти здатні продукувати ІОК, у кількостях залежних від систематичного положення бактерій

і рослини з якої вони були виділені, а також наявності амінокислотного попередника. Деякі вчені [288; 290; 454] повідомляють про внутрішні умови за яких RGPB здатні підвищувати свій рівень синтезу ІОК. Це пов'язують із активністю генів, які регулюють синтез, і наявністю ферментів, що можуть модифікувати активну вільну ІОК [339]. Рівні активної вільної ІОК можна модулювати за допомогою перетворення в ІМК або приєднанням ІОК до амідів або складних ефірів. Кон'югація та перетворення в ІМК можуть забезпечити механізм тимчасового зберігання оборотно інактивованих ауксинів [339]. Р. R. Hardoim [174] повідомляє що ключовий ген, який бере участь у синтезі індольних сполук – *ipdC*, кодує індоліл-3-піруватдекарбоксилазу (EC, 4.1.1.74). ІруА шлях біосинтезу ІОК виявлено в 34 геномах бактеріальних ендofітів; всі штами *Kosakonia* в наведеному дослідженні мали одну копію гена *ipdC* [174]. Однак, Н. Gross та J. Loper [162] повідомили про відсутність цього гена у геномах ауксин-продуцентів роду *Pseudomonas*.

ІОК є основною ефекторною молекулою у фітостимуляції, забезпеченні імунітету та взаємодії рослин і бактерій [304]. Ауксини, які синтезуються ендofітною мікробіотою, впливають на процеси надходження та транспортування мікроелементів, сприяють підкисленню ризосфери внаслідок стимулювання активності Н<sup>+</sup>-АТФ-ази та контролювання експресії численних генів, які важливі для підтримання гомеостазу мінеральних елементів [304; 364].

Відомо, що ауксин залучений у підтримку гомеостазу Fe та Zn у злакових, проте його конкретна роль залишається невідомою. Для рису показано, що фактор транскрипції OsARF12 активує ген ауксинової відповіді та впливає на накопичення та розподіл Fe [304]. У свою чергу OsABCВ1 бере участь у транспорті ауксину та гомеостазі Fe [440]. Ауксин також індукує виділення сидерофорів [153], регулює реакції відповіді коренів пшениці на дефіцит Fe, впливає на стійкість пшениці до токсичних концентрацій Fe [201]. Гомеостаз Cu в основному регулюється факторами транскрипції SPL7 і CITF1, які контролюють поглинання коренями Cu і транслокацію цього елемента до квітів за умов дефіциту Cu [55; 442]. Участь

ауксинів в цих процесах може бути опосередкованою, за рахунок змін концентрації жасмонової кислоти. В роботі М. Р. Ishka та О. К. Vatamaniuk [306] показано, що деякі ознаки дефіциту Cu (збільшення пагонів розгалуження в *Arabidopsis*) можна змінити застосуванням екзогенного ауксину. Вважається, що активний ріст рослин викликає посилене виділення корневих ексудатів, які покращують метаболізм ризобактерій. Вони можуть підвищувати врожайність зерна сільськогосподарських культур, шляхом стимуляції росту коренів [271; 321; 419], фотосинтез, поглинання мінеральних елементів, зокрема Fe і Zn та їх накопичення в тканинах рослин [271; 366; 429].

### Підсумки до підрозділу

Із зерна пшениці ізольовано, культивовано та ідентифіковано 20 штамів бактеріальних ендofітів, які належать до родів: *Staphylococcus*, *Pantoea*, *Sphingobium*, *Bacillus*, *Kosakonia*, *Micrococcus*, *Kocuria* та *Corynebacterium*.

В результаті метагеномного аналізу тканин листків та коренів пшениці ярої в умовах *in vitro* ідентифіковано 14 родів бактерій: *Propionibacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Bradyrhizobium*, *Paracoccus*, *Variovorax*, *Oxalobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia* та *Acinetobacter*.

Досліджено ймовірну роль окремих штамів у накопиченні Fe, Zn та Cu в зерні та зародках. Встановлено здатність ідентифікованих штамів бактерій до IRCs під час росту *in vitro* в присутності L-триптофану. *Pantoea* spp. U.MO2, U.MO3 та *Bacillus* spp. U.H2 можуть мати особливо високий потенціал як корисні рослинні інокулянти для агроєкосистем з дефіцитом поживних речовин.

Представлені вище результати опубліковано у статтях [7, 253] та матеріалах конференцій [471, 472, 476, 480, 481, 482, 483, 484].

## РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Пшениця (*Triticum* spp.) є основною продовольчою культурою для третини населення світу [187; 251]. Незважаючи на традиційно великі площі посівів озимої пшениці, останнім часом в Європі, а особливо в Україні спостерігаємо збільшення площі посівів ярої пшениці [1; 17]. Стали більш популярними сорти тетраплоїдної плівчастої пшениці полба, які характеризуються високою якістю зерна, використовуються в дієтичному харчуванні та мають морфофізіологічні властивості, які забезпечують посухостійкість [220; 260; 293].

При багаторічній селекції сортів пшениці, яка була спрямована на збільшення врожайності, відбулась втрата вмісту білків, мікроелементів та вітамінів що значно знизило його якість. Покращення харчової цінності зерна пшениці є пріоритетним напрямком досліджень для генетиків і селекціонерів.

Водночас загрозою майбутній продовольчій безпеці є і глобальні зміни клімату [267; 274; 286; 303]. Наприклад, підвищення температури на 2 °C зменшило глобальну врожайність пшениці на 11 %; виходячи з виробництва у 2017 році, це дорівнює втраті врожаю на 84,8 млн т, що перевищує загальну кількість пшениці виробленої щорічно в Північній Європі [455]. Весна в Європі все частіше супроводжується посухою, повітряними бурями, нерівномірною кількістю опадів та значними перепадами температур; літо – сильною посухою, яка спричиняє несприятливі умови для росту багатьох культур [264; 317; 394].

За даними CORDEX, температура в Україні до 2070 року зросте на 1,65–2,98 °C, зі зміною характеру опадів. Таким чином, прогнозується зменшення виробництва пшениці на 6–11 %. У цих умовах, важливо впоратися з можливою проблемою нестачі продовольства для зростаючого населення. Тому, важливим є підвищення посухостійкості сортів пшениці [58; 267; 394]. Посуховий стрес на будь-якій стадії росту пригнічує ріст пшениці та знижує врожайність [453]. Ефект впливу водного дефіциту залежить від етапу росту пшениці [113], тоді як тривалість та інтенсивність нестачі води впливає на розвиток та в підсумку знижує



врожайність [349]. Посуха негативно впливає на висоту рослин, кількість листків, куцистість і площу прапорцевих листків [183]. У цьому випадку, значущим є вдосконалення оцінки посухостійкості сортів експрес-польовими та фізіологічними лабораторними методами.

В роботі досліджено посухостійкість сортів пшениці ярої української селекції (*T. aestivum* L., *T. durum* Desf., *T. turgidum* subsp. *dicoccum*) за низької біодоступності мінеральних елементів за показниками водного дефіциту (WD), відносного вмісту води (RWC), водоутримної здатності у перерахунку на масу (EL WLW) і площу (EL WLA) прапорцевих листків рослин на етапі GS43, в умовах польового експерименту впродовж вегетаційного сезону 2018 р., який характеризувався низьким рівнем опадів і високими температурами. Дефіцит вологи спричинив зменшення RWC в листках усіх досліджуваних сортів пшениці. Підтверджено відмінності в реакції на посуху серед сортів пшениці м'якої і твердої (*T. aestivum* і *T. durum*). Показники водного дефіциту були в межах від 18,0 до 37,8 % для сортів пшениці м'якої та 19,4–33,3 % для твердої. Найнижчий показник WD ( $\leq 20$  %) було виявлено для сортів м'якої пшениці Колективна 3, Елегія миронівська і твердої – Діана та Чадо. Високі значення WD відзначено для сортів Сімкода миронівська та МПП Райдужна. Низькі значення WLW EL, а отже, вища посухостійкість відмічена для сортів пшениці твердої Спадщина та Діана. Сорти м'якої пшениці Сімкода миронівська, Панянка та тверді сорти Жізель, Тера, МПП Райдужна та полба Голіковська втратили менше води у перерахунку на одиницю площі листка (EL WLA). Двокомпонентний biplot аналіз підтвердив високу посухостійкість сорту МПП Райдужна і дав змогу виокремити такі сорти з високою врожайністю та посухостійкістю, як Жізель (тверда), Голіковська (полба) і Сімкода миронівська (м'яка). Сорти пшениці м'якої Божена, Дубравка та твердої Спадщина, Діана були сприйнятливими до посухи, незважаючи на відносно високий показник RWC. Отже, показники EL WLW та EL WLA, що характеризують водоутримну здатність тканин листків, можуть бути рекомендовані як додаткові показники стійкості до водного стресу. RWC як параметр посухостійкості доцільно

застосовувати для пшениці твердої, тоді як EL WLA 2–6 год – для пшениці м'якої ярої.

Харчова якість зерна пшениці визначається вмістом низки сполук зокрема білків, полісахаридів, ліпідів, мінералів, вітамінів та антинутрієнтів. Зі споживанням пшеничних виробів людина отримує близько 20 % від добової норми білка [108]. Тому, збільшення вмісту білків в зерні є основною метою багатьох селекційних програм [450; 225].

Згідно з нашими експериментальними даними та даними літератури концентрація білків в зерні залежить від біологічних особливостей сорту та ґрунтових умов. Встановлено вищу концентрацію білків в зерні врожаю 2017 р. на дерново-буроземних суглинистих ґрунтах ділянки Д. Лужок із слабо-кислим рН, нижчим вмістом ОРГ та вищою біодоступністю Fe, Zn та Cu. Істотної різниці за вмістом білків між м'якими та твердими сортами не виявлено. Сорти МПП Злата, Династія, Ізольда, Колективна 3, Династія вирізняються високою здатністю до накопичення білків в зерні за умов різного мінерального живлення. Сорт полба Голіковська вирізнявся високим вмістом білків на обох дослідних ділянках впродовж двох років дослідження. Результати кореляційного аналізу не продемонстрували чіткої залежності між вмістом білку та врожайністю зерна, оскільки за даними 2017 р. кореляції від'ємні, тоді як у 2018 р. слабкі позитивні.

Абіотичні та біотичні фактори, зокрема рН ґрунтів та доступність мікроелементів, впливають на врожайність та якісні показники зерна пшениці [203]. Польові дослідження проведено для вивчення стабільності врожайності різних сортів ярої пшениці, здатності до поглинання Fe, Zn та Cu з ґрунту та подальшого завантаження в зерно за умов різної біодоступності мікроелементів.

Отримані результати показують сортові відмінності врожайності зерна між дослідними ділянками. Середня врожайність у 2017 р. на чорноземах ділянки 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. отримано вищу врожайність на обох ділянках: 71,46 ц/га на ділянці Дмитрів, та – 33,34 ц/га на ділянці Д. Лужок. М'які сорти Оксамит

миронівський та Дубравка виділялись високими показниками врожайності при порівняно невисокій МТЗ на обох дослідних ділянках впродовж двох років досліджень. Встановлено значні позитивні кореляції між такими показниками як ВЗ та КЗК, МТЗ, ВК. За результатами двох років досліджень, встановлено що м'які сорти є врожайнішими, ніж тверді.

Підтверджено залежність концентрації Fe, Zn та Cu в органах пшениці від вмісту їх доступних форм у ґрунті та сорту пшениці. У 2017 р. більшу концентрацію Zn в зерні було встановлено для усіх дослідних сортів на чорноземах карбонатних порід ділянки Дмитрів, яка характеризувалась вищим вмістом доступних форм даного елемента. На ділянці Д. Лужок концентрація Zn в зерні була менша в середньому на 20 %, а вміст доступних форм даного елемента в ґрунті був менший на 24 %. Встановлено вищий вміст Fe для більшості сортів на ділянці Д. Лужок у 2017 р., що пояснюється високою його біодоступністю. Отримано вищі концентрації Cu в зерні на ділянці Д. Лужок у 2017 р., це пояснюється вищою вдвічі біодоступністю Cu. Сорти *T. turgidum* накопичували більше Cu ніж м'які. Низька біодоступність Cu на ділянці Дмитрів може бути зумовлена високим вмістом органічної речовини у ґрунті, яка, як відомо, знижує біодоступність мікроелементів.

У 2018 році, окрім концентрації Fe, Cu та Zn в зерні, нами було визначено їх концентрації в прапорцевих листках, колосах та зародках, для дослідження поглинання та транслокації елементів та їх завантаження в зерно. Встановлено вищі концентрації Zn, для більшості сортів, в прапорцевих листках на ділянці Дмитрів, в колосах та зерні на ділянці Д. Лужок. В середньому, тверді сорти накопичували більше Zn ніж м'які сорти на обох ділянках. Виявлено, що Zn найбільше акумулюється зерні не залежно від сорту пшениці. Окрім того, на ділянці Д. Лужок, для якої встановлено вищу біодоступність всіх мікроелементів, отримано перевищення допустимих норм ГДК Zn в зерні у твердих сортів: МІП Райдужна, Діана, Спадщина, Династія, Тера та Голіковська. На ділянці Д. Лужок концентрація Fe в органах пшениці була в середньому на 30 % вищою, ніж на

ділянці Дмитрів. Для більшості сортів встановлено найвищі концентрації Fe в листках. Не встановлено різниці в розподілі між м'якими та твердими сортами пшениці. Встановлено вищу концентрацію Cu в органах пшениці на ділянці Д. Лужок. На ділянці Дмитрів в середньому концентрація Cu листках на 47 % вища ніж в зерні. Встановлено сильні позитивні залежності на обох дослідних ділянках між концентрацією Fe та Cu в зерні.

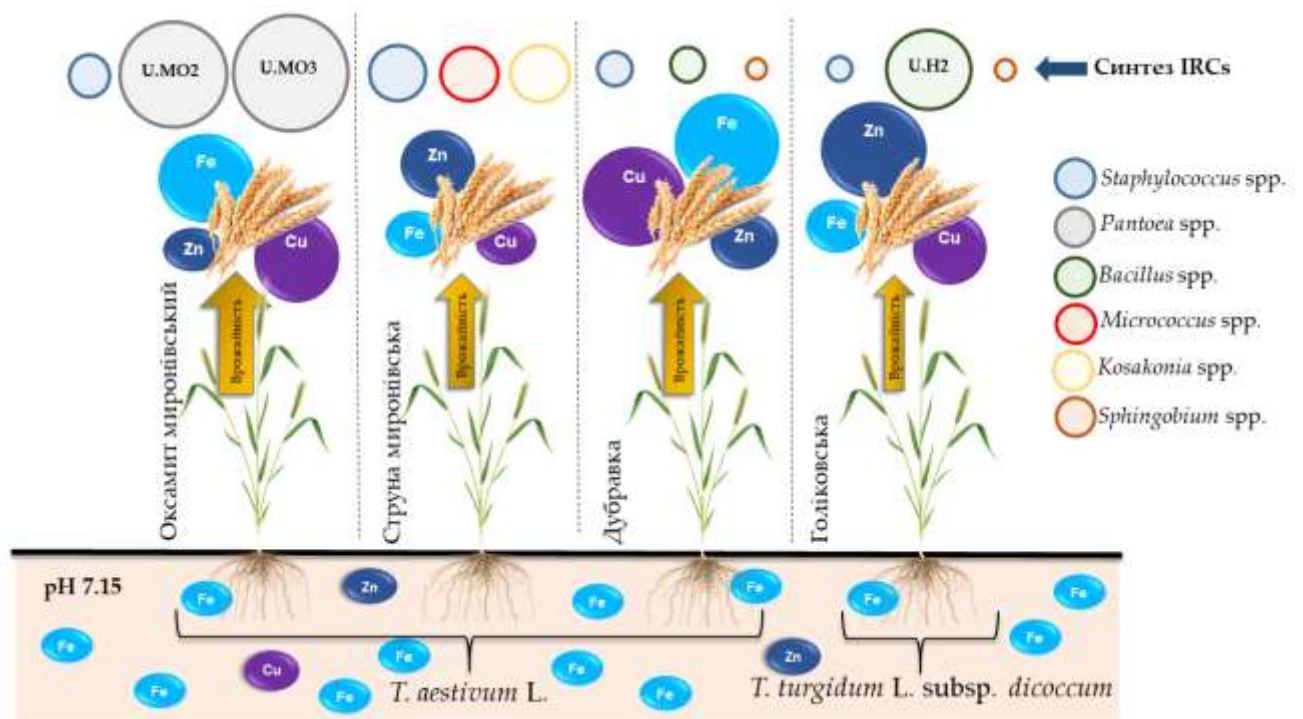
Сорти Панянка, Харківська 30, Оксамит миронівський, Елегія миронівська, Сімкода миронівська, Спадщина, Провінціалка вирізнялись високою здатністю акумулювати Fe, Zn та Cu в зерні на чорноземах карбонатних порід ділянки Дмитрів, яка характеризувалась низькою біодоступністю цих елементів. На дерново-буроземних суглинкових ґрунтах ділянки Д. Лужок, високою здатністю до накопичення Fe, Zn та Cu в зерні виділялись сорти Дубравка, Божена, Династія, Ізольда, Харківська 30, Діана та Голіковська. Сорт Струна миронівська вирізнявся низькою здатністю одночасно акумулювати в зерні Fe, Zn та Cu за різних умов мінерального живлення. Твердий сорт Тера виділявся найвищою здатністю до акумулювання Fe, Zn та Cu в зерні на обох типах ґрунтів.

Враховуючи показники водного режиму, врожайності та її структури, концентрації мікроелементів, коефіцієнту біологічного накопичення, оцінки врожайності з врахуванням мікроелемента та кластерний аналіз обрано контрастні сорти, а саме Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та Голіковська для подальших досліджень. Спостерігалися суттєві відмінності між концентраціями Zn і Cu в зернах досліджуваних генотипів, спричинені низькою біодоступністю цих елементів в ґрунті та ефективністю їх засвоєння обраними сортами.

Згідно з літературними даними, бактеріальні ендофіти можуть служити інструментами для розробки нових стратегій для біофортифікації та підвищення продовольчої безпеки [364; 411]. Встановлено, що мікроорганізми можуть бути використані для підвищення накопичення мікроелементів у зерні основних зернових культур таких як рис та пшениця [301; 311; 364]. Через складність зв'язків

між мікроорганізмами та рослиною на сьогодні необхідні дослідження фундаментальних механізмів, що лежать в основі стимулювання росту рослин RGPB. Тому, ми виділили та ідентифікували ендofітні бактерії зерна з відібраних сортів ярої пшениці, які вирощувались в польових умовах з низькою біодоступністю мікроелементів впродовж двох років експериментів для дослідження вертикальної передачі окремих родів бактерій.

Представлені результати дають нові знання про взаємозв'язки між ендofітними бактеріями зерна, концентраціями Fe, Cu та Zn в зерні та врожайністю ярих сортів *T. aestivum* L. і *T. turgidum* subsp. *dicoccum*, які вирощувалися у польових умовах на ґрунтах з обмеженою біодоступністю цих мікроелементів (рис. 4.1).



**Рис. 4.1.** Бактеріальні ендofіти зерна ярої пшениці, їх здатність до синтезу ауксинів (IRCs) та акумулявання Fe, Cu та Zn в зерні різних сортів за їх низької біодоступності в ґрунті, ділянка Дмитрів (50°13'26.6"N 24°36'50.5"E), 2017 р..

Високоврожайні м'які сорти Дубравка та Оксамит миронівський накопичували в зерні вищі концентрації Fe, Cu та Zn за умов вирощування в на чорноземно-карбонатному ґрунті з високим вмістом органічної речовини.

Врожайність зерна позитивно пов'язана з Cu та Fe і негативно корелювала з концентрацією Zn у зерні досліджуваних генотипів. Сорт полба Голіковська з меншою врожайністю характеризувався високим коефіцієнтом біоаккумуляції Zn та високою концентрацією цього мікроелемента в зерні.

Встановлено, що концентрація мікроелементів в зерні досліджуваних сортів *T. aestivum* і *T. turgidum dicoccum* внутрішньо пов'язана з угрупованнями бактерій, деякі з яких потенційно можуть бути використані як інокулянти PGP для цілей біозбагачення мікроелементами. З зерна пшениці ми ізолювали, культивували та ідентифікували 20 штамів ендofітних бактерій, які належать до родів: *Staphylococcus*, *Pantoea*, *Kosakonia*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Sphingobium*, *Kocuria* та *Corynebacterium*, їх структура для кожного сорту була різною. Нами було вперше виділено та культивовано бактеріальні ендofіти із зерна пшениці *T. turgidum subsp. dicoccum*.

Ідентифіковані штами 2017 року синтезували ауксин-подібні сполуки (IRCs). Найвищий рівень синтезу IRCs встановлено у штамів для *Pantoea* spp. U.MO2 MT302200 і *Pantoea* spp. U.MO3 MT302201. Рослини та мікроорганізми взаємодіють як голобіонт, а не як окремі живі організми, тому синтез IRCs *in vitro* може не відображає синтез *in situ*, який залежить від самої рослини та всієї ендofітної спільноти. Ми не враховували синтез ендogenous ауксинів пшениці, які також є важливим компонентом фітогормонального балансу пшениці. Слід зазначити, що високі концентрації ауксину мають інгібуючу дію, а отже, ендogenous рівень повинен постійно контролюватися рослинами. Тому, значні рівні синтезу IRCs штамами *Pantoea* spp. або/та *Bacillus* spp. можна розглядати як один з факторів впливу на формування врожайності та харчової цінності зерна сорту Оксамит миронівський. IRCs (ауксини), які утворювали ендofітні бактерії роду *Pantoea* spp. U.MO2 і U.MO3 і *Bacillus* spp. U.H2, виділені із зерен сортів Оксамит миронівський та Голіковська, можна вважати одним із визначальних факторів врожайності пшениці та її поживних характеристик. *Pantoea* spp. U.MO2,

U.MO3 та *Bacillus* spp. U.H2 можуть мати особливо високий потенціал як корисні рослинні інокулянти для агроєкосистем з дефіцитом поживних речовин.

Встановлено, що в умовах *in vitro* ендоефіти присутні як у тканинах коренів, так і листків. Цей факт незаперечно доводить, що навіть стерильні зародки пшениці, що ростуть в умовах *in vitro*, не слід розглядати як стерильну нішу, оскільки вони заселені ендоефітним мікробіомом, що передається насінням, який далі транспортується в коріння та листя навіть в умовах *in vitro*. Доведено, що стерильні зародки були початковою точкою формування ендоефітного мікробіому проростків пшениці, вирощеної в стерильних умовах *in vitro*.

Встановлено вертикальну передачу бактерій роду *Staphylococcus* та *Bacillus* оскільки їх вдалось виділити з усіх сортів впродовж двох років досліджень. Вони були ідентифіковані в тканинах проростків всіх дослідних сортів в умовах *in vitro*.

Новизною наших експериментів є виділення бактеріальних ендоефітів з зерна та органів пшениці ярої сортів Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та Голіковська української селекції. Вперше проведено метагеномний аналіз бактеріальних ендоефітів тканин коренів та листків обраних сортів. Окрім того, нами вперше було виділено бактеріальні ендоефіти із зерна та тканин листків та коренів *T. turgidum* subsp. *dicocum*. В результаті метагеномного аналізу тканин коренів та листків проростків пшениці методом NGS, ідентифіковано 14 родів бактерій: *Propionibacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Bradyrhizobium*, *Paracoccus*, *Variovorax*, *Oxalobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia* та *Acinetobacter*.

Більшість виділених і культивованих з пшениці бактерій-ендоефітів, згідно з нашими та літературними даними мають ріст-стимулювальний ефект та здатні підвищувати стійкість рослин пшениці до несприятливих умов середовища (рис. 4.2) [156; 197; 208; 216; 253; 284; 373; 404]. Про те, роль деяких ідентифікованих нами родів бактерій як PGPB для пшениці залишається невідомою. Як показано на рис. 4.2 для родів бактерій отриманих з пшениці властивий синтез ІОК (*Micrococcus*, *Kosakonia*, *Bacillus*, *Pantoea*, *Staphylococcus*, *Kosuria*, *Sphingobium*,

*Erwinia*) та ГК (*Micrococcus*), солубілізація Р (*Micrococcus*, *Bacillus*, *Erwinia*, *Acinetobacter*), К (*Bacillus*) та Zn (*Bacillus*), синтез сидерофорів (*Kosakonia*, *Bacillus*, *Erwinia*), пригнічення росту грибів (*Pantoea*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Kosuria*), висока каталазна (*Bacillus*, *Pantoea*, *Staphylococcus*) та нітратредуктазна активність (*Bacillus*) [156; 197; 208; 216; 253; 284; 373; 404].

Детальний аналіз складу та функцій ендofітного мікробіому пшениці ярої може сприяти розробці нової групи біопрепаратів – фітопробіотиків.



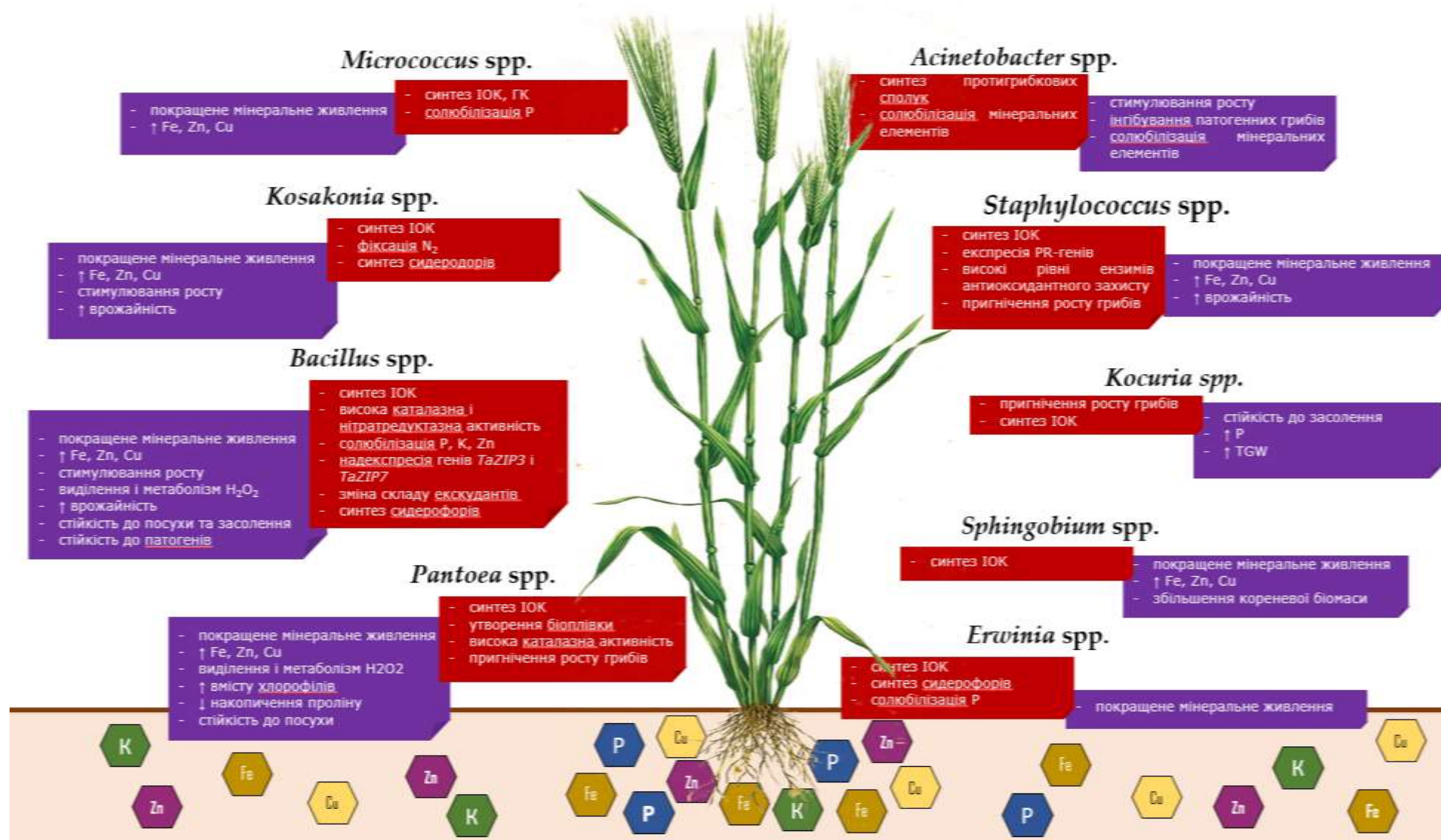


Рис. 4.2. Ефекти взаємодії бактерій-ендофітів з рослинами пшениці.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі, відповідно до поставленої мети, досліджено основи формування якісного врожаю зерна 24-х різних сортів пшениці ярої (*Triticum aestivum* L., *T. durum* Desf., *T. turgidum* subsp. *dicoccum*) в польових умовах, встановлено залежність концентрації Fe, Zn та Cu в органах і зерні пшениці від їх біодоступності в ґрунтах, ідентифіковано бактерії-ендофіти пшениці та проаналізовано їх потенційний вплив на врожайність та якість зерна за умов дефіциту мікроелементів у ґрунті.

1. На прикладі ділянок Дмитрів (чорноземи на елювії карбонатних порід) та Д. Лужок (дерново-буроземні суглинки) показано залежність вмісту доступних форм Fe, Zn та Cu в ґрунті від типу ґрунту, його рН, і вмісту органічної речовини (ОРГ). Встановлено лужний рН ґрунту, високий вміст ОРГ та дефіцит мікроелементів на карбонатних ґрунтах ділянки Дмитрів; та нижчий вміст ОРГ, вищу біодоступність мікроелементів на дерново-буроземних суглинкових ґрунтах ділянки Д. Лужок.
2. Встановлено вищі морфометричні показники рослин пшениці на чорноземах карбонатних порід ділянки Дмитрів, порівняно з ділянкою Д. Лужок. Зокрема, на етапі виходу в трубку відмічено вищу на 24 % висоту надземної частини, на 38 % – площу прапорцевих листків і на 23 % – довжину кореня.
3. Здійснено аналіз посухостійкості рослин досліджуваних сортів пшениці в польових умовах за показниками водного режиму прапорцевих листків – водного дефіциту (WD), відносного вмісту води (RWC), водоутримної здатності у перерахунку на масу (EL WLW) та площу (EL WLA) прапорцевих листків. Найменший WD зафіксовано для м'яких сортів Колективна 3, Елегія миронівська та твердих – Діана, Чадо. Віplot аналіз показав що сорти Жізель, МПП Райдужна, Сімкода миронівська вирізняються відносно високою посухостійкістю та врожайністю. Пшениця полба Голіковська вирізнялась високою водоутримною здатністю листків та показниками врожайності. EL

WLW та EL WLA можна рекомендувати як додаткові показники стійкості до водного дефіциту.

4. Загальний вміст білка в зерні коливався від 8,65 до 17,21 %, вищий показник вмісту виявлено на ділянці з слабо-кислим рН, нижчим вмістом ОРГ та вищою біодоступністю мікроелементів у 2017 році на 28 %. Виокремлено сорти з високим вмістом білків в зерні за різних умов мінерального живлення: Етюд, Колективна 3, Династія, Ізольда та Голіковська. Встановлено позитивні кореляційні зв'язки між загальним вмістом білка та врожайністю зерна на обох дослідних ділянках у 2018 р.
5. Отримано вищу врожайність зерна на дослідній ділянці Дмитрів, у 2017 р. на 67 %, а у 2018 на 53 %. Встановлено вищі показники врожайності для м'яких сортів пшениці. Сорти м'якої пшениці Дубравка, Оксамит миронівський та тверді сорти Чадо, Династія є стійкішими до факторів навколишнього середовища, та мають вищу адаптаційну пластичність до умов вирощування, оскільки показали високі показники врожайності та відносно високу масу 1000 зерен за умов різного забезпечення мінеральними елементами. Отримано позитивні кореляції між врожайністю та елементами її структури, зокрема між врожайністю зерна та кількістю зерен в колосі, масою 1000 зерен, висотою колоса.
6. Досліджено здатність сортів до акумулювання Fe, Zn та Cu в прапорцевих листках та колосах із подальшим їх завантаженням в зерно, залежно від вмісту їх доступних форм в ґрунті. Вищі концентрації Zn в зерні виявлено за умов вищої біодоступності елемента. Вищий вміст Fe та Cu в прапорцевих листках та зерні на ділянці Д. Лужок зумовлений вищою концентрацією доступних форм. За умов вищої біодоступності Fe на ділянці Д. Лужок його концентрація в органах пшениці була в середньому на 30 % вищою. Тверді сорти *T. turgidum* накопичували більше Cu, Zn ніж м'які. Не встановлено відмінностей у накопиченні та розподілі Fe між м'якими та твердими сортами пшениці. Отримано вищу концентрацію Cu в органах пшениці на ділянці Д. Лужок. На ділянці Дмитрів в середньому концентрація Cu листках на 47 % вища ніж в зерні.

- Показано існування сильних позитивних кореляційних зв'язків між концентрацією Fe та Cu в зерні на обох дослідних ділянках.
7. Не рекомендуємо висівати сорти МПП Райдужна, Діана, Спадщина, Династія, Тера та Голіковська на ґрунтах з високою біодоступністю Zn, оскільки у 2018 р. встановлено перевищення допустимих норм ГДК Zn в зерні.
  8. Високими концентраціями Cu та Fe в зерні вирізняються високоврожайні сорти Дубравка та Оксамит миронівський. Найвищі концентрації Fe, Zn та Cu в зародках виявлено у сорту Оксамит миронівський.
  9. Статистичний *biplot* аналіз отриманих даних засвідчив позитивну корелятивну залежність врожайності зерна з кількістю зерен в колосі (КЗК), масою 1000 зерен (МТЗ), концентрацією в зерні Cu і Fe та негативну з концентрацією в зерні Zn. Сорт полба Голіковська вирізнявся здатністю накопичувати високі концентрації Zn при невисокій врожайності.
  10. Ізольовано, культивовано та ідентифіковано 20 штамів ендоефітних бактерій із зерна пшениці сортів Оксамит миронівський, Струна миронівська, Дубравка та Голіковська, які представляли роди *Staphylococcus*, *Pantoea*, *Sphingobium*, *Bacillus*, *Kosakonia*, *Micrococcus*, *Kocuria* та *Corynebacterium*. Ідентифіковані послідовності внесено в базу GenBank під номерами MT302194 – MT302204, MT312840 та OP445710 – OP445717.
  11. Метагеномний аналіз тканин коренів та листків проростків пшениці, вирощених в стерильних умовах *in vitro*, показав наявність 14 родів бактерій: *Propionibacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Veillonella*, *Bradyrhizobium*, *Paracoccus*, *Variovorax*, *Oxalobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia* та *Acinetobacter*. Встановлено можливість вертикальної передачі ендоефітних бактерій родів *Staphylococcus* та *Bacillus*. Вперше виділено та ідентифіковано бактеріальні ендоефіти з зерна та тканин листків та коренів полби *T. turgidum* subsp. *dicocum* сорту Голіковська.
  12. Встановлено здатність культивованих штамів бактерій-ендоефітів до синтезу ауксин-подібних сполук (IRCs). IRCs, продуковані бактеріями *Pantoea* spp.

U.MO2 і U.MO3 та *Bacillus* spp. U.H2 виділені з зерна високоврожайного сорту Оксамит миронівський та сорту полба Голіковська можна вважати одним із визначальних факторів формування врожайності пшениці та її поживних характеристик. Вищезгадані штами можуть мати особливо високий потенціал застосування як корисні інокулянти рослин для агроecosystem із дефіцитом поживних речовин.

13. Порівняно дані щодо концентрації мікроелементів в зерні із врахуванням мінерального складу ґрунту із видовим складом бактеріальних ендofітів і їх здатністю до синтезу IRCs. Встановлено ймовірний вплив ендofітної колонізації на діапазон надходження мікроелементів у рослину, їх доставку до репродуктивних органів та завантаження в зерно.

Представлені результати дають нові знання про зв'язки між ендofітними бактеріями, концентраціями Fe, Cu та Zn в зерні та врожайністю ярих сортів *T. aestivum* і *T. turgidum* subsp. *dicoccum* в умовах польового експерименту на ґрунтах з обмеженою біодоступністю цих мікроелементів. Одержані результати свідчать про перспективність використання штамів *Pantoea* та *Bacillus* spp. для підвищення врожайності та покращення мікроелементного складу зернівки.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Власенко, В. А. (2006). Оцінка адаптивності сортів пшениці м'якої ярої. *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*, 0(4), 93–103. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.4.2006.68043>
2. Демидов, О. А., Хоменко, С. О., Федоренко, І. В., Близнюк, Р. М., Кузьменко, Є. А. (2016). Оцінка адаптивної здатності ліній пшениці ярої в умовах Лісоспеу України. *Селекція та насінництво*, 1(30), 57–61. [https://doi.org/10.21498/2518-1017.1\(30\).2016.61778](https://doi.org/10.21498/2518-1017.1(30).2016.61778)
3. Демидов, О., Кавунець, В., Сіроштан, А., Гудзенко, В., Хоменко, С. (2017). Пшениця м'яка яра потребує уваги. *Пропозиція*, 1, 76–81.
4. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні 2017. (2017). [www.sops.gov.ua](http://www.sops.gov.ua).
5. Жемела Г.П., Бараболя О.В. (2011). Технологія борошномельного та круп'яного виробництва: навчальний посібник для студентів вищих агротехнологічних навчальних закладів. *Полтава*.
6. Любич, В. В., Полянецька, І. О. (2021). Фотосинтетичні параметри посівів пшениці твердої озимої залежно від сорту. *Збірник наукових праць Уманського НУС*, 1(98), 288–298. <https://doi.org/10.31395/2415-8240-2021-98-1-288-298>
7. Макар, О. О., Романюк, Н. Д. (2022). Бактеріальні ендофіти пшениці та їхня роль у покращенні мікроелементного складу зерна. *Біологічні Студії*, 16(3), 101–128. <https://doi.org/10.30970/sbi.1603.692>
8. Марцінішин, Ю. Д., Пида, С. В. (2021). Біохімічний склад зерна пшениці м'якої (*Triticum aestivum* L.) за впливу добрив. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол.*, 81(1–2), 90–98. <https://doi.org/10.25128/2078-2357.21.1-2.12>
9. Михальська, Л. М., Швартау, В. В., Санін, О. Ю., Третьяков, В. О. (2019). Вміст неорганічних елементів у зерні пшениці озимої за контролювання фузаріозу. *Фізіологія рослин і генетика*, 51(5), 399–414. <https://doi.org/10.15407/frg2019.05.399>
10. Моргун, В. В., Прядкіна, Г. О., Стасик, О. О., Зборівська, О. В. (2020). Асиміляційна поверхня агроценозів та врожайність сучасних сортів пшениці озимої за нетипових

погодних умов. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 27, 259–264.  
<https://doi.org/10.7124/FEEO.v27.1335>

11. Моргун, В. В., Прядкіна, Г.О. (2014). Ефективність фотосинтезу і перспективи підвищення продуктивності озимої пшениці. *Фізіологія рослин і генетика*, 46(4).
12. Пасічник, Л.А., Гвоздяк, Р.І., Ходос, С.Ф. (2005). Епіфітна і ендофітна мікрофлора здорового зерна та вегетуючих рослин пшениці. *Вісник ДАУ*, 2, 141–148.
13. Починок, В.М., Кірізій, Д.А. (2010). Продуктивність і якість зерна пшениці у зв'язку з особливостями розподілу азоту в рослині. *Фізіологія і біохімія культурних рослин*, 42(5), 393–402.
14. Рибалка, О. І., Моргун, В. В., Моргун, Б. В., Поліщук, С. С. (2019). Генетичні основи нового напрямку селекції оригінальних за якістю зерна класів пшениці (*Triticum aestivum* L.) і тритикале (*xTriticosecale wittmack*). *Фізіологія рослин і генетика*, 51(3), 207–240. <https://doi.org/10.15407/frg2019.03.207>
15. Русакова, М. Ю., Галкін, Б. М., Філіпова, Т. О., Івах, В. В., Тітлянов, О. О. (2014). Продукція сидерофорів бактеріями роду *Pseudomonas*. *Мікробіологія & Біотехнологія*, 4(28), 88–95. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2014.4\(28\).48430](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2014.4(28).48430)
16. Романюк, Н.Д., Цвілинюк, О.М., Микієвич, І.М., Терек, О.І. (2005). Фізіологія рослин: Навчальний практимум. *Львів*.
17. Хоменко, С. О., Власенко, В. А., Чугункова, Т. В., Федоренко, І. В., Березовський, Д. Ю., Данюк, Т. А. (2019). Створення селекційного матеріалу пшениці м'якої ярої з пшенично-житніми транслокаціями. *Селекція та насінництво*, 15(1), 18–23. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.15.1.2019.162477>
18. Чорний, С. Г. (2018). Оцінка якості ґрунтів: Навчальний посібник. *МНАУ, Миколаїв*, 233.
19. Abaid-Ullah, M., Hassan, M.N., Jamil, M., Brader, G., Shah, M.K.N., Sessitsch, A., Hafeez, F.Y. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria: An alternate way to improve yield and quality of wheat (*Triticum aestivum*). *Int. J. Agric. Biol.*, 17, 51–61.

20. Abdi, H., & Mazandarai, M. T. (2016). Study of Drought Tolerance in Bread Wheat Cultivars Using Biplot. *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*, 2(6). <https://doi.org/10.21276/ijlssr.2016.2.6.2>
21. Aberkane, H., Amri, A., Belkadi, B., Filali-Maltouf, A., Valkoun, J., & Kehel, Z. (2021). Contribution of Wild Relatives to Durum Wheat (*Triticum turgidum* subsp. Durum) Yield Stability across Contrasted Environments. *Agronomy*, 11(10), 1992. <https://doi.org/10.3390/agronomy11101992>
22. Abhinandan, K., Skori, L., Stanic, M., Hickerson, N. M. N., Jamshed, M., & Samuel, M. A. (2018). Abiotic Stress Signaling in Wheat – An Inclusive Overview of Hormonal Interactions During Abiotic Stress Responses in Wheat. *Frontiers in Plant Science*, 9, 734. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00734>
23. Adamczyk-Szabela, D., Markiewicz, J., & Wolf, W. M. (2015). Heavy Metal Uptake by Herbs. IV. Influence of Soil pH on the Content of Heavy Metals in *Valeriana officinalis* L. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226(4), 106. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2360-3>
24. Afridi, M. S., Amna, Sumaira, Mahmood, T., Salam, A., Mukhtar, T., Mehmood, S., Ali, J., ... & Chaudhary, H. J. (2019). Induction of tolerance to salinity in wheat genotypes by plant growth promoting endophytes: Involvement of ACC deaminase and antioxidant enzymes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 569–577. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.041>
25. Ahanger, M. A., Morad-Talab, N., Abd-Allah, E. F., Ahmad, P., & Hajiboland, R. (2016). Plant growth under drought stress: Significance of mineral nutrients. B P. Ahmad (Ред.), *Water Stress and Crop Plants* (c. 649–668). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119054450.ch37>
26. Ahmad, A., Aslam, Z., Naz, M., Hussain, S., Javed, T., Aslam, S., Raza, A., Ali, H. M., ... & Jamal, M. A. (2021). Exogenous salicylic acid-induced drought stress tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown under hydroponic culture. *PLOS ONE*, 16(12), e0260556. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260556>
27. Ahmad, Z., Waraich, E. A., Akhtar, S., Anjum, S., Ahmad, T., Mahboob, W., Hafeez, O. B. A., Tapera, T., Labuschagne, M., & Rizwan, M. (2018). Physiological responses of



- wheat to drought stress and its mitigation approaches. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(4), 80. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2651-6>
28. Ahmadian, K., Jalilian, J., & Pirzad, A. (2021). Nano-fertilizers improved drought tolerance in wheat under deficit irrigation. *Agricultural Water Management*, 244, 106544. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106544>
29. Ajiboye, B., Cakmak, I., Paterson, D., de Jonge, M. D., Howard, D. L., Stacey, S. P., Torun, A. A., Aydin, N., & McLaughlin, M. J. (2015). X-ray fluorescence microscopy of zinc localization in wheat grains biofortified through foliar zinc applications at different growth stages under field conditions. *Plant and Soil*, 392(1–2), 357–370. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2467-8>
30. Akter, N., & Rafiqul Islam, M. (2017). Heat stress effects and management in wheat. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(5), 37. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0443-9>
31. Ali, M. W., & Borrill, P. (2020). Applying genomic resources to accelerate wheat biofortification. *Heredity*, 125(6), 386–395. <https://doi.org/10.1038/s41437-020-0326-8>
32. Allahverdiyev, T.I., Talai, J.M., Huseynova, I.M., & Aliyev, J.A. (2015). Effect of drought stress on some physiological parameters, yield, yield components of durum (*Triticum durum* desf.) and bread (*Triticum aestivum* L.) wheat genotypes. *Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics*, 1(1), 50–62.
33. Alloway, B. J. (2004). Zinc in Soils and Crop Nutrition; *International Zinc Association: Belgium, Brussels*, 30.
34. Alloway, B. J. (2008). Micronutrients and crop production: An Introduction. In *Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production; Alloway, B.J., Ed.; Springer: Dordrecht, The Netherlands*, 1–39.
35. Alloway, B. J. (2009). Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Env. Geochem, and Health*, 31(5), 537–548. <https://doi.org/10.1007/s10653-009-9255-4>
36. Antoine, C., Lullien-Pellerin, V., Abecassis, J., & Rouau, X. (2004). Effect of wheat bran ball-milling on fragmentation and marker extractability of the aleurone layer. *Journal of Cereal Science*, 40(3), 275–282. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2004.08.002>

37. Arzani, A. (2019). Emmer (*Triticum turgidum* ssp. *Dicoccum*) Flour and Bread. B *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention* (c. 89–98). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00007-1>
38. Asaf, S., Khan, M. A., Khan, A. L., Waqas, M., Shahzad, R., Kim, A.-Y., Kang, S.-M., & Lee, I.-J. (2017). Bacterial endophytes from arid land plants regulate endogenous hormone content and promote growth in crop plants: An example of *Sphingomonas* sp. and *Serratia marcescens*. *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 31–38. <https://doi.org/10.1080/17429145.2016.1274060>
39. Aslam, M. U., Raza, M. A. S., Saleem, M. F., Waqas, M., Iqbal, R., Ahmad, S., & Haider, I. (2020). Improving Strategic Growth Stage-based Drought Tolerance in Quinoa by Rhizobacterial Inoculation. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(7), 853–868. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1744634>
40. Asseng, S., Ewert, F., Martre, P., Rötter, R. P., Lobell, D. B., Cammarano, D., Kimball, B. A., ... Zhu, Y. (2015). Rising temperatures reduce global wheat production. *Nature Climate Change*, 5(2), 143–147. <https://doi.org/10.1038/nclimate2470>
41. Athukorala, A. D. S. N. P. (2021). Solubilization of Micronutrients Using Indigenous Microorganisms. (Ред.), *Microbial Technology for Sustainable Environment* (c. 365–417). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-3840-4\\_21](https://doi.org/10.1007/978-981-16-3840-4_21)
42. Bacon, C. W., & Hinton, D. M. (2007). Potential for control of seedling blight of wheat caused by *Fusarium graminearum* and related species using the bacterial endophyte *Bacillus mojavensis*. *Biocontrol Science and Technology*, 17(1), 81–94. <https://doi.org/10.1080/09583150600937006>
43. Bakhtiyarifar, M., Enayatizamir, N., & Mehdi Khanlou, K. (2021). Biochemical and molecular investigation of non-rhizobial endophytic bacteria as potential biofertilisers. *Archives of Microbiol.*, 203(2), 513–521. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02038-z>
44. Balafrej, H., Bogusz, D., Triqui, Z.-E. A., Guedira, A., Bendaou, N., Smouni, A., & Fahr, M. (2020). Zinc Hyperaccumulation in Plants: A Review. *Plants*, 9(5), 562. <https://doi.org/10.3390/plants9050562>

45. Barak, S., Mudgil, D., & Khatkar, B. S. (2015). Biochemical and Functional Properties of Wheat Gliadins: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(3), 357–368. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.654863>
46. Barneix, A. J., & Guitman, M. R. (1993). Leaf Regulation of the Nitrogen Concentration in the Grain of Wheat Plants. *Journal of Experimental Botany*, 44(10), 1607–1612. <https://doi.org/10.1093/jxb/44.10.1607>
47. Barunawati, N., Giehl, R. F. H., Bauer, B., & Wirén, N. von. (2013). The influence of inorganic nitrogen fertilizer forms on micronutrient retranslocation and accumulation in grains of winter wheat. *Frontiers in Plant Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00320>
48. Basu, S., & Kumar, G. (2021). Exploring the significant contribution of silicon in regulation of cellular redox homeostasis for conferring stress tolerance in plants. *Plant Physiol. and Biochem.*, 166, 393–404. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.06.005>
49. Basu, S., Prabhakar, A. A., Kumari, S., Aabha, Kumar, R. R., Shekhar, S., Prakash, K., Singh, ... & Kumar, G. (2022). Micronutrient and redox homeostasis contribute to *Moringa oleifera*-regulated drought tolerance in wheat. *Plant Growth Regulation*. <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00795-z>
50. Battu, L., Reddy, M. M., Goud, B. S., Ulaganathan, K., & Kandasamy, U. (2017). Genome inside genome: NGS based identification and assembly of endophytic *Sphingopyxis granuli* and *Pseudomonas aeruginosa* genomes from rice genomic reads. *Genomics*, 109(3–4), 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2017.02.002>
51. Becker, M., Patz, S., Becker, Y., Berger, B., Drungowski, M., Bunk, B., Overmann, J., ... & Ruppel, S. (2018). Comparative Genomics Reveal a Flagellar System, a Type VI Secretion System and Plant Growth-Promoting Gene Clusters Unique to the Endophytic Bacterium *Kosakonia radicincitans*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1997. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01997>
52. Becker-Reshef, I., Justice, C., Barker, B., Humber, M., Rembold, F., Bonifacio, R., Zappacosta, M., ... Verdin, J. (2020). Strengthening agricultural decisions in countries at

- risk of food insecurity: The GEOGLAM Crop Monitor for Early Warning. *Remote Sensing of Environment*, 237, 111553. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2019.111553>
53. Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. A. H. M. (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science*, 17(8), 478–486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
54. Berger, B., Wiesner, M., Brock, A. K., Schreiner, M., & Ruppel, S. (2015). *K. radicincitans*, a beneficial bacteria that promotes radish growth under field conditions. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(4), 1521–1528. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0324-z>
55. Bernal, M., Casero, D., Singh, V., Wilson, G. T., Grande, A., Yang, H., Dodani, S.C., ... & Krämer, U. (2012). Transcriptome Sequencing Identifies *SPL7* -Regulated Copper Acquisition Genes *FRO4* / *FRO5* and the Copper Dependence of Iron Homeostasis in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 24(2), 738–761. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.090431>
56. Bhatt, R., Hossain, A., & Sharma, P. (2020). Zinc biofortification as an innovative technology to alleviate the zinc deficiency in human health: A review. *Open Agriculture*, 5(1), 176–187. <https://doi.org/10.1515/opag-2020-0018>
57. Bianco, C., Imperlini, E., Calogero, R., Senatore, B., Amoresano, A., Carpentieri, A., & Defez, R. (2006). Indole-3-acetic acid improves *Escherichia coli*'s defences to stress. *Arch. of Microbiol.*, 185(5), 373–382. <https://doi.org/10.1007/s00203-006-0103-y>
58. Biesaga-Kościelniak, J., Ostrowska, A., Filek, M., Dziurka, M., Waligórski, P., Mirek, M., & Kościelniak, J. (2014). Evaluation of Spring Wheat (20 Varieties) Adaptation to Soil Drought during Seedlings Growth Stage. *Agriculture*, 4(2), 96–112. <https://doi.org/10.3390/agriculture4020096>
59. Bodhankar, S., Grover, M., Hemanth, S., Reddy, G., Rasul, S., Yadav, S. K., Desai, S., Mallappa, M., Mandapaka, M., & Srinivasarao, Ch. (2017). Maize seed endophytic bacteria: Dominance of antagonistic, lytic enzyme-producing *Bacillus* spp. *3 Biotech*, 7(4), 232. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0860-0>

60. Brader, G., Compant, S., Mitter, B., Trognitz, F., & Sessitsch, A. (2014). Metabolic potential of endophytic bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 27, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.09.012>
61. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.*, 72(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
62. Brady, C., Cleenwerck, I., Venter, S., Coutinho, T., & De Vos, P. (2013). Taxonomic evaluation of the genus *Enterobacter* based on multilocus sequence analysis (MLSA): Proposal to reclassify *E. nimipressuralis* and *E. amnigenus* into *Lelliottia* gen. nov. as *Lelliottia nimipressuralis* comb. nov. and *Lelliottia amnigena* comb. nov., respectively, *E. gergoviae* and *E. pyrinus* into *Pluralibacter* gen. nov. as *Pluralibacter gergoviae* comb. nov. and *Pluralibacter pyrinus* comb. nov., respectively, *E. cowanii*, *E. radicincitans*, *E. oryzae* and *E. arachidis* into *Kosakonia* gen. nov. as *Kosakonia cowanii* comb. nov., *Kosakonia radicincitans* comb. nov., *Kosakonia oryzae* comb. nov. and *Kosakonia arachidis* comb. nov., respectively, and *E. turicensis*, *E. helveticus* and *E. pulveris* into *Cronobacter* as *Cronobacter zurichensis* nom. nov., *Cronobacter helveticus* comb. nov. and *Cronobacter pulveris* comb. nov., respectively, and emended description of the genera *Enterobacter* and *Cronobacter*. *Systematic and Applied Microbiology*, 36(5), 309–319. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2013.03.005>
63. Brandolini, A., & Hidalgo, A. (2012). Wheat germ: Not only a by-product. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(sup1), 71–74. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.633898>
64. Broadley, M. R., White, P. J., Hammond, J. P., Zelko, I., & Lux, A. (2007). Zinc in plants. *New Phytologist*, 173(4), 677–702. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.01996.x>
65. Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z., & Zhao, F. (2012). Function of Nutrients. B *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants* (c. 191–248). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00007-8>

66. Broadley, M.; Brown, P.; Cakmak, I.; Rengel, Z.; Zhao, F. (2021). Function of nutrients. In Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. *Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2021; pp. 191–248.*
67. Brosnan, J. T., & Brosnan, M. E. (2006). The sulfur-containing amino acids: An Overview. *The J. of Nutr.*, 136(6), 1636S-1640S. <https://doi.org/10.1093/jn/136.6.1636S>
68. Bulgarelli, D., Rott, M., Schlaeppi, K., Ver Loren van Themaat, E., Ahmadinejad, N., Assenza, F., Rauf, P., Huettel, B., Reinhardt, R., Schmelzer, E., Peplies, J., Gloeckner, F. O., Amann, R., Eickhorst, T., & Schulze-Lefert, P. (2012). Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*, 488(7409), 91–95. <https://doi.org/10.1038/nature11336>
69. Burkhead, J. L., Gogolin Reynolds, K. A., Abdel-Ghany, S. E., Cohu, C. M., & Pilon, M. (2009). Copper homeostasis. *New Phytologist*, 182(4), 799–816. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02846.x>
70. Buttar, Z. A., Wu, S. N., Arnao, M. B., Wang, C., Ullah, I., & Wang, C. (2020). Melatonin suppressed the heat stress-induced damage in wheat seedlings by modulating the antioxidant machinery. *Plants*, 9(7), 809. <https://doi.org/10.3390/plants9070809>
71. Cagnarini, C., Lofts, S., D'Acqui, L. P., Mayer, J., Grüter, R., Tandy, S., Schulin, R., Costerousse, B., Orlandini, S., & Renella, G. (2020). Modelling of long term Zn, Cu, Cd, Pb dynamics from soils fertilized with organic amendments. *Soils and biogeochemical cycling*. <https://doi.org/10.5194/soil-2020-21>
72. Cakmak, I. (2008). Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*, 302(1–2), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9466-3>
73. Cakmak, I., Kalayci, M., Kaya, Y., Torun, A. A., Aydin, N., Wang, Y., Arisoy, Z., ... & Horst, W. J. (2010). Biofortification and Localization of Zinc in Wheat Grain. *J. of Agric. and Food Chem.*, 58(16), 9092–9102. <https://doi.org/10.1021/jf101197h>
74. Cakmak, I., Pfeiffer, W. H., & McClafferty, B. (2010). REVIEW: Biofortification of Durum Wheat with Zinc and Iron. *Cereal Chemistry Journal*, 87(1), 10–20. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-87-1-0010>

75. Cakmak, I., Torun, A., Millet, E., Feldman, M., Fahima, T., Korol, A., Nevo, E., Braun, H. J., & Özkan, H. (2004). *Triticum dicoccoides*: An important genetic resource for increasing zinc and iron concentration in modern cultivated wheat. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50(7), 1047–1054. <https://doi.org/10.1080/00380768.2004.10408573>
76. Carolina, K. K., Felipe, I. de S. F., Eny, I. S. F., Marcos, P. M. A., & Heloiza, R. B. (2018). Sugarcane growth promotion by *Kosakonia* sp. ICB117 an endophytic and diazotrophic bacterium. *African Journal of Microbiology Research*, 12(5), 105–114. <https://doi.org/10.5897/AJMR2017.8738>
77. Carroll, G.C., Petrini, O. (1983). Patterns of substrate utilization by some endophytes from coniferous foliage. *Mycologia*, 75, 53–63.
78. Chakravorty, S., Helb, D., Burday, M., Connell, N., & Alland, D. (2007). A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 69(2), 330–339. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.02.005>
79. Chandra, D., & Islam, M.A. (2003). Genetic variation and heritability of excised-leaf water loss and its relationship with yield and yield components of F5 bulks in five wheat crosses. *J. of Biol. Sci.*, 3(11), 1032–1039. <https://doi.org/10.3923/jbs.2003.1032.1039>
80. Chandrasekar, V., K. Sairam, R., & Srivastava, G. C. (2000). Physiological and Biochemical Responses of Hexaploid and Tetraploid Wheat to Drought Stress. *J. of Agr. and Crop Sci.*, 185(4), 219–227. <https://doi.org/10.1046/j.1439-037x.2000.00430.x>
81. Chanway, C.P. (1998). Bacterial endophytes: Ecological and practical implications. *Sydowia*, 50(2), 149–170.
82. Chatrath, R., Gupta, V., Parkash, O., & Singh, G. P. (2018). Evaluation of biofortified spring wheat genotypes for yield and micronutrients. *Journal of Applied and Natural Science*, 10(1), 210–215. <https://doi.org/10.31018/jans.v10i1.1606>
83. Chatzav, M., Peleg, Z., Ozturk, L., Yazici, A., Fahima, T., Cakmak, I., & Saranga, Y. (2010). Genetic diversity for grain nutrients in wild emmer wheat: Potential for wheat improvement. *Annals of Bot.*, 105(7), 1211–1220. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq024>

84. Chee-Sanford, J. C., Williams, M. M., Davis, A. S., & Sims, G. K. (2006). Do microorganisms influence seed-bank dynamics? *Weed Science*, 54(3), 575–587. <https://doi.org/10.1614/WS-05-055R.1>
85. Chen, B., Shen, J., Zhang, X., Pan, F., Yang, X., & Feng, Y. (2014). The Endophytic Bacterium, *Sphingomonas* SaMR12, Improves the Potential for Zinc Phytoremediation by Its Host, *Sedum alfredii*. *PLoS ONE*, 9(9), e106826. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106826>
86. Chen, C., Xin, K., Liu, H., Cheng, J., Shen, X., Wang, Y., & Zhang, L. (2017). *Pantoea alhagi*, a novel endophytic bacterium with ability to improve growth and drought tolerance in wheat. *Scientific Reports*, 7(1), 41564. <https://doi.org/10.1038/srep41564>
87. Chen, X., Min, D., Yasir, T. A., & Hu, Y.-G. (2012). Evaluation of 14 morphological, yield-related and physiological traits as indicators of drought tolerance in Chinese winter bread wheat revealed by analysis of the membership function value of drought tolerance (MFVD). *Field Crops Research*, 137, 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.09.008>
88. Cheng, C., Wang, R., Sun, L., He, L., & Sheng, X. (2021). Cadmium-resistant and arginine decarboxylase-producing endophytic *Sphingomonas* sp. C40 decreases cadmium accumulation in host rice (*Oryza sativa* Cliangyou 513). *Chemosphere*, 275, 130109. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130109>
89. Cherif-Silini, H., Silini, A., Yahiaoui, B., Ouzari, I., & Boudabous, A. (2016). Phylogenetic and plant-growth-promoting characteristics of *Bacillus* isolated from the wheat rhizosphere. *Annals of Microbiology*, 66(3), 1087–1097. <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1194-6>
90. Cherif-Silini, H., Thissera, B., Bouket, A. C., Saadaoui, N., Silini, A., Eshelli, M., ... & Belbahri, L. (2019). Durum wheat stress tolerance induced by endophyte *pantoea* agglomerans with genes contributing to plant functions and secondary metabolite arsenal. *Int. J. of Molec. Sci.*, 20(16), 3989. <https://doi.org/10.3390/ijms20163989>
91. Chouhan, G. K., Verma, J. P., Jaiswal, D. K., Mukherjee, A., Singh, S., de Araujo Pereira, ... & Singh, B. K. (2021). Phytomicrobiome for promoting sustainable agriculture and



- food security: Opportunities, challenges, and solutions. *Microbiological Research*, 248, 126763. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126763>
92. Christopher, A., Sarkar, D., Zwinger, S., & Shetty, K. (2018). Ethnic food perspective of North Dakota common emmer wheat and relevance for health benefits targeting type 2 diabetes. *J. of Ethnic Foods*, 5(1), 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.jef.2018.01.002>
93. Clarke, J. M., & McCaig, T. N. (1982). Excised-leaf water retention capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. *Canadian Journal of Plant Science*, 62(3), 571–578. <https://doi.org/10.4141/cjps82-086>
94. Clarke, J. M., McCaig, T. N., DePauw, R. M., Knox, R. E., Clarke, F. R., Fernandez, M. R., & Ames, N. P. (2005). Strongfield durum wheat. *Canadian Journal of Plant Science*, 85(3), 651–654. <https://doi.org/10.4141/P04-119>
95. Colangelo, E. P., & Guerinot, M. L. (2006). Put the metal to the petal: Metal uptake and transport throughout plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 322–330. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.015>
96. Combs, S.M. and M.V. Nathan. (1998). *Soil organic matter. In Recommended chemical soil test procedures for the North Central Region. Missouri Agricultural Experiment Station SB 1001.*
97. Comby, M., Gacoin, M., Robineau, M., Rabenoelina, F., Ptas, S., Dupont, J., Profizi, C., & Baillieul, F. (2017). Screening of wheat endophytes as biological control agents against Fusarium head blight using two different in vitro tests. *Microbiological Research*, 202, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.04.014>
98. Compant, S., Cambon, M. C., Vacher, C., Mitter, B., Samad, A., & Sessitsch, A. (2021). The plant endosphere world – bacterial life within plants. *Environmental Microbiology*, 23(4), 1812–1829. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15240>
99. Compant, S., Mitter, B., Colli-Mull, J. G., Gangl, H., & Sessitsch, A. (2011). Endophytes of grapevine flowers, berries, and seeds: identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization. *Microbial Ecology*, 62(1), 188–197. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9883-y>

100. Conte, S. S., & Walker, E. L. (2011). Transporters contributing to Iron trafficking in plants. *Molecular Plant*, 4(3), 464–476. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr015>
101. Cope-Selby, N., Cookson, A., Squance, M., Donnison, I., Flavell, R., & Farrar, K. (2017). Endophytic bacteria in *Miscanthus* seed: Implications for germination, vertical inheritance of endophytes, plant evolution and breeding. *GCB Bioenergy*, 9(1), 57–77. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12364>
102. Cordovez, V., Dini-Andreote, F., Carrión, V. J., & Raaijmakers, J. M. (2019). Ecology and Evolution of Plant Microbiomes. *Annual Review of Microbiology*, 73(1), 69–88. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090817-062524>
103. Cu, S. T., Guild, G., Nicolson, A., Velu, G., Singh, R., & Stangoulis, J. (2020). Genetic dissection of zinc, iron, copper, manganese and phosphorus in wheat (*Triticum aestivum* L.) grain and rachis at two developmental stages. *Plant Science*, 291, 110338. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110338>
104. Curie, C., Cassin, G., Couch, D., Divol, F., Higuchi, K., Le Jean, M., Misson, J., Schikora, A., Czernic, P., & Mari, S. (2009). Metal movement within the plant: Contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. *Annals of Botany*, 103(1), 1–11. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn207>
105. Curie, C., Panaviene, Z., Loulergue, C., Dellaporta, S. L., Briat, J.-F., & Walker, E. L. (2001). Maize yellow stripe1 encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake. *Nature*, 409(6818), 346–349. <https://doi.org/10.1038/35053080>
106. Curtin, D., Martin, R. J., & Scott, C. L. (2008). Wheat (*Triticum aestivum*) response to micronutrients (Mn, Cu, Zn, B) in Canterbury, New Zealand. *NZ J. of Crop and Horticultural Sci.*, 36(3), 169–181. <https://doi.org/10.1080/01140670809510233>
107. Cuthbert, J. L., Somers, D. J., Brûlé-Babel, A. L., Brown, P. D., & Crow, G. H. (2008). Molecular mapping of quantitative trait loci for yield and yield components in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 117(4), 595–608. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0804-5>
108. Cvijanović, V., Cvijanović, G., Rajičić, V., Marinković, J., Đukić, V., Bajagić, M., & Đurić, N. (2022). Influence of different methods of application of effective

- microorganisms in nutrition of wheat on weight by 1000 grains, yield, and content of crude wheat proteins (*Triticum* sp). *Cereal Research Communications*. <https://doi.org/10.1007/s42976-021-00226-1>
109. Czyczyło-Mysza, I. M., Marcińska, I., Skrzypek, E., Bocianowski, J., ... & Quarrie, S. A. (2018). Genetic analysis of water loss of excised leaves associated with drought tolerance in wheat. *PeerJ*, 6, e5063. <https://doi.org/10.7717/peerj.5063>
110. da Silva Izamar Ciríac, Rejane Jurema Mansur Custódio Nogueira, Marcelle Almeida da Silva, Manoel Bandeira de Albuquerque. (2011). Drought stress and plant nutrition. *Plant Stress: Global Science Books*, 5(1), 32–41.
111. da Silva, M. F., de Souza Antônio, C., de Oliveira, P. J., Xavier, G. R., Rumjanek, ... & Reis, V. M. (2012). Survival of endophytic bacteria in polymer-based inoculants and efficiency of their application to sugarcane. *Plant and Soil*, 356(1–2), 231–243. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1242-3>
112. Daba, N. A., Li, D., Huang, J., Han, T., Zhang, L., Ali, S., Khan, M. N., Du, J., Liu, S., ... & Wang, B. (2021). Long-term fertilization and lime-induced soil pH changes affect nitrogen use efficiency and grain yields in acidic soil under wheat-maize rotation. *Agronomy*, 11(10), 2069. <https://doi.org/10.3390/agronomy11102069>
113. Daryanto, S., Wang, L., & Jacinthe, P.-A. (2016). Global synthesis of drought effects on maize and wheat production. *PLOS ONE*, 11(5), e0156362. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156362>
114. Das, S., Chaki, A. K., & Hossain, A. (2019). Breeding and agronomic approaches for the biofortification of zinc in wheat (*Triticum aestivum* L.) to combat zinc deficiency in millions of a population: A Bangladesh perspective. *Acta Agrobotanica*, 72(2). <https://doi.org/10.5586/aa.1770>
115. Dastager, S. G., Deepa, C. K., & Pandey, A. (2010). Isolation and characterization of novel plant growth promoting *Micrococcus* sp NII-0909 and its interaction with cowpea. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 987–992. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.09.006>

116. De Bary A. (1884). *Vergleichende morphologie und biologie der pilze mycetozen und bacterien*. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig.
117. Deroo, W., De Troyer, L., Dumoulin, F., De Saeger, S., De Boevre, M., Vandenaabeele, S., ... & Audenaert, K. (2022). A novel in planta enrichment method employing fusarium graminearum-infected wheat spikes to select for competitive biocontrol bacteria. *Toxins*, 14(3), 222. <https://doi.org/10.3390/toxins14030222>
118. Devi, R., Kaur, T., Kour, D., Yadav, A. N., & Suman, A. (2022). Potential applications of mineral solubilizing rhizospheric and nitrogen fixing endophytic bacteria as microbial consortium for the growth promotion of chilli (*Capsicum annum* L.). *Biologia*. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01127-2>
119. Dhaliwal, S. S., Sharma, V., Shukla, A. K., Verma, V., Kaur, M., Shivay, Y. S., Nisar, S., ... & Hossain, A. (2022). Biofortification—A Frontier Novel Approach to Enrich Micronutrients in Field Crops to Encounter the Nutritional Security. *Molecules*, 27(4), 1340. <https://doi.org/10.3390/molecules27041340>
120. Díaz Herrera, S., Grossi, C., Zawoznik, M., & Groppa, M. D. (2016). Wheat seeds harbour bacterial endophytes with potential as plant growth promoters and biocontrol agents of *Fusarium graminearum*. *Microbiological Research*, 186–187, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.03.002>
121. Dif, G., Belaouni, H. A., Goudjal, Y., Yekkour, A., Djemouai, N., & Zitouni, A. (2021). Potential for plant growth promotion of *Kocuria arsenatis* Strain ST19 on tomato under salt stress conditions. *South African Journal of Botany*, 138, 94–104. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.12.014>
122. Ding, T., & Melcher, U. (2016). Influences of Plant Species, Season and Location on Leaf Endophytic Bacterial Communities of Non-Cultivated Plants. *PLOS ONE*, 11(3), e0150895. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150895>
123. Doolotkeldieva, T. D. (2010). Microbiological Control of Flour-Manufacture: Dissemination of Mycotoxins Producing Fungi in Cereal Products. *Microbiology Insights*, 3, MBI.S3822. <https://doi.org/10.4137/MBI.S3822>

124. Duba, A., Goriewa-Duba, K., & Wachowska, U. (2019). Trichothecene Genotypes Analysis of Fusarium Isolates from di-, tetra- and Hexaploid Wheat. *Agronomy*, 9(11), 698. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110698>
125. Dudeja, S. S., Suneja-Madan, P., Paul, M., Maheswari, R., & Kothe, E. (2021). Bacterial endophytes: Molecular interactions with their hosts. *Journal of Basic Microbiology*, 61(6), 475–505. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000657>
126. Durmaz, E., Coruh, C., Dinler, G., Grusak, M. A., Peleg, Z., Saranga, Y., Fahima, T., ... & Budak, H. (2011). Expression and Cellular Localization of ZIP1 Transporter Under Zinc Deficiency in Wild Emmer Wheat. *Plant Molecular Biology Reporter*, 29(3), 582–596. <https://doi.org/10.1007/s11105-010-0264-3>
127. Dutkiewicz, J., Mackiewicz, B., Lemieszek, M. K., Golec, M., & Milanowski, J. (2016). *Pantoea agglomerans*: A mysterious bacterium of evil and good. Part IV. Beneficial effects. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 23(2), 206–222. <https://doi.org/10.5604/12321966.1203879>
128. Edwards, J., Johnson, C., Santos-Medellín, C., Lurie, E., Podishetty, N. K., Bhatnagar, S., Eisen, J. A., & Sundaresan, V. (2015). Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(8). <https://doi.org/10.1073/pnas.1414592112>
129. Eevers, N., Beckers, B., Op de Beeck, M., White, J. C., Vangronsveld, J., & Weyens, N. (2016). Comparison between cultivated and total bacterial communities associated with Cucurbita pepo using cultivation-dependent techniques and 454 pyrosequencing. *Systematic and Applied Microbiology*, 39(1), 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2015.11.001>
130. Eftekhari, A., Baghizadeh, A., Yaghoobi, M. M., & Abdolshahi, R. (2017). Differences in the drought stress response of *DREB2* and *CAT1* genes and evaluation of related physiological parameters in some bread wheat cultivars. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 1–8. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1316214>

131. Eide, D. J. (2006). Zinc transporters and the cellular trafficking of zinc. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1763(7), 711–722. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.03.005>
132. Eisenmenger, M., & Dunford, N. T. (2008). Bioactive Components of Commercial and Supercritical Carbon Dioxide Processed Wheat Germ Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(1), 55–61. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1163-0>
133. Ek-Ramos, M. J., Gomez-Flores, R., Orozco-Flores, A. A., Rodríguez-Padilla, C., González-Ochoa, G., & Tamez-Guerra, P. (2019). Bioactive Products From Plant-Endophytic Gram-Positive Bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 10, 463. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00463>
134. El-Metwally, A., Khalil, N., El-Fouly, M., & El-Dahshouri, M. (2012). Growth, nutrients uptake and grain yield of some wheat cultivars as affected by zinc application under sandy soil conditions. *Journal of Plant Production*, 3(5), 773–783. <https://doi.org/10.21608/jpp.2012.84224>
135. El-Sarag, E. I., & Ismaeil, R. I. M. (2013). Evaluation of some Bread Wheat Cultivars Productivity as Affected by Sowing Dates and Water Stress in Semi-arid Region. *Asian J. of Crop Sci.*, 5(2), 167–178. <https://doi.org/10.3923/ajcs.2013.167.178>
136. Emami, S., Alikhani, H. A., Pourbabaei, A. A., Etesami, H., Sarmadian, F., & Motessharezadeh, B. (2019). Effect of rhizospheric and endophytic bacteria with multiple plant growth promoting traits on wheat growth. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(19), 19804–19813. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05284-x>
137. Epstein, E.; Bloom, A.J. (2005). Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives, 2nd ed.. *Sinauer Associates, Incorporated: Sunderland, MA, USA, 2005.*
138. Evens, N. P., Buchner, P., Williams, L. E., & Hawkesford, M. J. (2017). The role of ZIP transporters and group F bZIP transcription factors in the Zn-deficiency response of wheat. *The Plant Journal*, 92(2), 291–304. <https://doi.org/10.1111/tpj.13655>
139. Fan, K., Weisenhorn, P., Gilbert, J. A., Shi, Y., Bai, Y., & Chu, H. (2018). Soil pH correlates with the co-occurrence and assemblage process of diazotrophic communities

- in rhizosphere and bulk soils of wheat fields. *Soil Biology and Biochemistry*, 121, 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.03.017>
140. Fan, Y., Ma, C., Huang, Z., Abid, M., Jiang, S., Dai, T., Zhang, W., Ma, S., Jiang, D., & Han, X. (2018). Heat priming during early reproductive stages enhances thermo-tolerance to post-anthesis heat stress via improving photosynthesis and plant productivity in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 9, 805. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00805>
141. FAOSTAT. Food and agriculture organization of the united nations. Food Agric data. (2020) <http://www.fao.org/faostat/en/#data>.
142. Fasim, F., Ahmed, N., Parsons, R., & Gadd, G. M. (2002). Solubilization of zinc salts by a bacterium isolated from the air environment of a tannery. *FEMS Microbiology Letters*, 213(1), 1–6. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11277.x>
143. Feng, J.-Y., Xu, L., Tang, S.-K., & Sun, J.-Q. (2022). *Corynebacterium kalidii* sp. Nov, an endophyte from a shoot of the halophyte *Kalidium cuspidatum*. *Archives of Microbiology*, 204(8), 471. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03101-7>
144. Ferreira, A., Quecine, M. C., Lacava, P. T., Oda, S., Azevedo, J. L., & Araújo, W. L. (2008). Diversity of endophytic bacteria from *Eucalyptus* species seeds and colonization of seedlings by *Pantoea agglomerans*. *FEMS Microbiology Letters*, 287(1), 8–14. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01258.x>
145. Fowler, D. B. (2003). Crop Nitrogen demand and grain protein concentration of spring and winter wheat. *Agronomy J.*, 95(2), 260–265. <https://doi.org/10.2134/agronj2003.2600>
146. Frauenlob, J., Moriano, M. E., Innerkofler, U., D’Amico, S., Lucisano, M., & Schoenlechner, R. (2017). Effect of physicochemical and empirical rheological wheat flour properties on quality parameters of bread made from pre-fermented frozen dough. *Journal of Cereal Science*, 77, 58–65. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.06.021>
147. Frey, S. D. (2019). Mycorrhizal Fungi as Mediators of Soil Organic Matter Dynamics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 50(1), 237–259. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062331>

148. Friesen, M. L., Porter, S. S., Stark, S. C., von Wettberg, E. J., Sachs, J. L., & Martinez-Romero, E. (2011). Microbially Mediated Plant Functional Traits. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 42(1), 23–46. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145039>
149. Galanakis, C. M. (Ред.). (2021). Trends in wheat and bread making. Academic Press, an imprint of Elsevier.
150. Gangloff, W. J., Westfall, D. G., Peterson, G. A., & Mortvedt, J. J. (2006). Mobility of Organic and Inorganic Zinc Fertilizers in Soils. *Commun. in Soil Science and Plant Analysis*, 37(1–2), 199–209. <https://doi.org/10.1080/00103620500403200>
151. Gao, Y., Zhang, H., Su, F., Tian, Y., & Chen, J. (2012). Environmental Occurrence and Distribution of Short Chain Chlorinated Paraffins in Sediments and Soils from the Liaohe River Basin, P. R. China. *Environmental Science & Technology*, 46(7), 3771–3778. <https://doi.org/10.1021/es2041256>
152. Garnett, T. P., & Graham, R. D. (2005). Distribution and remobilization of Iron and Copper in wheat. *Annals of Botany*, 95(5), 817–826. <https://doi.org/10.1093/aob/mci085>
153. Garnica, M., Bacaicoa, E., Mora, V., San Francisco, S., Baigorri, R., Zamarreño, A. M., & Garcia-Mina, J. M. (2018). Shoot iron status and auxin are involved in iron deficiency-induced phytosiderophores release in wheat. *BMC Plant Biology*, 18(1), 105. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1324-3>
154. Gauley, A., & Boden, S. A. (2021). Stepwise increases in *FTI* expression regulate seasonal progression of flowering in wheat (*Triticum aestivum*). *New Phytologist*, 229(2), 1163–1176. <https://doi.org/10.1111/nph.16910>
155. Gdanetz, K., & Trail, F. (2017). The Wheat Microbiome Under Four Management Strategies, and Potential for Endophytes in Disease Protection. *Phytobiomes J.*, 1(3), 158–168. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-05-17-0023-R>
156. Gerna, D., Roach, T., Mitter, B., Stöggl, W., & Kranner, I. (2020). Hydrogen Peroxide Metabolism in Interkingdom Interaction Between Bacteria and Wheat Seeds



- and Seedlings. *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, 33(2), 336–348. <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-19-0248-R>
157. Gilbert, S., Xu, J., Acosta, K., Poulev, A., Lebeis, S., & Lam, E. (2018). Bacterial Production of Indole Related Compounds Reveals Their Role in Association Between Duckweeds and Endophytes. *Frontiers in Chemistry*, 6, 265. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00265>
158. Gillies, S. A., Futardo, A., & Henry, R. J. (2012). Gene expression in the developing aleurone and starchy endosperm of wheat: Aleurone and endosperm transcriptome comparison. *Plant Biotechnology Journal*, 10(6), 668–679. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2012.00705.x>
159. Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169(1), 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>
160. Gordon, S. A., & Weber, R. P. (1951). Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiology*, 26(1), 192–195. <https://doi.org/10.1104/pp.26.1.192>
161. Gouda, S., Das, G., Sen, S. K., Shin, H.-S., & Patra, J. K. (2016). Endophytes: A Treasure House of Bioactive Compounds of Medicinal Importance. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01538>
162. Gross, H., & Loper, J. E. (2009). Genomics of secondary metabolite production by *Pseudomonas* spp. *Natural Product Reports*, 26(11), 1408. <https://doi.org/10.1039/b817075b>
163. Guerinot, M. L., & Yi, Y. (1994). Iron: Nutritious, Noxious, and Not Readily Available. *Plant Physiology*, 104(3), 815–820. <https://doi.org/10.1104/pp.104.3.815>
164. Gupta, O. P., Singh, A. K., Singh, A., Singh, G. P., Bansal, K. C., & Datta, S. K. (2022). Wheat Biofortification: Utilizing Natural Genetic Diversity, Genome-Wide Association Mapping, Genomic Selection, and Genome Editing Technologies. *Frontiers in Nutrition*, 9, 826131. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.826131>

165. Gupta, P. K., Balyan, H. S., Sharma, S., & Kumar, R. (2021). Biofortification and bioavailability of Zn, Fe and Se in wheat: Present status and future prospects. *Theoretical and Applied Genetics*, 134(1), 1–35. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03709-7>
166. Haidar, B., Ferdous, M., Fatema, B., Ferdous, A. S., Islam, M. R., & Khan, H. (2018). Population diversity of bacterial endophytes from jute (*Corchorus olitorius*) and evaluation of their potential role as bioinoculants. *Microbiological Research*, 208, 43–53. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.008>
167. Haider, I., Raza, M. A. S., Iqbal, R., Aslam, M. U., Habib-ur-Rahman, M., Raja, S., ... & Ahmad, S. (2020). Potential effects of biochar application on mitigating the drought stress implications on wheat (*T. aestivum* L.) under various growth stages. *J. of Saudi Chemical Society*, 24(12), 974–981. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2020.10.005>
168. Haile, T. (2022). Genetic variability, divergence, and path coefficient analysis of yield and yield related traits of Durum wheat (*Triticum turgidum* l. Var. Durum) genotypes at Jamma district, south wollo zone, amhara region, Ethiopia. *J. of Plant Sci. and Phytopath.*, 6(2), 075–083. <https://doi.org/10.29328/journal.jpssp.1001078>
169. Hailegiorgis, D., Mekonnen, F., Hailu, F., Lee, C. A., & Yun, S. J. (2020). Composition and Molecular Weight Distribution of Albumin and Globulin Protein Isolates from Durum Wheat Genotypes. *American Journal of Plant Sciences*, 11(02), 137–147. <https://doi.org/10.4236/ajps.2020.112011>
170. Hajiboland, R., & Farhanghi, F. (2011). Effect of low boron supply in turnip plants under drought stress. *Biol. plantarum*, 55(4). <https://doi.org/10.1007/s10535-011-0186-4>
171. Hamby, R. K., & Zimmer, E. A. (1992). Ribosomal RNA as a Phylogenetic Tool in Plant Systematics. *Molecular Systematics of Plants* (c. 50–91). Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3276-7\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3276-7_4)
172. Hänsch, R., & Mendel, R. R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.05.006>

173. Harasim, E., & Wesołowski, M. (2013). Yield and some quality traits of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) grain as influenced by the application of different rates of nitrogen. *Acta Agrobotanica*, 66(3), 67–72. <https://doi.org/10.5586/aa.2013.039>
174. Hardoim, P. R. (2019). biologically active compounds from bacterial endophytes. *Endophytes and Secondary Metabolites* (c. 3–31). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-90484-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-90484-9_1)
175. Hardoim, P. R., Hardoim, C. C. P., van Overbeek, L. S., & van Elsas, J. D. (2012). Dynamics of seed-borne rice endophytes on early plant growth stages. *PLoS ONE*, 7(2), e30438. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030438>
176. Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & Sessitsch, A. (2015). The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(3), 293–320. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00050-14>
177. Havlin, J.L., Beaton, J.D., Tisdale, S.L., Nelson, W.L. (2007). Soil fertility and fertilizers: An introduction to nutrient management. *Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey*, 244–289.
178. Hewlett, J. D., & Kramer, P. J. (1963). The measurement of water deficits in broadleaf plants. *Protoplasma*, 57(1–4), 381–391. <https://doi.org/10.1007/BF01252067>
179. Hider, R. C., & Kong, X. (2013). Iron speciation in the cytosol: An overview. *Dalton Trans.*, 42(9), 3220–3229. <https://doi.org/10.1039/C2DT32149A>
180. Hocking, P. J. (1994). Dry-matter production, mineral nutrient concentrations, and nutrient distribution and redistribution in irrigated spring wheat. *Journal of Plant Nutrition*, 17(8), 1289–1308. <https://doi.org/10.1080/01904169409364807>
181. Hussain, A., Amna, Kamran, M. A., Javed, M. T., Hayat, K., Farooq, M. A., Ali, N., ... & Chaudhary, H. J. (2019). Individual and combinatorial application of *Kocuria rhizophila* and citric acid on phytoextraction of multi-metal contaminated soils by *Glycine max* L. *Environmental and Experimental Botany*, 159, 23–33. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.12.006>

182. Hussain, A.; Arshad, M.; Zahir, Z.A. (2015). Prospects of Zinc solubilizing bacteria for enhancing growth of maize. *Pak. J. Agric. Sci.*, 52, 915–922.
183. Hussein, H.-A. A., Alshammari, S. O., Kenawy, S. K. M., Elkady, F. M., & Badawy, A. A. (2022). Grain-Priming with L-Arginine Improves the Growth Performance of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Plants under Drought Stress. *Plants*, 11(9), 1219. <https://doi.org/10.3390/plants11091219>
184. Imdad, A., Mayo-Wilson, E., Herzer, K., & Bhutta, Z. A. (2017). Vitamin A supplementation for preventing morbidity and mortality in children from six months to five years of age. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2017(11). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008524.pub3>
185. Imran, M., Sun, X., Hussain, S., Ali, U., Rana, M. S., Rasul, F., Saleem, M. H., ... & Hu, C. X. (2019). Molybdenum-induced effects on nitrogen metabolism enzymes and elemental profile of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) Under Different Nitrogen Sources. *Intern. J. of Mol. Sci.*, 20(12), 3009. <https://doi.org/10.3390/ijms20123009>
186. Ivanova, E.G., Fedorov, D.N., Doronina, N.V. (2006). Production of vitamin B12 in aerobic methylotrophic bacteria. *Microbiology* 75, 494–496. <https://doi.org/10.1134/S0026261706040217>.
187. Jacott, C. N., & Boden, S. A. (2020). Feeling the heat: Developmental and molecular responses of wheat and barley to high ambient temperatures. *Journal of Experimental Botany*, 71(19), 5740–5751. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa326>
188. Jahanzab, A. & Hussain, S. (2019). Zinc fractions in differently-textured soils of southern punjab (Pakistan) and status of zinc in flag leaves of wheat. *J. Glob. Innov. Agric. Soc. Sci.*, x(x), 1–6.
189. Jaiswal, D. K., Krishna, R., Chouhan, G. K., de Araujo Pereira, A. P., Ade, A. B., ... & Verma, J. P. (2022). Bio-fortification of minerals in crops: Current scenario and future prospects for sustainable agriculture and human health. *Plant Growth Regulation*, 98(1), 5–22. <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00847-4>
190. Janatiningrum, I., Solihin, D. D., Meryandini, A., & Lestari, Y. (2018). Comparative study on the diversity of endophytic actinobacteria communities from Ficus

- deltoidea using metagenomic and culture-dependent approaches. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 19(4), 1514–1520. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190443>
191. Jawaldeh, A. A., Pena-Rosas, J. P., McColl, K., Johnson, Q., Elmadfa, I., & Nasreddine, L. (2019). Wheat flour fortification in the Eastern Mediterranean Region. Cairo: WHO Regional Office for the Eastern Mediterranean. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
192. Jayakumar, A., Krishna, A., Nair, I. C., & Radhakrishnan, E. K. (2020). Drought-tolerant and plant growth-promoting endophytic *Staphylococcus* sp. Having synergistic effect with silicate supplementation. *Archives of Microbiology*, 202(7), 1899–1906. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01911-1>
193. Jiang, L., Jeong, J.C., Lee, J.-S., Park, J.M., Yang, J.-W., ... & Lee, J. (2019). Potential of *Pantoea dispersa* as an effective biocontrol agent for black rot in sweet potato. *Scientific Rep.*, 9(1), 16354. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52804-3>
194. Jin, Z., Shah, T., Zhang, L., Liu, H., Peng, S., & Nie, L. (2020). Effect of straw returning on soil organic carbon in rice–wheat rotation system: A review. *Food and Energy Security*, 9(2). <https://doi.org/10.1002/fes3.200>
195. Johansson, E., Branlard, G., Cuniberti, M., Flagella, Z., Hüsken, A., Nurit, E., Peña, R. J., Sissons, M., & Vazquez, D. (2020). Genotypic and Environmental Effects on Wheat Technological and Nutritional Quality. B G. Igrejas, T. M. Ikeda, & C. Guzmán (Ред.), *Wheat Quality For Improving Processing And Human Health* (c. 171–204). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-34163-3\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-34163-3_8)
196. Johansson, E., Prieto-Linde, M. L., & Gissén, C. (2008). Influences of weather, cultivar and fertiliser rate on grain protein polymer accumulation in field-grown winter wheat, and relations to grain water content and falling number. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(11), 2011–2018. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3312>
197. Johnston-Monje, D., Gutiérrez, J. P., & Lopez-Lavalle, L. A. B. (2021). Seed-Transmitted Bacteria and Fungi Dominate Juvenile Plant Microbiomes. *Frontiers in Microbiology*, 12, 737616. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.737616>

198. Johnston-Monje, D., Mousa, W. K., Lazarovits, G., & Raizada, M. N. (2014). Impact of swapping soils on the endophytic bacterial communities of pre-domesticated, ancient and modern maize. *BMC Plant Biology*, *14*(1), 233. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0233-3>
199. Jung, H., Gayomba, S. R., Rutzke, M. A., Craft, E., Kochian, L. V., & Vatamaniuk, O. K. (2012). COPT6 Is a plasma membrane transporter that functions in Copper homeostasis in *Arabidopsis* and is a novel target of SQUAMOSA promoter-binding protein-like 7. *Journal of Biological Chemistry*, *287*(40), 33252–33267. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.397810>
200. Kabir, A. H., Debnath, T., Das, U., Prity, S. A., Haque, A., Rahman, M. M. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate Fe-deficiency symptoms in sunflower by increasing iron uptake and its availability along with antioxidant defense. *Plant Phys. Biochem.* *150*, 254–262. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.03.010>
201. Kabir, A. H., Khatun, M. A., Hossain, M. M., Haider, S. A., Alam, M. F., & Paul, N. K. (2016). Regulation of Phytosiderophore Release and Antioxidant Defense in Roots Driven by Shoot-Based Auxin Signaling Confers Tolerance to Excess Iron in Wheat. *Frontiers in Plant Science*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01684>
202. Kabir, A. H., Paltridge, N. G., Roessner, U., & Stangoulis, J. C. R. (2013). Mechanisms associated with Fe-deficiency tolerance and signaling in shoots of *Pisum sativum*. *Physiologia Plantarum*, *147*(3), 381–395. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01682.x>
203. Kadam, D.J., Karwar, S.H., & Jadhav, P.S. (2022). Correlation analysis for different characteristics in wheat. *The Pharma Innovation Journal*, *11*(1), 98–100.
204. Kafle, A., Cope, K., Raths, R., Krishna Yakha, J., Subramanian, S., Bücking, H., & Garcia, K. (2019). Harnessing Soil Microbes to Improve Plant Phosphate Efficiency in Cropping Systems. *Agronomy*, *9*(3), 127. <https://doi.org/10.3390/agronomy9030127>
205. Kaga, H., Mano, H., Tanaka, F., Watanabe, A., Kaneko, S., & Morisaki, H. (2009). Rice Seeds as Sources of Endophytic Bacteria. *Microbes and Environments*, *24*(2), 154–162. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME09113>

206. Kamoshita, A., Babu, R. C., Boopathi, N. M., & Fukai, S. (2008). Phenotypic and genotypic analysis of drought-resistance traits for development of rice cultivars adapted to rainfed environments. *Field Crops Research*, *109*(1–3), 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.06.010>
207. Kamran, S., Shahid, I., Baig, D. N., Rizwan, M., Malik, K. A., & Mehnaz, S. (2017). Contribution of Zinc solubilizing bacteria in growth promotion and Zinc content of wheat. *Frontiers in Microbiology*, *8*, 2593. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02593>
208. Kang, X., Zhang, W., Cai, X., Zhu, T., Xue, Y., & Liu, C. (2018). *Bacillus velezensis* CC09: A Potential ‘Vaccine’ for Controlling Wheat Diseases. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, *31*(6), 623–632. <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-17-0227-R>
209. Karagöz, M. A., & Nalbantoglu, O. U. (2021). Taxonomic classification of metagenomic sequences from Relative Abundance Index profiles using deep learning. *Biomedical Signal Processing and Control*, *67*, 102539. <https://doi.org/10.1016/j.bspc.2021.102539>
210. Kasahara, H. (2016). Current aspects of auxin biosynthesis in plants. *Biosci., Biotech. and Biochem.*, *80*(1), 34–42. <https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1086259>
211. Khadka, K., Earl, H. J., Raizada, M. N., & Navabi, A. (2020). A physiological trait-based approach for breeding drought tolerant wheat. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 715. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00715>
212. Khan, A. L., Waqas, M., Kang, S.-M., Al-Harrasi, A., Hussain, J., Al-Rawahi, A., .... & Lee, I.-J. (2014). Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *Journal of Microbiology*, *52*(8), 689–695. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4002-7>
213. Khan, A., Singh, J., Upadhayay, V. K., Singh, A. V., & Shah, S. (2019). Microbial biofortification: a green technology through plant growth promoting microorganisms. (Ред.), *Sustainable Green Technologies for Environm. Management* (c. 255–269). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-2772-8\\_13](https://doi.org/10.1007/978-981-13-2772-8_13)

214. Khan, N., Martínez-Hidalgo, P., Ice, T. A., Maymon, M., Humm, E. A., Nejat, N., ... & Hirsch, A. M. (2018). Antifungal Activity of *Bacillus* Species Against *Fusarium* and Analysis of the Potential Mechanisms Used in Biocontrol. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2363. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02363>
215. Khokhar, J. S., Sareen, S., Tyagi, B. S., Singh, G., Wilson, L., King, I. P., Young, S. D., & Broadley, M. R. (2018). Variation in grain Zn concentration, and the grain ionome, in field-grown Indian wheat. *PLOS ONE*, 13(1), e0192026. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192026>
216. Kiani, T., Mehboob, F., Hyder, M. Z., Zainy, Z., Xu, L., Huang, L., & Farrakh, S. (2021). Control of stripe rust of wheat using indigenous endophytic bacteria at seedling and adult plant stage. *Scientific Reports*, 11(1), 14473. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93939-6>
217. Kiliç, H., & Tacettin, Y. (2010). The effect of drought stress on grain yield, yield components and some quality traits of durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. Durum) cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1), 164–170.
218. Kim T-U, Cho S-H, Han J-H, Shin Y-M, Lee HB, Kim SB. (2012). Diversity and physiological properties of root endophytic *Actinobacteria* in native herbaceous plants of Korea. *J Microbiol.*, 50, 50–57.
219. Kiran, A., Wakeel, A., Mahmood, K., Mubaraka, R., Hafsa, & Haefele, S.M. (2022). Biofortification of staple crops to alleviate human malnutrition: contributions and potential in developing countries. *Agronomy*, 12(2), 452. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020452>
220. Klymiuk, V., Fatiukha, A., Huang, L., Wei, Z., Kis-Papo, T., Saranga, Y., Krugman, T., & Fahima, T. (2019). Durum wheat as a bridge between wild emmer wheat genetic resources and bread wheat. *Appl. of Genetic and Genomic Research in Cereals* (c. 201–230). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102163-7.00010-7>
221. Kobayashi, T., & Nishizawa, N. K. (2012). Iron Uptake, Translocation, and Regulation in Higher Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 63(1), 131–152. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105522>



222. Kobayashi, T., Nozoye, T., & Nishizawa, N. K. (2019). Iron transport and its regulation in plants. *Free Radical Biology and Medicine*, 133, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.10.439>
223. Korasick, D. A., Enders, T. A., & Strader, L. C. (2013). Auxin biosynthesis and storage forms. *Journal of Experimental Botany*, 64(9), 2541–2555. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert080>
224. Kumar, A., Choudhary, A. K., Pooniya, V., Suri, V. K., & Singh, U. (2016). Soil Factors Associated with Micronutrient Acquisition in Crops- Biofortification (Ред.), *Biofortification of Food Crops* (c. 159–176). Springer India. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2716-8\\_13](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2716-8_13)
225. Kumar, A., Jain, S., Elias, E. M., Ibrahim, M., & Sharma, L. K. (2018). An Overview of QTL Identification and Marker-Assisted Selection for Grain Protein Content in Wheat. (Ред.), *Eco-friendly Agro-biological Tech. for Enhan. Crop Productiv.* (c. 245–274). Sprin. Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-6934-5\\_11](https://doi.org/10.1007/978-981-10-6934-5_11)
226. Kushwaha, P., Kashyap, P. L., Bhardwaj, A. K., Kuppusamy, P., Srivastava, A. K., & Tiwari, R. K. (2020). Bacterial endophyte mediated plant tolerance to salinity: Growth responses and mechanisms of action. *World J. of Microbiol. and Biotech.* 36(2), 26. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-2804-9>
227. Kutman, U. B., Yildiz, B., & Cakmak, I. (2011). Effect of nitrogen on uptake, remobilization and partitioning of zinc and iron throughout the development of durum wheat. *Plant and Soil*, 342(1–2), 149–164. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0679-5>
228. Kuźniar, A., Włodarczyk, K., Grządziel, J., Goraj, W., Gałązka, A., & Wolińska, A. (2020). Culture-independent analysis of an endophytic core microbiome in two species of wheat: *Triticum aestivum* L. (cv. ‘Hondia’) and the first report of microbiota in *Triticum spelta* L. (cv. ‘Rokosz’). *Systematic and Applied Microbiology*, 43(1), 126025. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2019.126025>
229. Kuźniar, A., Włodarczyk, K., Grządziel, J., Woźniak, M., Furtak, K., Gałązka, A., Dziadczyk, E., Skórzyńska-Polit, E., & Wolińska, A. (2020). New Insight into the

- Composition of Wheat Seed Microbiota. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(13), 4634. <https://doi.org/10.3390/ijms21134634>
230. Kuźniar, A., Włodarczyk, K., Sadok, I., Staniszevska, M., Woźniak, M., Furtak, K., ... & Wolińska, A. (2021). A Comprehensive Analysis Using Colorimetry, Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and Bioassays for the Assessment of Indole Related Compounds Produced by Endophytes of Selected Wheat Cultivars. *Molecules*, 26(5), 1394. <https://doi.org/10.3390/molecules26051394>
231. Laidig, F., Piepho, H.-P., Hüsken, A., Begemann, J., Rentel, D., Drobek, T., & Meyer, U. (2018). Predicting loaf volume for winter wheat by linear regression models based on protein concentration and sedimentation value using samples from VCU trials and mills. *J. of Cereal Science*, 84, 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.07.015>
232. Lal, M. K., Tiwari, R. K., Gahlaut, V., Mangal, V., Kumar, A., Singh, M. P., ... & Zinta, G. (2022). Physiological and molecular insights on wheat responses to heat stress. *Plant Cell Rep.*, 41(3), 501–518. <https://doi.org/10.1007/s00299-021-02784-4>
233. Lane, D.J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. In: *Stackebrandt E., Goodfellow M., editors. Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics. John Wiley and Sons; New York, NY, USA*, 115–175.
234. Langridge, P., & Reynolds, M. (2021). Breeding for drought and heat tolerance in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 134(6), 1753–1769. <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03795-1>
235. Le Cocq, K., Gurr, S. J., Hirsch, P. R., & Mauchline, T. H. (2017). Exploitation of endophytes for sustainable agricultural intensification: Exploitation of endophytes. *Molecular Plant Pathology*, 18(3), 469–473. <https://doi.org/10.1111/mpp.12483>
236. Li, X., Sun, P., Zhang, Y., Jin, C., & Guan, C. (2020). A novel PGPR strain *Kocuria rhizophila* Y1 enhances salt stress tolerance in maize by regulating phytohormone levels, nutrient acquisition, redox potential, ion homeostasis, photosynthetic capacity and stress-responsive genes expression. *Environmental and Experimental Botany*, 174, 104023. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104023>

237. Lindsay, W. L., & Norvell, W. A. (1978). Development of a DTPA Soil Test for Zinc, Iron, Manganese, and Copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42(3), 421–428. <https://doi.org/10.2136/sssaj1978.03615995004200030009x>
238. Links, M. G., Demeke, T., Gräfenhan, T., Hill, J. E., Hemmingsen, S. M., & Dumonceaux, T. J. (2014). Simultaneous profiling of seed-associated bacteria and fungi reveals antagonistic interactions between microorganisms within a shared epiphytic microbiome on *Triticum* and *Brassica* seeds. *New Phytologist*, 202(2), 542–553. <https://doi.org/10.1111/nph.12693>
239. Liu, H., Carvalhais, L. C., Crawford, M., Singh, E., Dennis, P. G., Pieterse, C. M. J., & Schenk, P. M. (2017). Inner plant values: diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2552. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02552>
240. Liu, P., & Nester, E. W. (2006). Indoleacetic acid, a product of transferred DNA, inhibits *vir* gene expression and growth of *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(12), 4658–4662. <https://doi.org/10.1073/pnas.0600366103>
241. Liu, Y., Chen, Y., Yang, Y., Zhang, Q., Fu, B., Cai, J., Guo, W., Shi, L., Wu, J., & Chen, Y. (2021). A thorough screening based on QTLs controlling zinc and copper accumulation in the grain of different wheat genotypes. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(12), 15043–15054. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11690-3>
242. Liu, Y., Liang, H., Lv, X., Liu, D., Wen, X., & Liao, Y. (2016). Effect of polyamines on the grain filling of wheat under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 100, 113–129. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.01.003>
243. Lomolino, G., Morari, F., Dal Ferro, N., Vincenzi, S., & Pasini, G. (2017). Investigating the einkorn (*Triticum monococcum*) and common wheat (*Triticum aestivum*) bread crumb structure with X-ray microtomography: Effects on rheological and sensory properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(6), 1498–1507. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13425>

244. Longin, C. F. H., Ziegler, J., Schweiggert, R., Koehler, P., Carle, R., & Würschum, T. (2016). Comparative Study of Hulled (Einkorn, Emmer, and Spelt) and Naked Wheats (Durum and Bread Wheat): Agronomic Performance and Quality Traits. *Crop Science*, 56(1), 302–311. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.04.0242>
245. Lowe, N. M. (2021). The global challenge of hidden hunger: Perspectives from the field. *Proceedings of the Nutrition Society*, 80(3), 283–289. <https://doi.org/10.1017/S0029665121000902>
246. Lu, H., Wei, T., Lou, H., Shu, X., & Chen, Q. (2021). A critical review on communication mechanism within plant-endophytic fungi interactions to cope with biotic and abiotic stresses. *J. of Fungi*, 7(9), 719. <https://doi.org/10.3390/jof7090719>
247. Lugojan, C., Ciulca, S. (2011). Evaluation of relative water content in winter wheat. *Journal of Horticulture. Forestry and Biotechnology*, 15(2), 173–177.
248. Luo, Y., Wang, F., Huang, Y., Zhou, M., Gao, J., Yan, T., Sheng, H., & An, L. (2019). *Sphingomonas* sp. Cra20 Increases Plant Growth Rate and Alters Rhizosphere Microbial Community Structure of *Arabidopsis thaliana* Under Drought Stress. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1221. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01221>
249. Lyu, D., Zajonc, J., Pagé, A., Tanney, C. A. S., Shah, A., Monjezi, N., Msimbira, L. A., Antar, M., Nazari, M., Backer, R., & Smith, D. L. (2021). Plant Holobiont Theory: The Phytomicrobiome Plays a Central Role in Evolution and Success. *Microorganisms*, 9(4), 675. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040675>
250. Mahender, A., Swamy, B., Anandan, A., & Ali, J. (2019). Tolerance of Iron-Deficient and -Toxic Soil Conditions in Rice. *Plants*, 8(2), 31. <https://doi.org/10.3390/plants8020031>
251. Mahpara, S., Bashir, M. S., Ullah, R., Bilal, M., Kausar, S., Latif, M. I., Arif, M., ... & Alfagham, A. (2022). Field screening of diverse wheat germplasm for determining their adaptability to semi-arid climatic conditions. *PLOS ONE*, 17(3), e0265344. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265344>
252. 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. <https://doi.org/10.30970/sbi.1302.604>
253. Makar, O., Kuźniar, A., Patsula, O., Kavulych, Y., Kozlovskyy, V., Wolińska, A., .... & 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. <https://doi.org/10.3390/biology10050409>
254. Marín, F., Santos, M., Carretero, F., Yau, J. A., & Diánez, F. (2011). *Erwinia aphidicola* isolated from commercial bean seeds (*Phaseolus vulgaris*). *Phytoparasitica*, 39(5), 483–489. <https://doi.org/10.1007/s12600-011-0190-4>
255. Matthijs, S., Tehrani, K. A., Laus, G., Jackson, R. W., Cooper, R. M., & Cornelis, P. (2007). Thioquinolobactin, a *Pseudomonas* siderophore with antifungal and anti-Pythium activity. *Environmental Microbiology*, 9(2), 425–434. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01154.x>
256. Melash, A. A., & Mengistu, D. K. (2020). Improving grain micronutrient content of durum wheat through agronomic biofortification to alleviate the Hidden Hunger. *Advances in Agriculture*, 2020, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2020/7825413>
257. Menéndez, E., Pérez-Yepes, J., Carro, L., Fernández-Pascual, M., Ramírez-Bahena, M.-H., Klenk, H.-P., León Barrios, M., Peix, A., & Velázquez, E. (2017). *Brevundimonas canariensis* sp. Nov., isolated from roots of *T. aestivum*. *Intern. J. of Syst. and Evol. Microbiol.*, 67(4), 969–973. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001725>
258. Mengistu, A. A. (2020). Endophytes: colonization, behaviour, and their role in defense mechanism. *International Journal of Microbiology*, 2020, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/6927219>
259. Mercado–Blanco, J., Bakke PAHM. (2007). Interaction between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: Exploiting bacterial traits for crop protection. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 92(4), 367–389. <https://doi.org/doi:10.1007/s10482-007-9167-1>
260. Merchuk-Ovnat, L., Barak, V., Fahima, T., Ordon, F., Lidzbarsky, G. A., Krugman, T., & Saranga, Y. (2016). Ancestral QTL alleles from wild emmer wheat

- improve drought resistance and productivity in modern wheat cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00452>
261. Miller, R. O., Jacobsen, J. S., & Skogley, E. O. (1994). Aerial accumulation and partitioning of nutrients by hard red spring wheat. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 25(11–12), 1891–1911. <https://doi.org/10.1080/00103629409369162>
262. Minervini, F., Lattanzi, A., Dinardo, F. R., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2017). Wheat endophytic lactobacilli drive the microbial and biochemical features of sourdoughs. *Food Microbiol.*, 70, 162–171. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.09.006>
263. Mitter, B., Petric, A., Shin, M. W., Chain, P. S. G., Hauberg-Lotte, L., ... & Sessitsch, A. (2013). Comparative genome analysis of Burkholderia phytofirmans PsJN reveals a wide spectrum of endophytic lifestyles based on interaction strategies with host plants. *Frontiers in Plant Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00120>
264. Mohamadi N., Rajaei P. (2013). Effect of Triamidedon fungicide on some growth parameters and antioxidant enzymes activity in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant under drought stress. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 1(4), 341–350.
265. Monasterio, I., & Graham, R. D. (2000). Breeding for Trace Minerals in Wheat. *Food and Nutr. Bull.*, 21(4), 392–396. <https://doi.org/10.1177/156482650002100409>
266. Mondini, L., Grausgruber, H., & Pagnotta, M. A. (2014). Evaluation of European emmer wheat germplasm for agro-morphological, grain quality traits and molecular traits. *Gen. Res. and Crop Evolut.*, 61(1), 69–87. <https://doi.org/10.1007/s10722-013-0016-y>
267. Müller, C., Elliott, J., Chryssanthacopoulos, J., Deryng, D., Folberth, C., Pugh, T. A. M., & Schmid, E. (2015). Implications of climate mitigation for future agricultural production. *Environmental Research Letters*, 10(12), 125004. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/10/12/125004>
268. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

269. Murray, C. J. L., & Lopez, A. D. (2013). Measuring the Global Burden of Disease. *New England J. of Medicine*, 369(5), 448–457. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1201534>
270. Narjesi, V., Mardi, M., Hervan, E. M., Azadi, A., Naghavi, M. R., Ebrahimi, M., & Zali, A. A. (2015). Analysis of quantitative trait loci (QTL) for grain yield and agronomic traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) under normal and salt-stress conditions. *Plant Molec. Biol. Rep.*, 33(6), 2030–2040. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0876-8>
271. Naveed, M., Mitter, B., Yousaf, S., Pastar, M., Afzal, M., & Sessitsch, A. (2014). The endophyte *Enterobacter* sp. FD17: A maize growth enhancer selected based on rigorous testing of plant beneficial traits and colonization characteristics. *Biology and Fertility of Soils*, 50(2), 249–262. <https://doi.org/10.1007/s00374-013-0854-y>
272. Nawaz, F., Ashraf, M. Y., Ahmad, R., Waraich, E. A., Shabbir, R. N., & Bukhari, M. A. (2015). Supplemental selenium improves wheat grain yield and quality through alterations in biochemical processes under normal and water deficit conditions. *Food Chemistry*, 175, 350–357. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.147>
273. Neina, D. (2019). The Role of Soil pH in Plant Nutrition and Soil Remediation. *Appl. and Env. Soil Sci.*, 2019, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2019/5794869>
274. Newton, A. C., Johnson, S. N., & Gregory, P. J. (2011). Implications of climate change for diseases, crop yields and food security. *Euphytica*, 179(1), 3–18. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0359-4>
275. NOAA National Centers for Environmental Information. 2020. State of the climate: Global climate report for annual 2019. (2020). <https://www.ncdc.noaa.gov/sotc/global/201913>.
276. Nouri-Ganbalani, A., Nouri-Ganbalani, G., Hassanpanah, D. (2009). Effects of drought stress condition on the yield and yield components of advanced wheat genotypes in Ardabil. *Iran. J. Food Agric. Environ.* 7, 228–234.
277. Ntushelo, K., Ledwaba, L. K., Rauwane, M. E., Adebo, O. A., & Njobeh, P. B. (2019). The mode of action of *Bacillus* species against *Fusarium graminearum*, tools for investigation, and future prospects. *Toxins*, 11(10), 606. <https://doi.org/10.3390/toxins11100606>

278. Ofek-Lalzar, M., Gur, Y., Ben-Moshe, S., Sharon, O., Kosman, E., Mochli, E., & Sharon, A. (2016). Diversity of fungal endophytes in recent and ancient wheat ancestors *Triticum dicoccoides* and *Aegilops sharonensis*. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(10), fiw152. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw152>
279. Oita, S., Carey, J., Kline, I., Ibáñez, A., Yang, N., Hom, E. F. Y., Carbone, I., U'Ren, J. M., & Arnold, A. E. (2021). Methodological Approaches Frame Insights into Endophyte Richness and Community Composition. *Microbial Ecology*, 82(1), 21–34. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01654-y>
280. Olsen, L. I., & Palmgren, M. G. (2014). Many rivers to cross: The journey of zinc from soil to seed. *Frontiers in Plant Science*, 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00030>
281. Özkurt, E., Hassani, M. A., Sesiz, U., Künzel, S., Dagan, T., Özkan, H., & Stukenbrock, E. H. (2020). Seed-derived microbial colonization of wild emmer and domesticated bread wheat ( *Triticum dicoccoides* and *T. aestivum* ) seedlings shows pronounced differences in overall diversity and composition. *MBio*, 11(6), e02637-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.02637-20>
282. Ozturk, L., Yazici, M. A., Yucel, C., Torun, A., Cekic, C., Bagci, A., Ozkan, H., Braun, H.-J., Sayers, Z., & Cakmak, I. (2006). Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. *Physiologia Plantarum*, 128(1), 144–152. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00737.x>
283. Pan, D., Mionetto, A., Tiscornia, S., & Bettucci, L. (2015). Endophytic bacteria from wheat grain as biocontrol agents of *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol production in wheat. *Mycotoxin Research*, 31(3), 137–143. <https://doi.org/10.1007/s12550-015-0224-8>
284. Pang, F., Tao, A., Ayra-Pardo, C., Wang, T., Yu, Z., & Huang, S. (2022). Plant organ- and growth stage-diversity of endophytic bacteria with potential as biofertilisers isolated from wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biology*, 22(1), 276. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03615-8>
285. Pant, K., Ojha, B., Thapa, D., Kharel, R., Gautam, N., & Shrestha, J. (2020). Evaluation of biofortified spring wheat genotypes for agronomic traits, yield, grain zinc and iron concentrations. *Fund.. and Appl/ Agric.*, 0, 1. <https://doi.org/10.5455/faa.79404>



286. Parker, L., Bourgoïn, C., Martinez-Valle, A., & Läderach, P. (2019). Vulnerability of the agricultural sector to climate change: The development of a pan-tropical Climate Risk Vulnerability Assessment to inform sub-national decision making. *PLOS ONE*, *14*(3), e0213641. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213641>
287. Parkpain, P., Sreesai, S., & Delaune, R. D. (2000). Bioavailability of heavy metals in sewage sludge-amended thai soils. *Water, Air, and Soil Pollution*, *122*(1/2), 163–182. <https://doi.org/10.1023/A:1005247427037>
288. Passari, A. K., Mishra, V. K., Singh, G., Singh, P., Kumar, B., Gupta, V. K., Sarma, ... & Singh, B. P. (2017). Insights into the functionality of endophytic actinobacteria with a focus on their biosynthetic potential and secondary metabolites production. *Sci. Reports*, *7*(1), 11809. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12235-4>
289. Pastoshchuk, A., Yumyna, Y., Zelena, P., Nudha, V., Yanovska, V., Kovalenko, M., Taran, N., Patyka, V., & Skivka, L. (2021). Beneficial traits of grain-residing endophytic communities in wheat with different sensitivity to *Pseudomonas syringae*. *Regulatory Mechanisms in Biosys.*, *12*(3), 498–505. <https://doi.org/10.15421/022168>
290. Patten, C. L., & Glick, B. R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian J. of Microbiol.*, *42*(3), 207–220. <https://doi.org/10.1139/m96-032>
291. Peech, M. (2016). Hydrogen-Ion Activity. B. A. G. Norman (Ред.), *Agronomy Monographs* (c. 914–926). <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.c9>
292. Peiffer, J.A., Spor, A., Koren, O., Jin, Z., Tringe, S.G., Dangl, J.L., Buckler, E.S., Ley, R.E. (2013). Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, *110*, 6548–6553.
293. Peleg, Z., Fahima, T., Abbo, S., Krugman, T., Nevo, E., Yakir, D., & Saranga, Y. (2005). Genetic diversity for drought resistance in wild emmer wheat and its ecogeographical associations. *Plant, Cell and Environment*, *28*(2), 176–191. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01259.x>
294. Penrose, D. M., Moffatt, B. A., & Glick, B. R. (2001). Determination of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) to assess the effects of ACC deaminase-

- containing bacteria on roots of canola seedlings. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(1), 77–80. <https://doi.org/10.1139/w00-128>
295. Pérez-Esteban, J., Escolástico, C., Moliner, A., & Masaguer, A. (2013). Chemical speciation and mobilization of copper and zinc in naturally contaminated mine soils with citric and tartaric acids. *Chemosphere*, 90(2), 276–283. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.06.065>
296. Petrini, O. (1996). Ecological and physiological aspects of host specificity in endophytic fungi. *APS Press, St. Paul*, 87–100.
297. Philipp, N., Weichert, H., Bohra, U., Weschke, W., Schulthess, A. W., & Weber, H. (2018). Grain number and grain yield distribution along the spike remain stable despite breeding for high yield in winter wheat. *PLOS ONE*, 13(10), e0205452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205452>
298. Pimentel, M. R., Molina, G., Dionísio, A. P., Maróstica Junior, M. R., & Pastore, G. M. (2011). The Use of Endophytes to Obtain Bioactive Compounds and Their Application in Biotransformation Process. *Biotechnology Research International*, 2011, 1–11. <https://doi.org/10.4061/2011/576286>
299. Pinto, E., Aguiar, A. A. R. M., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2014). Influence of Soil Chemistry and Plant Physiology in the Phytoremediation of Cu, Mn, and Zn. *Crit. Rev. in Plant Scs.*, 33(5), 351–373. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.885729>
300. Prapagdee, B., Chanprasert, M., & Mongkolsuk, S. (2013). Bioaugmentation with cadmium-resistant plant growth-promoting rhizobacteria to assist cadmium phytoextraction by *Helianthus annuus*. *Chemosphere*, 92(6), 659–666. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.082>
301. Prasanna, R., Nain, L., Rana, A., & Shivay, Y. S. (2016). Biofortification with Microorganisms: Present Status and Future Challenges. B U. Singh, C. S. Praharaj, S. S. Singh, & N. P. Singh (Ред.), *Biofortification of Food Crops* (c. 249–262). Springer India. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-2716-8\\_19](https://doi.org/10.1007/978-81-322-2716-8_19)
302. Priya, D.A., Kalaiselvi, T. (2020). Evaluating the effect of *Sphingobium yanoikuyae* MH394206 and mixed consortia on growth of rice CO 51 in moisture deficit

condition. *J. Pharmacogn. Phytochem.*, 9(6), 2016–2021.

<https://doi.org/10.22271/phyto.2020.v9.i6ac.13261>

303. Prudhomme, C., Giuntoli, I., Robinson, E. L., Clark, D. B., Arnell, N. W., Dankers, R., ... & Wisser, D. (2014). Hydrological droughts in the 21st century, hotspots and uncertainties from a global multimodel ensemble experiment. *Proceed. of the National Academy of Sciences*, 111(9), 3262–3267. <https://doi.org/10.1073/pnas.1222473110>
304. Qi, Y., Wang, S., Shen, C., Zhang, S., Chen, Y., Xu, Y., Liu, Y., Wu, Y., & Jiang, D. (2012). OsARF12, a transcription activator on auxin response gene, regulates root elongation and affects iron accumulation in rice (*Oryza sativa*). *New Phytologist*, 193(1), 109–120. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03910.x>
305. Rafique, E., A. Rashid, J. Ryan and A.U. Bhatti. (2006). Zinc deficiency in rainfed wheat in Pakistan: Magnitude, spatial variability, management, and plant analysis diagnostic norms. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 37:181- 197.
306. Rahmati Ishka, M., & Vatamaniuk, O. K. (2020). Copper deficiency alters shoot architecture and reduces fertility of both gynoecium and androecium in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Direct*, 4(11). <https://doi.org/10.1002/pld3.288>
307. Ramesh, A., Sharma, S. K., Sharma, M. P., Yadav, N., & Joshi, O. P. (2014). Inoculation of zinc solubilizing *Bacillus aryabhatai* strains for improved growth, mobilization and biofortification of zinc in soybean and wheat cultivated in Vertisols of central India. *Applied Soil Ecology*, 73, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.08.009>
308. Ramkala, R.R., Dahiya, S.S., Singh, D. (2008). Evaluation of N:P:Zn (10:50:1.5 Zn) complex fertilizer in rice wheat cropping system. *J. Agric. Res.*, 42(4), 288–292.
309. Ramzan, Y., Hafeez, M. B., Khan, S., Nadeem, M., Saleem-ur-Rahman, Batool, S., & Ahmad, J. (2020). Biofortification with Zinc and Iron improves the grain quality and yield of wheat crop. *International Journal of Plant Production*, 14(3), 501–510. <https://doi.org/10.1007/s42106-020-00100-w>

310. Rana, A., Joshi, M., Prasanna, R., Shivay, Y. S., & Nain, L. (2012). Biofortification of wheat through inoculation of plant growth promoting rhizobacteria and cyanobacteria. *European J. of Soil Biol.*, *50*, 118–126. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2012.01.005>
311. Rana, A., Kabi, S. R., Verma, S., Adak, A., Pal, M., Shivay, Y. S., Prasanna, R., & Nain, L. (2015). Prospecting plant growth promoting bacteria and cyanobacteria as options for enrichment of macro- and micronutrients in grains in rice–wheat cropping sequence. *Cogent Food & Agriculture*, *1*(1), 1037379. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1037379>
312. Rana, K. L., Kour, D., Kaur, T., Sheikh, I., Yadav, A. N., Kumar, V., Suman, A., & Dhaliwal, H. S. (2020). Endophytic Microbes from Diverse Wheat Genotypes and Their Potential Biotechnological Applications in Plant Growth Promotion and Nutrient Uptake. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, *90*(5), 969–979. <https://doi.org/10.1007/s40011-020-01168-0>
313. Rawashdeh, H.M., & Florin, S. (2015). Foliar application with iron as a vital factor of wheat crop growth, yield quantity and quality: A Review. *International Journal of Agricultural Policy and Research*, *9*(3), 368–376. <http://dx.doi.org/10.15739/IJAPR.062>
314. Rawat, N., Tiwari, V. K., Neelam, K., Randhawa, G. S., Chhuneja, P., Singh, K., & Dhaliwal, H. S. (2009). Development and characterization of Triticum aestivum–Aegilops kotschyi amphiploids with high grain iron and zinc contents. *Plant Genetic Resources*, *7*(03), 271–280. <https://doi.org/10.1017/S1479262109356592>
315. Rawat, N., Tiwari, V. K., Singh, N., Randhawa, G. S., Singh, K., Chhuneja, P., & Dhaliwal, H. S. (2009). Evaluation and utilization of Aegilops and wild Triticum species for enhancing iron and zinc content in wheat. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *56*(1), 53–64. <https://doi.org/10.1007/s10722-008-9344-8>
316. Raza, A., Faisal, M. (2013). Growth promotion of maize by desiccation tolerant Micrococcus luteus-chp37 isolated from Cholistan desert, Pakistan. *Austr. J. Crop Sci.*, *7*(11), 1693–1698.

317. Raza, A., Razzaq, A., Mehmood, S., Zou, X., Zhang, X., Lv, Y., & Xu, J. (2019). Impact of Climate Change on Crops Adaptation and Strategies to Tackle Its Outcome: A Review. *Plants*, 8(2), 34. <https://doi.org/10.3390/plants8020034>
318. Reddy, S. K., Liu, S., Rudd, J. C., Xue, Q., Payton, P., Finlayson, S. A., Mahan, J., Akhunova, A., Holalu, S. V., & Lu, N. (2014). Physiology and transcriptomics of water-deficit stress responses in wheat cultivars TAM 111 and TAM 112. *Journal of Plant Physiology*, 171(14), 1289–1298. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.05.005>
319. Redman, R. S., Dunigan, D. D., & Rodriguez, R. J. (2001). Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: Who controls the outcome, host or invader? *New Phytologist*, 151(3), 705–716. <https://doi.org/10.1046/j.0028-646x.2001.00210.x>
320. Regvar, M., Eichert, D., Kaulich, B., Gianoncelli, A., Pongrac, P., Vogel-Mikus, K., & Kreft, I. (2011). New insights into globoids of protein storage vacuoles in wheat aleurone using synchrotron soft X-ray microscopy. *Journal of Experimental Botany*, 62(11), 3929–3939. <https://doi.org/10.1093/jxb/err090>
321. Rehman, A., Farooq, M., Naveed, M., Nawaz, A., & Shahzad, B. (2018). Seed priming of Zn with endophytic bacteria improves the productivity and grain biofortification of bread wheat. *European Journal of Agronomy*, 94, 98–107. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.01.017>
322. Reiter, B., Pfeifer, U., Schwab, H., & Sessitsch, A. (2002). Response of Endophytic Bacterial Communities in Potato Plants to Infection with *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(5), 2261–2268. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2261-2268.2002>
323. Remus, R., Ruppel, S., Jacob, H.-J., Hecht-Buchholz, C., & Merbach, W. (2000). Colonization behaviour of two enterobacterial strains on cereals. *Biology and Fertility of Soils*, 30(5–6), 550–557. <https://doi.org/10.1007/s003740050035>
324. Reynolds, M. P., Lewis, J. M., Ammar, K., Basnet, B. R., Crespo-Herrera, L., ... & Braun, H. J. (2021). Harnessing translational research in wheat for climate resilience. *J. of Exper. Botany*, 72(14), 5134–5157. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab256>

325. Riaz, M. U., Ayub, M. A., Khalid, H., ul Haq, M. A., Rasul, A., ur Rehman, M. Z., & Ali, S. (2020). Fate of Micronutrients in Alkaline Soils. B S. Kumar, R. S. Meena, & M. K. Jhariya (Ред.), *Resources Use Efficiency in Agriculture* (c. 577–613). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-6953-1\\_16](https://doi.org/10.1007/978-981-15-6953-1_16)
326. Ribeiro, I. D. A., Volpiano, C. G., Vargas, L. K., Granada, C. E., Lisboa, B. B., & Passaglia, L. M. P. (2020). Use of Mineral Weathering Bacteria to Enhance Nutrient Availability in Crops: A Review. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 590774. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.590774>
327. Ridout, M. E., Schroeder, K. L., Hunter, S. S., Styer, J., & Newcombe, G. (2019). Priority effects of wheat seed endophytes on a rhizosphere symbiosis. *Symbiosis*, *78*(1), 19–31. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00606-6>
328. Riesenfeld, C. S., Schloss, P. D., & Handelsman, J. (2004). Metagenomics: Genomic Analysis of Microbial Communities. *Annual Review of Genetics*, *38*(1), 525–552. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.38.072902.091216>
329. Rijavec, T., Lapanje, A., Dermastia, M., & Rupnik, M. (2007). Isolation of bacterial endophytes from germinated maize kernels. *Canadian Journal of Microbiology*, *53*(6), 802–808. <https://doi.org/10.1139/W07-048>
330. Ritchie, S. W., Nguyen, H. T., & Holaday, A. S. (1990). Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Sci.*, *30*(1), 105–111. <https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x>
331. Robinson, R. J., Fraaije, B. A., Clark, I. M., Jackson, R. W., Hirsch, P. R., & Mauchline, T. H. (2016a). Wheat seed embryo excision enables the creation of axenic seedlings and Koch’s postulates testing of putative bacterial endophytes. *Scientific Reports*, *6*(1), 25581. <https://doi.org/10.1038/srep25581>
332. Robinson, R. J., Fraaije, B. A., Clark, I. M., Jackson, R. W., Hirsch, P. R., & Mauchline, T. H. (2016b). Endophytic bacterial community composition in wheat is determined by plant tissue type, developmental stage and soil nutrient availability. *Plant and Soil*, *405*(1–2), 381–396. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2495-4>

333. Rodríguez, R., & Redman, R. (2008). More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: Plant stress tolerance via fungal symbiosis. *J. of Exp. Bot.*, 59(5), 1109–1114. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm342>
334. Román-Ponce, B., Ramos-Garza, J., Vásquez-Murrieta, M. S., Rivera-Orduña, F. N., Chen, W. F., Yan, J., Estrada-de los Santos, P., & Wang, E. T. (2016). Cultivable endophytic bacteria from heavy metal(loid)-tolerant plants. *Archives of Microbiology*, 198(10), 941–956. <https://doi.org/10.1007/s00203-016-1252-2>
335. Román-Ponce, B., Wang, D., Soledad Vásquez-Murrieta, M., Feng Chen, W., ... & Tao Wang, E. (2016). *Kocuria arsenatis* sp. Nov., an arsenic-resistant endophytic actinobacterium associated with *Prosopis laevigata* grown on high-arsenic-polluted mine tailing. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(2), 1027–1033. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000830>
336. Rostamza, M., Chaichi, M.-R., Jahansooz, M., Mashhadi, H. R., & Sharifi, H.-R. (2011). Effects of Water Stress and Nitrogen Fertilizer on Multi-Cut Forage Pearl Millet Yield, Nitrogen, and Water Use Efficiency. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 42(20), 2427–2440. <https://doi.org/10.1080/00103624.2011.609252>
337. Rotaru, V. (2011). The effect of phosphorus and iron on plant growth and nutrient status of two soybean (*Glycine max* L.) cultivars under suboptimal water regime of soil. *Lucrari Stiintifice, seria Agronomie*, 54, 11–16.
338. Rout, G. R., & Sahoo, S. (2015). Role of iron in plant growth and metabolism. *Reviews in Agricultural Science*, 3(0), 1–24. <https://doi.org/10.7831/ras.3.1>
339. Ruiz Rosquete, M., Barbez, E., & Kleine-Vehn, J. (2012). Cellular Auxin Homeostasis: Gatekeeping Is Housekeeping. *Molecular Plant*, 5(4), 772–786. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr109>
340. Sabaté, D. C., Brandan, C. P., Petroselli, G., Erra-Balsells, R., & Audisio, M. C. (2018). Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary on common bean by native lipopeptide-producer *Bacillus* strains. *Microbiological Research*, 211, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.003>

341. Sadeghzadeh, B., & Rengel, Z. (2011). Zinc in Soils and Crop Nutrition. B M. J. Hawkesford & P. Barraclough (Ред.), *The Molec. and Physiol. Basis of Nutrient Use Efficiency in Crops* (c. 335–375). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470960707.ch16>
342. Saini, D. K., Devi, P., & Kaushik, P. (2020). Advances in Genomic Interventions for Wheat Biofortification: A Review. *Agronomy*, 10(1), 62. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010062>
343. Saint Pierre, C., Crossa, J. L., Bonnett, D., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Reynolds, M. P. (2012). Phenotyping transgenic wheat for drought resistance. *Journal of Experimental Botany*, 63(5), 1799–1808. <https://doi.org/10.1093/jxb/err385>
344. Saldierna Guzmán, J. P., Reyes-Prieto, M., & Hart, S. C. (2021). Characterization of *Erwinia gerundensis* A4, an Almond-Derived Plant Growth-Promoting Endophyte. *Frontiers in Microbiology*, 12, 687971. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.687971>
345. Sambrook, J.; Fritsch, E.F.; Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual; cold spring harbor laboratory: *Cold Spring Harbor*, NY, USA, 1989.
346. Sangthong, C., Setkit, K., & Prapagdee, B. (2016). Improvement of cadmium phytoremediation after soil inoculation with a cadmium-resistant *Micrococcus* sp. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(1), 756–764. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5318-5>
347. Santos, M. L. dos, Berlitz, D. L., Wiest, S. L. F., Schünemann, R., Knaak, N., & Fiuza, L. M. (2018). benefits associated with the interaction of endophytic bacteria and plants. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 61(0). <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2018160431>
348. Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, Ma., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>
349. Sarto, M. V. M., Sarto, J. R. W., Rampim, L., Bassegio, D., da Costa, P. F., and Inagaki, A. M. (2017). Wheat phenology and yield under drought: A review. *Aust. J. Crop Sci.*, 11, 941–946. <https://doi.org/doi:10.21475/ajcs17.11.08.pne351>



350. Scholz-Seidel, C., & Ruppel, S. (1992). Nitrogenase- and Phytohormone Activities of *Pantoea agglomerans* in Culture and their Reflection in Combination with Wheat Plants. *Zentralblatt Für Mikrobiologie*, 147(5), 319–328. [https://doi.org/10.1016/S0232-4393\(11\)80395-1](https://doi.org/10.1016/S0232-4393(11)80395-1)
351. Seddaiu, G., Iocola, I., Farina, R., Orsini, R., Iezzi, G., & Roggero, P. P. (2016). Long term effects of tillage practices and N fertilization in rainfed Mediterranean cropping systems: Durum wheat, sunflower and maize grain yield. *European Journal of Agronomy*, 77, 166–178. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.02.008>
352. Senapati, N., Stratonovitch, P., Paul, M. J., & Semenov, M. A. (2019). Drought tolerance during reproductive development is important for increasing wheat yield potential under climate change in Europe. *Journal of Experimental Botany*, 70(9), 2549–2560. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery226>
353. Sessitsch, A., Kuffner, M., Kidd, P., Vangronsveld, J., Wenzel, W. W., Fallmann, K., & Puschenreiter, M. (2013). The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 60, 182–194. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.01.012>
354. Shade, A., Jacques, M.-A., & Barret, M. (2017). Ecological patterns of seed microbiome diversity, transmission, and assembly. *Current Opinion in Microbiology*, 37, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.03.010>
355. Shahzad, R., Khan, A. L., Bilal, S., Asaf, S., & Lee, I.-J. (2018). What Is There in Seeds? Vertically Transmitted Endophytic Resources for Sustainable Improvement in Plant Growth. *Frontiers in Plant Science*, 9, 24. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00024>
356. Sharma, S. K. (2012). Characterization of Zinc-Solubilizing *Bacillus* Isolates and their Potential to Influence Zinc Assimilation in Soybean Seeds. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(3), 352–359. <https://doi.org/10.4014/jmb.1106.05063>
357. Sheng, H., Jiang, Y., Rahmati, M., Chia, J.-C., Dokuchayeva, T., Kavulych, Y., Zavodna, T.-O., ... & Vatamaniuk, O. K. (2021). YSL3-mediated copper distribution is required for fertility, seed size and protein accumulation in *Brachypodium*. *Plant Physiology*, 186(1), 655–676. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab054>

358. Shewry, P. R., & Hey, S. J. (2015). The contribution of wheat to human diet and health. *Food and Energy Security*, 4(3), 178–202. <https://doi.org/10.1002/fes3.64>
359. Shewry, P. R., Halford, N. G., Belton, P. S., & Tatham, A. S. (2002). The structure and properties of gluten: An elastic protein from wheat grain. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 357(1418), 133–142. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.1024>
360. Shewry, P.R., Tatham, A.S., Forde, J., Kreis, M., Mifflin, B.J. (1986). The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: A reassessment. *J. Cereal Sci.*, 4, 97–106.
361. Shi, Y., Zhang, X., & Lou, K. (2013). Isolation, Characterization, and Insecticidal Activity of an Endophyte of Drunken Horse Grass, *Achnatherum inebrians*. *Journal of Insect Science*, 13(151), 1–12. <https://doi.org/10.1673/031.013.15101>
362. Siegmann, B., & Jarmer, T. (2015). Comparison of different regression models and validation techniques for the assessment of wheat leaf area index from hyperspectral data. *International Journal of Remote Sensing*, 36(18), 4519–4534. <https://doi.org/10.1080/01431161.2015.1084438>
363. Singh, D., & Prasanna, R. (2020). Potential of microbes in the biofortification of Zn and Fe in dietary food grains. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 40(2), 15. <https://doi.org/10.1007/s13593-020-00619-2>
364. Singh, D., Geat, N., Rajawat, M. V. S., Prasanna, R., & Saxena, A. K. (2020). Performance of low and high Fe accumulator wheat genotypes grown on soils with low or high available Fe and endophyte inoculation. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(2), 24. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2997-4>
365. Singh, D., Geat, N., Rajawat, M. V. S., Prasanna, R., Kar, A., Singh, A. M., & Saxena, A. K. (2018). Prospecting endophytes from different Fe or Zn accumulating wheat genotypes for their influence as inoculants on plant growth, yield, and micronutrient content. *Annals of Microbiology*, 68(12), 815–833. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1388-1>

366. Singh, D., Rajawat, M. V. S., Kaushik, R., Prasanna, R., & Saxena, A. K. (2017). Beneficial role of endophytes in biofortification of Zn in wheat genotypes varying in nutrient use efficiency grown in soils sufficient and deficient in Zn. *Plant and Soil*, 416(1–2), 107–116. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3189-x>
367. Singh, K., Batra, R., Sharma, S., Saripalli, G., Gautam, T., Singh, R., Pal, S., ... & Gupta, P. K. (2021). Wheat QTLdb: A QTL database for wheat. *Molecular Genetics and Genomics*, 296(5), 1051–1056. <https://doi.org/10.1007/s00438-021-01796-9>
368. Singh, M. V. P. (2009). Micronutrient nutritional problems in soils of India and improvement for human and animal health. *Indian Journal of Fertilisers*, 5, 11–56.
369. Smirnov, O., Karpets, L.-A., Zinchenko, A., Kovalenko, M., & Taran, N. (2020). Changes of morphofunctional traits of *Triticum aestivum* and *Triticum dicoccum* seedlings caused by polyethylene glycol-modeling drought. *Journal of Central European Agriculture*, 21(2), 268–274. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/21.2.2341>
370. Sofla, R.K.B.; Alikhani, H.; Etesami, H. (2020). Effect of *Staphylococcus* sp. Bacteria isolated from salicornia plant on wheat growth. *J. Water Soil Conserv.*, 26, 179–196.
371. Solanki, M. K., Abdelfattah, A., Britzi, M., Zakin, V., Wisniewski, M., Droby, S., & Sionov, E. (2019). Shifts in the Composition of the Microbiota of Stored Wheat Grains in Response to Fumigation. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1098. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01098>
372. Soliman, T., Yang, S.-Y., Yamazaki, T., & Jenke-Kodama, H. (2017). Profiling soil microbial communities with next-generation sequencing: The influence of DNA kit selection and technician technical expertise. *PeerJ*, 5, e4178. <https://doi.org/10.7717/peerj.4178>
373. Soluch, R., Hülter, N. F., Romero Picazo, D., Özkurt, E., Stukenbrock, E. H., & Dagan, T. (2021). Colonization dynamics of *Pantoea agglomerans* in the wheat root habitat. *Environmental Microbiology*, 23(4), 2260–2273. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15430>

374. Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(4), 425–448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>
375. Stępień, A., Stępień, A., & Wojtkowiak, K. (2015). Effect of meat and bone meal on the content of microelements in the soil and wheat grains and oilseed rape seeds. *Journal of Elementology*, 4/2015. <https://doi.org/10.5601/jelem.2015.20.1.811>
376. Stępniewska, Z., Kuźniar, A. (2013). Endophytic microorganisms—Promising applications in bioremediation of greenhouse gases. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 97, 9589–9596. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5235-9>.
377. Stevens, G. A., Finucane, M. M., De-Regil, L. M., Paciorek, C. J., Flaxman, S. R., ... & Ezzati, M. (2013). Global, regional, and national trends in haemoglobin concentration and prevalence of total and severe anaemia in children and pregnant and non-pregnant women for 1995–2011: A systematic analysis of population-representative data. *The Lancet Global Health*, 1(1), e16–e25. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(13\)70001-9](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(13)70001-9)
378. Stevenson, F. J. (2018). Organic Matter-Micronutrient Reactions in Soil. B J. J. Mortvedt (Ред.), *SSSA Book Series* (c. 145–186). Soil Science Society of America. <https://doi.org/10.2136/sssabookser4.2ed.c6>
379. Suchowilska, E., Wiwart, M., Kandler, W., & Krska, R. (2012). A comparison of macro- and microelement concentrations in the whole grain of four Triticum species. *Plant, Soil and Environment*, 58( 3), 141–147. <https://doi.org/10.17221/688/2011-PSE>
380. Suganya, A., Saravanan, A., & Manivannan, N. (2020). role of zinc nutrition for increasing zinc availability, uptake, yield, and quality of maize ( *Zea Mays* L.) Grains: An Overview. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(15), 2001–2021. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1820030>
381. Suhandono, S., Kusumawardhani, M. K., & Aditiawati, P. (2016). Isolation and Molecular Identification of Endophytic Bacteria From Rambutan Fruits Cultivar Binjai. *HAYATI J. of Biosci.*, 23(1), 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2016.01.005>

382. Sun, X., Kosman, E., & Sharon, A. (2020). Stem Endophytic Mycobiota in Wild and Domesticated Wheat: Structural Differences and Hidden Resources for Wheat Improvement. *Journal of Fungi*, 6(3), 180. <https://doi.org/10.3390/jof6030180>
383. Sun, Z., Yue, Z., Liu, H., Ma, K., & Li, C. (2021). Microbial-Assisted Wheat Iron Biofortification Using Endophytic *Bacillus altitudinis* WR10. *Frontiers in Nutrition*, 8, 704030. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.704030>
384. Sushree Shyamli, P., Rana, S., Suranjika, S., Muthamilarasan, M., Parida, A., & Prasad, M. (2021). Genetic determinants of micronutrient traits in graminaceous crops to combat hidden hunger. *Theoretical and Applied Genetics*, 134(10), 3147–3165. <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03878-z>
385. Svietlova, N., Topchiy, N., Storozhenko, V., Smirnov, O., Kovalenko, M., Batsmanova, L., & Taran, N. (2021). Photosynthetic response of some Triticum cultivars to the combined influence of nanofertilizers and water deficit. *J. of Central European Agriculture*, 22(3), 539–545. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/22.3.3174>
386. Tabei, H., Azegami, K., & Fukuda, T. (1988). Infection site of rice grain with *Erwinia herbicola*, the causal agent of bacterial palea browning of rice. *Japanese J. of Phytopathology*, 54(5), 637–639. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.54.637>
387. Tan, R. X., & Zou, W. X. (2001). Endophytes: A rich source of functional metabolites (1987 to 2000). *Natural Product Reports*, 18(4), 448–459. <https://doi.org/10.1039/b100918o>
388. Tancos, M. A., Chalupowicz, L., Barash, I., Manulis-Sasson, S., & Smart, C. D. (2013). Tomato Fruit and Seed Colonization by *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis* through External and Internal Routes. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(22), 6948–6957. <https://doi.org/10.1128/AEM.02495-13>
389. Tao, A., Pang, F., Huang, S., Yu, G., Li, B., & Wang, T. (2014). Characterisation of endophytic *Bacillus thuringiensis* strains isolated from wheat plants as biocontrol agents against wheat flag smut. *Biocontrol Science and Technology*, 24(8), 901–924. <https://doi.org/10.1080/09583157.2014.904502>

390. Tao, Z., Chang, X., Wang, D., Wang, Y., Ma, S., Yang, Y., & Zhao, G. (2018). Effects of sulfur fertilization and short-term high temperature on wheat grain production and wheat flour proteins. *The Crop Journal*, 6(4), 413–425. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2018.01.007>
391. Taskin, M. B., & Gunes, A. (2022). Iron Biofortification of Wheat Grains by Foliar Application of Nano Zero-valent Iron (nZVI) and Other Iron Sources with Urea. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. <https://doi.org/10.1007/s42729-022-00946-1>
392. Tavallali, V., Rahemi, M., Eshghi, S., Kholdebarin, B., & Ramezani, A. (2010). Zinc alleviates salt stress and increases antioxidant enzyme activity in the leaves of pistachio (*Pistacia vera* L. ‘Badami’) seedlings. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. <https://doi.org/10.3906/tar-0905-10>
393. Tekin, M., Cengiz, M. F., Abbasov, M., Aksoy, A., Canci, H., & Akar, T. (2018). Comparison of some mineral nutrients and vitamins in advanced hulled wheat lines. *Cereal Chemistry*, 95(3), 436–444. <https://doi.org/10.1002/cche.10045>
394. Tester, M., & Bacic, A. (2005). Abiotic stress tolerance in grasses. from model plants to crop plants. *Plant Physiology*, 137(3), 791–793. <https://doi.org/10.1104/pp.104.900138>
395. Thompson B. (2020). Isolation and characterization of bacterial endophytes for growth promotion of *Phaseolus vulgaris* under salinity stress. *University of the Western Cape, Cape Town* Return to ref 2020 in article.
396. Thungo, Z., Shimelis, H., Odindo, A. O., & Mashilo, J. (2020). Assessment of terminal drought tolerance among elite wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes using selected agronomic and physiological traits. *Acta Agric. Scand., Section B — Soil & Plant Sci.*, 70(3), 177–194. <https://doi.org/10.1080/09064710.2019.1691644>
397. Thungo, Z., Shimelis, H., Odindo, A., & Mashilo, J. (2021). Genetic gain for agronomic, physiological, and biochemical traits and quality attributes in bread wheat: A meta-analysis. *Euphytica*, 217(6), 119. <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02846-4>
398. Tognetti, V. B., Zurbriggen, M. D., Morandi, E. N., Fillat, M. F., Valle, E. M., Hajirezaei, M.-R., & Carrillo, N. (2007). Enhanced plant tolerance to iron starvation by

- functional substitution of chloroplast ferredoxin with a bacterial flavodoxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(27), 11495–11500. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704553104>
399. Tom-Petersen, A., Hansen, H. C. B., & Nybroe, O. (2004). Time and Moisture Effects on Total and Bioavailable Copper in Soil Water Extracts. *Journal of Environmental Quality*, 33(2), 505–512. <https://doi.org/10.2134/jeq2004.5050>
400. Torsvik, V., Øvreås, L. (2002). Microbial diversity and function in soil: From genes to ecosystems. *Ecology and industrial microbiology*, 5, 240–245.
401. Tripathi, S., Bahuguna, R. N., Shrivastava, N., Singh, S., Chatterjee, A., Varma, A., & Jagadish, S. K. (2022). Microbial biofortification: A sustainable route to grow nutrient-rich crops under changing climate. *Field Crops Research*, 287, 108662. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2022.108662>
402. Truyens, S., Weyens, N., Cuypers, A., & Vangronsveld, J. (2015). Bacterial seed endophytes: Genera, vertical transmission and interaction with plants: Bacterial seed endophytes. *Environmental Microbiology Reports*, 7(1), 40–50. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12181>
403. Turner, S., Pryer, K. M., Miao, V. P. W., & Palmer, J. D. (1999). Investigating Deep Phylogenetic Relationships among Cyanobacteria and Plastids by Small Subunit rRNA Sequence Analysis. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 46(4), 327–338. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1999.tb04612.x>
404. Ullah, H., Yasmin, H., Mumtaz, S., Jabeen, Z., Naz, R., Nosheen, A., & Hassan, M. N. (2020). Multitrait *Pseudomonas* spp. Isolated from Monocropped Wheat ( *Triticum aestivum* ) Suppress Fusarium Root and Crown Rot. *Phytopathology*®, 110(3), 582–592. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-19-0383-R>
405. Umar, M., Nawaz, R., Sher, A., Ali, A., Hussain, R., & Khalid, M. W. (2019). Current Status and Future Perspectives of Biofortification in Wheat. *Asian Journal of Research in Crop Science*, 1–14. <https://doi.org/10.9734/ajrcs/2019/v4i430079>
406. UN, Department of Economic and Social Affairs: Population Division. *World Population Prospects: The 2015 Revision*. United Nations: New York; 2015. (2015).

407. Ur Rahman, S., Xuebin, Q., Riaz, L., Yasin, G., Noor Shah, A., Shahzad, U., ... & Du, Z. (2021). The interactive effect of pH variation and cadmium stress on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth, physiological and biochemical parameters. *PLOS ONE*, *16*(7), e0253798. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253798>
408. Urade, R., Sato, N., & Sugiyama, M. (2018). Gliadins from wheat grain: An overview, from primary structure to nanostructures of aggregates. *Biophysical Reviews*, *10*(2), 435–443. <https://doi.org/10.1007/s12551-017-0367-2>
409. Van Der Straeten, D., Fitzpatrick, T. B., & De Steur, H. (2017). Editorial overview: Biofortification of crops: achievements, future challenges, socio-economic, health and ethical aspects. *Current Opinion in Biotechnology*, *44*, vii–x. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.03.007>
410. Van Overbeek, L. S., & Saikkonen, K. (2016). Impact of Bacterial–Fungal Interactions on the Colonization of the Endosphere. *Trends in Plant Science*, *21*(3), 230–242. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.003>
411. Vasconcelos, M. W., Gruissem, W., & Bhullar, N. K. (2017). Iron biofortification in the 21st century: Setting realistic targets, overcoming obstacles, and new strategies for healthy nutrition. *Current Opinion in Biotechnology*, *44*, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.10.001>
412. Velimirovic, A., Jovovic, Z., & Przulj, N. (2021). From neolithic to late modern period: Brief history of wheat. *Genetika*, *53*(1), 407–417. <https://doi.org/10.2298/GENSR2101407V>
413. Verma, P., Yadav, A. N., Khannam, K. S., Panjari, N., Kumar, S., Saxena, A. K., & Suman, A. (2015). Assessment of genetic diversity and plant growth promoting attributes of psychrotolerant bacteria allied with wheat from the northern hills zone of India. *Ann. of Microbiol.*, *65*(4), 1885–1899. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-1027-4>
414. Verma, P.; Yadav, A.N.; Kazy, S.K.; Saxena, A.K.; Suman, A. (2014). Evaluating the diversity and phylogeny of plant growth promoting bacteria associated with wheat growing in central zone of India. *Int. J. Curr. Micr.. Appl. Sci.*, *3*, 432–447.



415. Verma, S. K., Sahu, P. K., Kumar, K., Pal, G., Gond, S. K., Kharwar, R. N., & White, J. F. (2021). Endophyte roles in nutrient acquisition, root system architecture development and oxidative stress tolerance. *Journal of Applied Microbiology*, *131*(5), 2161–2177. <https://doi.org/10.1111/jam.15111>
416. Visser ME, Durao S, Sinclair D et al. (2017). Micronutrient supplementation in adults with HIV infection. *Cochrane Database Syst. Rev.*, *5*:003650.
417. Wanees, A. E., Zaslow, S. J., Potter, S. J., Hsieh, B. P., Boss, B. L., & Izquierdo, J. A. (2018). Draft genome sequence of the plant growth-promoting sphingobium sp. strain aew4, isolated from the rhizosphere of the beachgrass *Ammophila breviligulata*. *Genome Announc.*, *6*(21), e00410-18. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00410-18>
418. Wang, L., Xia, H., Li, X., Qiao, Y., Xue, Y., Jiang, X., Yan, W., Liu, Y., Xue, Y., & Kong, L. (2021). Source–Sink Manipulation Affects Accumulation of Zinc and Other Nutrient Elements in Wheat Grains. *Plants*, *10*(5), 1032. <https://doi.org/10.3390/plants10051032>
419. Wang, Y., Hu, W., Zhang, X., Li, L., Kang, G., Feng, W., Zhu, Y., Wang, C., & Guo, T. (2014). Effects of cultivation patterns on winter wheat root growth parameters and grain yield. *Field Crops Research*, *156*, 208–218. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.11.017>
420. Waters, B. M., Uauy, C., Dubcovsky, J., & Grusak, M. A. (2009). Wheat (*Triticum aestivum*) NAM proteins regulate the translocation of iron, zinc, and nitrogen compounds from vegetative tissues to grain. *Journal of Experimental Botany*, *60*(15), 4263–4274. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp257>
421. Weatherley, P. E. (1950). Studies in the water relations of the cotton plant the field measurement of water deficits in leaves. *New Phytologist*, *49*(1), 81–97. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1950.tb05146.x>
422. Wendel, S. O., Menon, S., Alshetaiwi, H., Shrestha, T. B., Chlebanowski, L., Hsu, W.-W., Bossmann, S. H., Narayanan, S., & Troyer, D. L. (2015). Cell Based Drug Delivery: *Micrococcus luteus* Loaded Neutrophils as Chlorhexidine Delivery Vehicles in

- a Mouse Model of Liver Abscesses in Cattle. *PLOS ONE*, 10(5), e0128144. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128144>
423. Wenzel, W.G., Van den Berg, W.J.. (1987). Leaf water retention of excised leaves as a measure of drought resistance in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) genotypes. *South African Journal of Plant and Soil*, 4(1), 31–34. <https://doi.org/10.1080/02571862.1987.10634232>
424. Wessells, K. R., & Brown, K. H. (2012). Estimating the Global Prevalence of Zinc Deficiency: Results Based on Zinc Availability in National Food Supplies and the Prevalence of Stunting. *PLoS ONE*, 7(11), e50568. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050568>
425. Weyens, N., Beckers, B., Schellingen, K., Ceulemans, R., Croes, S., Janssen, J., Haenen, S., Witters, N., & Vangronsveld, J. (2013). Plant-associated bacteria and their role in the success or failure of metal phytoextraction projects: First observations of a field-related experiment: Role of plant-associated bacteria in Cd phytoextraction. *Microbial Biotechnology*, 6(3), 288–299. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12038>
426. White, J. F., Kingsley, K. L., Zhang, Q., Verma, R., Obi, N., Dvinskikh, S., Elmore, M. T., Verma, S. K., Gond, S. K., & Kowalski, K. P. (2019). Review: Endophytic microbes and their potential applications in crop management. *Pest Management Science*, 75(10), 2558–2565. <https://doi.org/10.1002/ps.5527>
427. White, P. J., & Broadley, M. R. (2009). Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist*, 182(1), 49–84. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02738.x>
428. White, P., & Broadley, M. (2005). Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends in Plant Science*, 10(12), 586–593. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.10.001>
429. White, P., Pongrac, P., Sneddon, C., Thompson, J., & Wright, G. (2018). Limits to the Biofortification of Leafy Brassicas with Zinc. *Agriculture*, 8(3), 32. <https://doi.org/10.3390/agriculture8030032>

430. Wilson, T. L., Guttieri, M. J., Nelson, N. O., Fritz, A., & Tilley, M. (2020). Nitrogen and sulfur effects on hard winter wheat quality and asparagine concentration. *Journal of Cereal Science*, *93*, 102969. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102969>
431. Witzel, K., Gwinn-Giglio, M., Nadendla, S., Shefchek, K., & Ruppel, S. (2012). Genome Sequence of *Enterobacter radicincitans* DSM16656<sup>T</sup>, a Plant Growth-Promoting Endophyte. *Journal of Bacteriology*, *194*(19), 5469–5469. <https://doi.org/10.1128/JB.01193-12>
432. Woźniak, A., & Soroka, M. (2018). Effect of crop rotation and tillage system on the weed infestation and yield of spring wheat and on soil properties. *Appl. Ecology and Environm. Res.*, *16*(3), 3087–3096. [https://doi.org/10.15666/aecer/1603\\_30873096](https://doi.org/10.15666/aecer/1603_30873096)
433. Woźniak, M., Gałązka, A., Tyśkiewicz, R., & Jaroszuk-Ściśeł, J. (2019). Endophytic bacteria potentially promote plant growth by synthesizing different metabolites and their phenotypic/physiological profiles in the biolog GEN III MicroPlate™ Test. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(21), 5283. <https://doi.org/10.3390/ijms20215283>
434. Wu, B., Andersch, F., Weschke, W., Weber, H., & Becker, J. S. (2013). Diverse accumulation and distribution of nutrient elements in developing wheat grain studied by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry imaging. *Metallomics*, *5*(9), 1276. <https://doi.org/10.1039/c3mt00071k>
435. Wu, W., & Ma, B. (2015). Integrated nutrient management (INM) for sustaining crop productivity and reducing environmental impact: A review. *Science of The Total Environment*, *512–513*, 415–427. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.101>
436. Würschum, T., Leiser, W. L., Langer, S. M., Tucker, M. R., & Longin, C. F. H. (2018). Phenotypic and genetic analysis of spike and kernel characteristics in wheat reveals long-term genetic trends of grain yield components. *Theoretical and Applied Genetics*, *131*(10), 2071–2084. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3133-3>
437. Xie, Y., Wang, P., Bai, X., Khan, J., Zhang, S., Li, L., & Wang, L. (2017). Assimilation of the leaf area index and vegetation temperature condition index for winter wheat yield estimation using Landsat imagery and the CERES-Wheat model.

<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2017.06.015>

438. Xu, J., Kloepper, J. W., Huang, P., McInroy, J. A., & Hu, C. H. (2018). Isolation and characterization of N<sub>2</sub>-fixing bacteria from giant reed and switchgrass for plant growth promotion and nutrient uptake. *Journal of Basic Microbiology*, 58(5), 459–471. <https://doi.org/10.1002/jobm.201700535>
439. Xu, Y., An, D., Liu, D., Zhang, A., Xu, H., & Li, B. (2012). Molecular mapping of QTLs for grain zinc, iron and protein concentration of wheat across two environments. *Field Crops Research*, 138, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.09.017>
440. Xu, Y., Zhang, S., Guo, H., Wang, S., Xu, L., Li, C., Qian, Q., ... & Jiang, D. A. (2014). OsABCB14 functions in auxin transport and iron homeostasis in rice (*Oryza sativa* L.). *The Plant Journal*, 79(1), 106–117. <https://doi.org/10.1111/tpj.12544>
441. Xu, Y.-G., Wang, B.-S., Yu, J.-J., Ao, G.-M., & Zhao, Q. (2010). Cloning and characterisation of ZmZLP1, a gene encoding an endoplasmic reticulum-localised zinc transporter in *Zea mays*. *Functional Plant Biology*, 37(3), 194. <https://doi.org/10.1071/FP09045>
442. Yan, J., Chia, J.-C., Sheng, H., Jung, H., Zavodna, T.-O., Zhang, L., Huang, R., Jiao, C., Craft, E. J., Fei, Z., Kochian, L. V., & Vatamaniuk, O. K. (2017). Arabidopsis Pollen Fertility Requires the Transcription Factors CITF1 and SPL7 That Regulate Copper Delivery to Anthers and Jasmonic Acid Synthesis. *The Plant Cell*, 29(12), 3012–3029. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00363>
443. Yan, M., Pan, G., Lavalley, J. M., & Conant, R. T. (2020). Rethinking sources of nitrogen to cereal crops. *Global Change Biology*, 26(1), 191–199. <https://doi.org/10.1111/gcb.14908>
444. Yan, M., Zheng, L., Li, B., Shen, R., & Lan, P. (2021). Comparative proteomics reveals new insights into the endosperm responses to drought, salinity and submergence in germinating wheat seeds. *Plant Molecular Biology*, 105(3), 287–302. <https://doi.org/10.1007/s11103-020-01087-8>

445. Yaseen, M. (2018). Microbial Assisted Foliar Feeding of Micronutrients Enhance Growth, Yield and Biofortification of Wheat. *International Journal of Agriculture and Biology*, 353–360. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0498>
446. Young, C.-C., Arun, A. B., Kampfner, P., Busse, H.-J., Lai, W.-A., Chen, W.-M., Shen, F.-T., & Rekha, P. D. (2008). *Sphingobium rhizovicinum* sp. Nov., isolated from rhizosphere soil of *Fortunella hindsii* (Champ. Ex Benth.) Swingle. *Int. J. of System. and Evolutionary Microbiol.*, 58(8), 1801–1806. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65564-0>
447. Yu Xurun, X., Li, B., Wang, L., Chen, X., Wang, W., Gu, Y., Wang, Z., & Xiong, F. (2016). Effect of drought stress on the development of endosperm starch granules and the composition and physicochemical properties of starches from soft and hard wheat: Effect of drought stress on starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(8), 2746–2754. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7439>
448. Yu, J., Jiang, M., & Guo, C. (2019). Crop pollen development under drought: from the phenotype to the mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(7), 1550. <https://doi.org/10.3390/ijms20071550>
449. Yu, P., Hegeman, A. D., & Cohen, J. D. (2014). A facile means for the identification of indolic compounds from plant tissues. *The Plant Journal*, 79(6), 1065–1075. <https://doi.org/10.1111/tpj.12607>
450. Yu, Z., Islam, S., She, M., Diepeveen, D., Zhang, Y., Tang, G., Zhang, J., Juhasz, A., Yang, R., & Ma, W. (2018). Wheat grain protein accumulation and polymerization mechanisms driven by nitrogen fertilization. *The Plant Journal*, 96(6), 1160–1177. <https://doi.org/10.1111/tpj.14096>
451. Yuan, M., Li, X., Xiao, J., & Wang, S. (2011). Molecular and functional analyses of COPT/Ctr-type copper transporter-like gene family in rice. *BMC Plant Biology*, 11(1), 69. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-69>
452. Zadoks, J.C., Chang, T.T., Konzak, C.F. (1974). A decimal code for the growth stage of cereal. *Weed Research*, 14(6), 415–421.
453. Zaheer, M. S., Raza, M. A. S., Saleem, M. F., Khan, I. H., Ahmad, S., Iqbal, R., & Manevski, K. (2019). Investigating the effect of *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium*

- psi* on agronomic traits of wheat. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 65(11), 1554–1564. <https://doi.org/10.1080/03650340.2019.1566954>
454. Zahir, Z. A., Abbas, S. A., Khalid, M., & Arshad, M. (2000). Substrate Dependent Microbially Derived Plant Hormones for Improving Growth of Maize Seedlings. *Pakistan J. of Biol. Sci.*, 3(2), 289–291. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2000.289.291>
455. Zaveri, E., & B. Lobell, D. (2019). The role of irrigation in changing wheat yields and heat sensitivity in India. *Nature Communications*, 10(1), 4144. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12183-9>
456. Zeidan, M., Manal, F. & Hamouda, H. (2010). Effect of Foliar Fertilization of Fe, Mn and Zn on Wheat Yield and Quality in Low Sandy Soils Fertility. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6(6), 696–699.
457. Zhang, J., Zhang, H., Li, S., Li, J., Yan, L., & Xia, L. (2021). Increasing yield potential through manipulating of an *ARE1* ortholog related to nitrogen use efficiency in wheat by CRISPR/Cas9. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(9), 1649–1663. <https://doi.org/10.1111/jipb.13151>
458. Zhang, L., Hu, Q., Liu, B., Li, F., & Jiang, J.-D. (2020). Characterization of a Linuron-Specific Amidohydrolase from the Newly Isolated Bacterium *Sphingobium* sp. Strain SMB. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(15), 4335–4345. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00597>
459. Zhang, P., Zhu, Y., Ma, D., Xu, W., Zhou, J., Yan, H., Yang, L., & Yin, J. (2019). Screening, Identification, and Optimization of Fermentation Conditions of an Antagonistic Endophyte to Wheat Head Blight. *Agronomy*, 9(9), 476. <https://doi.org/10.3390/agronomy9090476>
460. Zhang, X., Zhang, D., Sun, W., & Wang, T. (2019). The Adaptive Mechanism of Plants to Iron Deficiency via Iron Uptake, Transport, and Homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2424. <https://doi.org/10.3390/ijms20102424>
461. Zhang, Y., Shi, R., Rezaul, K. Md., Zhang, F., & Zou, C. (2010). Iron and Zinc concentrations in grain and flour of winter wheat as affected by foliar application. *J. of Agr. and Food Chem.*, 58(23), 12268–12274. <https://doi.org/10.1021/jf103039k>

462. Zhang, Z., Li, J., Hu, N., Li, W., Qin, W., Li, J., Gao, Y., Liu, Y., Sun, Z., Yu, K., Wang, Z., & Zhang, Y. (2021). Spike growth affects spike fertility through the number of florets with green anthers before floret abortion in wheat. *Field Crops Research*, 260, 108007. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.108007>
463. Zhao, C., Liu, B., Piao, S., Wang, X., Lobell, D. B., Huang, Y., Huang, M., Yao, Y., ... & Asseng, S. (2017). Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(35), 9326–9331. <https://doi.org/10.1073/pnas.1701762114>
464. Zhao, F. J., Su, Y. H., Dunham, S. J., Rakszegi, M., Bedo, Z., McGrath, S. P., & Shewry, P. R. (2009). Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. *Journal of Cereal Science*, 49(2), 290–295. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.11.007>
465. Zhao, H.-M., Guo, X.-N., & Zhu, K.-X. (2017). Impact of solid state fermentation on nutritional, physical and flavor properties of wheat bran. *Food Chemistry*, 217, 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.062>
466. Žiarovská, J., Medo, J., Kysel, M., Zamiešková, L., & Kačániová, M. (2020). Endophytic Bacterial Microbiome Diversity in Early Developmental Stage Plant Tissues of Wheat Varieties. *Plants*, 9(2), 266. <https://doi.org/10.3390/plants9020266>
467. Zörb, C., Ludewig, U., & Hawkesford, M. J. (2018). Perspective on Wheat Yield and Quality with Reduced Nitrogen Supply. *Trends in Plant Science*, 23(11), 1029–1037. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.08.012>
468. Zou, C., Du, Y., Rashid, A., Ram, H., Savasli, E., Pieterse, P. J., Ortiz-Monasterio, I., ... & Cakmak, I. (2019). Simultaneous Biofortification of Wheat with Zinc, Iodine, Selenium, and Iron through Foliar Treatment of a Micronutrient Cocktail in Six Countries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(29), 8096–8106. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01829>
469. Zulfiqar, U., Maqsood, M., Hussain, S., & Anwar-ul-Haq, M. (2020). Iron Nutrition Improves Productivity, Profitability, and Biofortification of Bread Wheat under

Conventional and Conservation Tillage Systems. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20(3), 1298–1310. <https://doi.org/10.1007/s42729-020-00213-1>

470. **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.
471. **Макар О.**, Романюк Н., Пацула О., Терек О., Кузняр А., Козловський В. (2020, 27-29 квітня). Варіативність ендofітного мікробіому у сортах пшениці ярої з різною здатністю до накопичення мікроелементів. Збірник тез XVI Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології”, Львів, Україна, 208.
472. **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 ендofіти 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.
473. Шкоропад О., Гольц М., **Макар О.**, Романюк Н. (2019, 9-11 квітня). Попередні результати визначення посухостійкості різних сортів пшениці ярої в умовах вегетаційного дослідження. Збірник тез XV Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології”, Львів, Україна, 183.
474. Kavylych Ya., Kozlovskyy V., Patsula O., Bunio L., Derkach I., **Makar O.**, Nezhyvyy Z., Vatamaniuk O., Romanyuk N., Terek O. (2018, June 27<sup>th</sup>). 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.
475. Kavylych 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.

476. 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.
477. **Makar O.**, Kavylych Ya., Kozlovskyy V., Patsula O., Bunio L., Derkach I., Batrashkina T., Vatamaniuk O., Terek O., Romanyuk N. (2018, June 27<sup>th</sup>). 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.
478. **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.
479. **Makar O.**, Kavulych Y., Patsula O., Bunio L., Batrashkina T., Derkach I., Kozlovskyy V., Fetsukh A., Ju-Chen Chia, Zavodna O., Vatamaniuk 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.
480. **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.
481. **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.

482. **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.
483. **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>
484. 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.
485. <https://www.statista.com/topics/1668/wheat/>
486. <https://www.guinnessworldrecords.com/world-records/highest-wheat-yiel>
487. <https://www.ncdc.noaa.gov/temp-and-precip/global-maps/201815#global-maps-select>
488. <https://geoknigi.com/img/shabliy/karta-gruntiv-lvivskoyi-oblasti.jpg>
489. <https://www.seedtest.org/en/home.html>

## ДОДАТКИ

### Додаток А

#### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:**

1. **Макар, О. О.**, 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> (Особистий внесок дисертанта: участь у виконанні основної частини експериментів, обробка та інтерпретація результатів, написання та оформлення статті)
2. **Макар, О.**, 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, кuartиль Q1) <https://doi.org/10.3390/biology10050409> (Особистий внесок дисертанта: участь у виконанні основної частини експериментів, обробка та інтерпретація результатів, написання та оформлення статті)
3. **Макар, О. О.**, Романюк, Н. Д. (2022). Бактеріальні ендofіти 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> (Особистий внесок дисертанта: аналіз наукової літератури, написання та оформлення статті)

**Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

1. **Макар О.**, Тerek 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 27<sup>th</sup>). 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 27<sup>th</sup>). 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 дослідження. 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., Vatamaniuk 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., Kavulych 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 ендofітного мікробіому у сортах пшениці ярої з різною 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 ендofіти 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.

#### **Відомості про апробацію результатів дисертації:**

1. Звітна наукова конференція Біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка, Львів, лютий 2018, 2019, 2020, 2021 р. (очна форма участі, усна доповідь).
2. XIV, XV, XVI, XVII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології”, Львів, 2018, 2019, 2020, 2021 р. (очна форма участі, усна доповідь).
3. Симпозіум з міжнародною участю “Сталі підходи до підвищення врожайності та харчової цінності пшениці”, Львів, 27 червня, 2018 р. (очна форма участі, усна доповідь).
4. IV, V Міжнародна наукова конференція “Сучасна біологія рослин: теоретичні та прикладні аспекти”, Харків, 2018, 2020 р. (заочна форма участі).
5. IV Ogólnopolskie Sympozjum Mikrobiologiczne “METAGENOMY RÓŻNYCH ŚRODOWISK”, Люблін, Польща, 27-28 червня 2019 р. (очна форма участі, стендова доповідь).

6. X International Agriculture Symposium “AGROSYM 2019”, Яхорина, Боснія і Герцеговина, 3-6 жовтня 2019 р. (очна форма участі, стендова доповідь).
7. XV конференція молодих вчених “Наукові, прикладні та освітні аспекти фізіології, генетики, біотехнології рослин і мікроорганізмів”, Київ, 3 червня 2021 р. (заочна форма участі).
8. FEMS “World Microbe Forum”, 20-24 червня 2021 р. (форма участі – дистанційна, стендова доповідь).

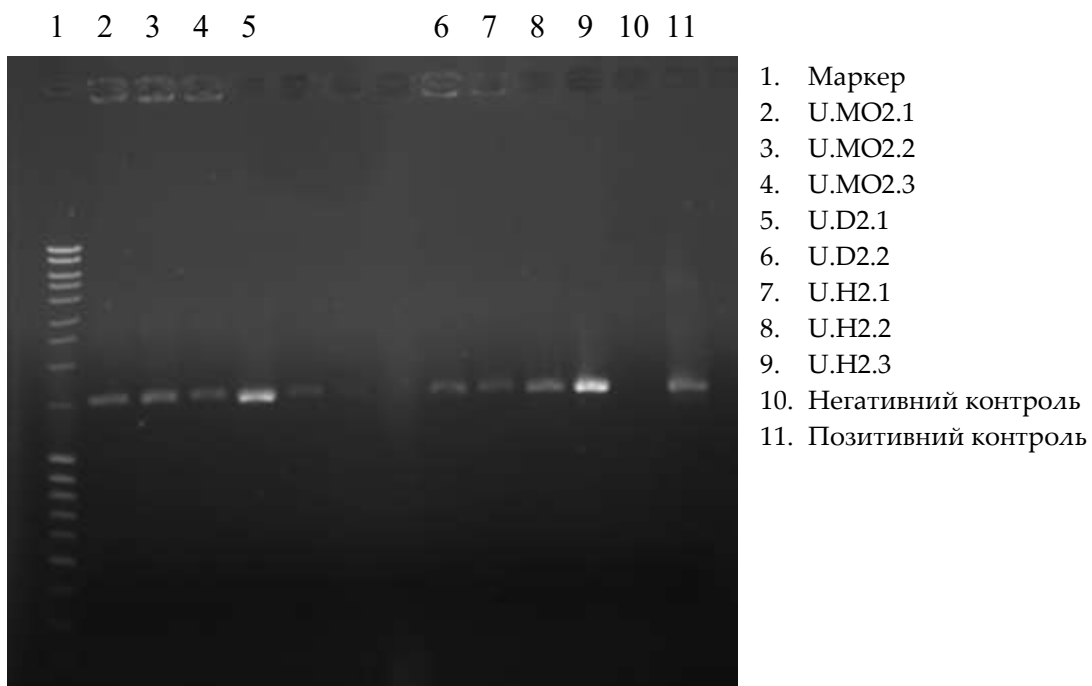
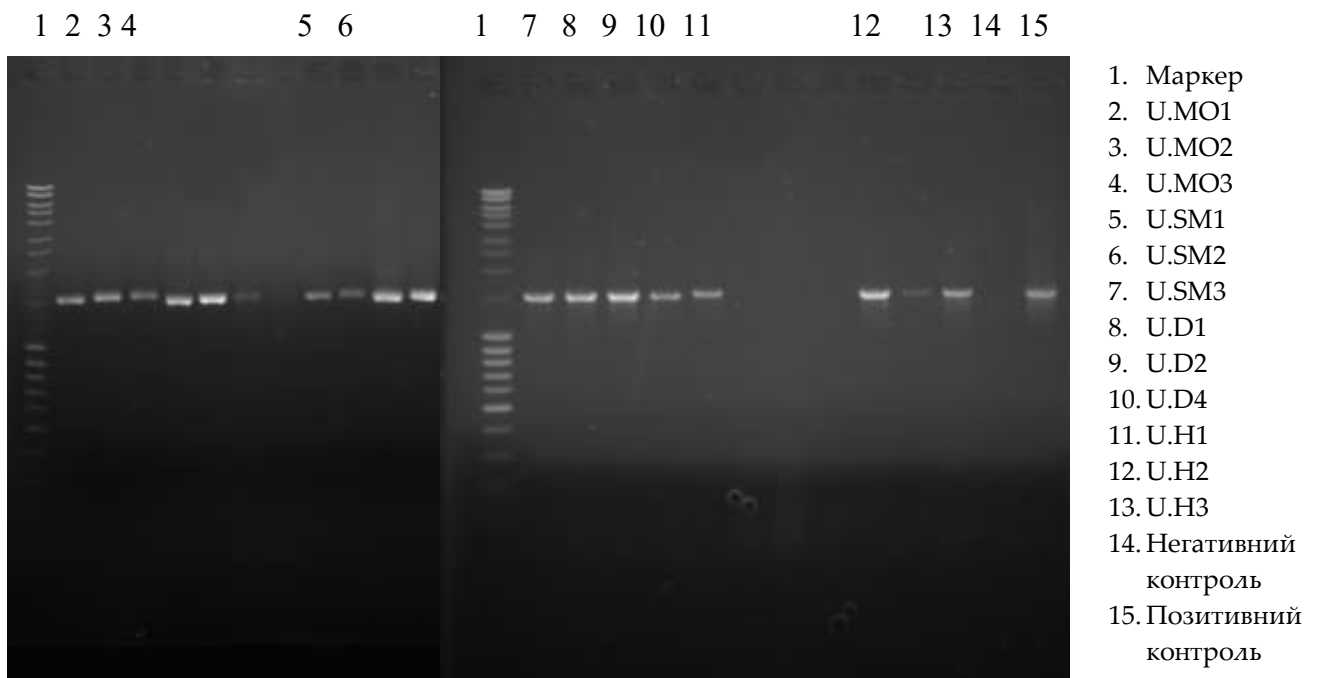
## Додаток Б

*Таблиця Б.1.*

Кількість та чистота ДНК яку використовували в реакції ПЛР. Дані представлені як середні (n=3).

Culture collection ID	Середня концентрація ДНК ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) $\pm\text{SD}$	Середнє А 260:280 співвідношення $\pm\text{SD}$	Середнє А 260:230 співвідношення $\pm\text{SD}$
U.MO1	1 202.02 $\pm$ 2.95	2.07 $\pm$ 0.00	1.97 $\pm$ 0.00
U.MO2	1 278.19 $\pm$ 6.61	1.99 $\pm$ 0.00	1.75 $\pm$ 0.00
U.MO3	1 010.06 $\pm$ 1.86	2.05 $\pm$ 0.00	1.87 $\pm$ 0.00
U.SM1	914.39 $\pm$ 1.55	2.06 $\pm$ 0.00	1.67 $\pm$ 0.00
U.SM2	708.86 $\pm$ 0.20	1.93 $\pm$ 0.00	1.04 $\pm$ 0.00
U.SM3	272.88 $\pm$ 0.28	1.92 $\pm$ 0.00	1.35 $\pm$ 0.00
U.D1	508.06 $\pm$ 0.34	2.01 $\pm$ 0.00	1.94 $\pm$ 0.00
U.D2	542.37 $\pm$ 0.74	1.94 $\pm$ 0.01	0.94 $\pm$ 0.00
U.D4	389.67 $\pm$ 1.23	1.99 $\pm$ 0.00	1.31 $\pm$ 0.01
U.H1	96.75 $\pm$ 0.76	1.78 $\pm$ 0.00	1.08 $\pm$ 0.01
U.H2	277.72 $\pm$ 0.46	1.97 $\pm$ 0.00	1.62 $\pm$ 0.00
U.H3	357.57 $\pm$ 0.71	1.88 $\pm$ 0.00	1.64 $\pm$ 0.00
U.MO2.1	71.56 $\pm$ 2.98	1.66 $\pm$ 0.04	1.04 $\pm$ 0.01
U.MO2.2	312.23 $\pm$ 2.61	1.85 $\pm$ 0.02	1.59 $\pm$ 0.00
U.MO2.3	209.09 $\pm$ 2.64	1.84 $\pm$ 0.00	1.41 $\pm$ 0.02
U.D2.1	478.17 $\pm$ 0.69	1.86 $\pm$ 0.00	1.19 $\pm$ 0.00
U.D2.2	135.22 $\pm$ 3.81	1.55 $\pm$ 0.00	0.56 $\pm$ 0.02
U.H2.1	197.73 $\pm$ 2.27	1.86 $\pm$ 0.02	1.22 $\pm$ 0.02
U.H2.2	228.64 $\pm$ 1.47	1.86 $\pm$ 0.00	0.95 $\pm$ 0.01
U.H2.3	708.14 $\pm$ 6.17	1.87 $\pm$ 0.00	1.63 $\pm$ 0.00





**Рис. Б.1.** Електрофорез в агарозному гелі продуктів ампліфікації ПЛР.

Кількість та чистота ДНК яку використовували в реакції ПЛР. Дані представлені як середні (n=3).

Сорт пшениці	Середня концентрація ДНК ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) $\pm\text{SD}$	Середнє А 260:280 співвідношення $\pm\text{SD}$	Середнє А 260:230 співвідношення $\pm\text{SD}$
Оксамит мIRONІВСЬКИЙ, Л	34.02 $\pm$ 0.15	1.81 $\pm$ 0.005	1.65 $\pm$ 0.006
Оксамит мIRONІВСЬКИЙ, К	8.05 $\pm$ 0.11	1.82 $\pm$ 0.03	0.71 $\pm$ 0.004
Струна мIRONІВСЬКА, Л	32.55 $\pm$ 0.22	1.85 $\pm$ 0.01	1.47 $\pm$ 0.01
Струна мIRONІВСЬКА, К	8.73 $\pm$ 0.22	2.03 $\pm$ 0.01	0.75 $\pm$ 0.008
Дубравка, Л	60.53 $\pm$ 0.33	1.84 $\pm$ 0.002	1.79 $\pm$ 0.004
Дубравка, К	12.46 $\pm$ 0.15	1.77 $\pm$ 0.02	0.75 $\pm$ 0.004
Голіковська, Л	41.04 $\pm$ 0.08	1.80 $\pm$ 0.01	1.62 $\pm$ 0.002
Голіковська, К	10.65 $\pm$ 0.09	1.85 $\pm$ 0.01	0.77 $\pm$ 0.003

\*Л – листок, К – корінь

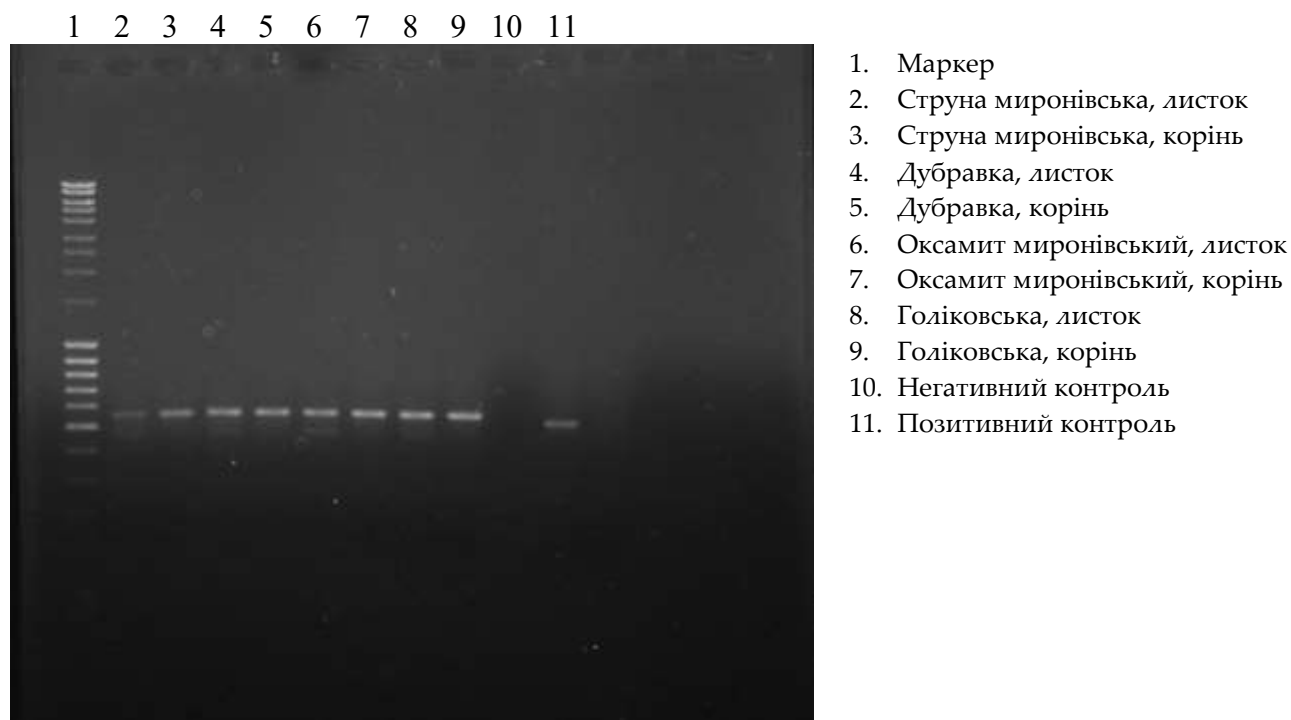
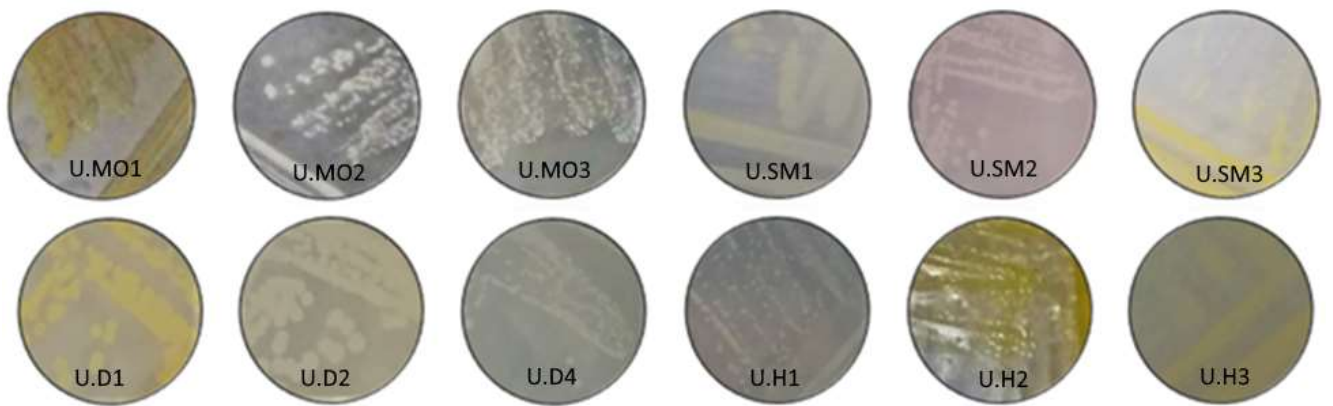


Рис. Б.2. Електрофорез в агарозному гелі продуктів ампліфікації ПЛР отриманих з тканин проростків *in vitro*.



**Рис. Б.3.** Ідентифіковано ізоляти, отримані із чотирьох сортів зерна ярої пшениці, 2017 р.



**Рис. Б.4.** Ідентифіковано ізоляти, отримані із чотирьох сортів зерна ярої пшениці, 2018 р..

## Додаток В ВПРОВАДЖЕННЯ



Львівський національний університет  
імені Івана Франка

Адреса: вул. Університетська 1, м. Львів, 79000, Україна  
Телефон: (+38 032) 274-01-80, 239-41-86  
E-mail: amf@lnu.edu.ua Сайт: amf.lnu.edu.ua

**БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

Адреса: вул. М. Грушевського, 4, м. Львів, 79000, Україна  
Телефон: (+38 032) 239-41-53  
E-mail: biolog@lnu.edu.ua  
Сайт: www.bioweb.lnu.edu.ua

№ 66 від 24.02.23р

### Акт впровадження

методики вирощування рослин пшениці з ізольованих зародків в умовах *in vitro*

Підтверджуємо, що методику вирощування рослин пшениці з ізольованих зародків в умовах *in vitro* впроваджено в лабораторний практикум дисциплін "Практикум з фізіології рослин" для студентів освітньо-кваліфікаційного рівня "Бакалавр" спеціальність 091 Біологія, та лекційні курси "Живлення рослин" для студентів освітньо-кваліфікаційного рівня "Бакалавр" спеціальність 091 Біологія та дисципліни "Біотехнологія рослин" для студентів освітньо-кваліфікаційного рівня "Магістр" кафедри фізіології та екології рослин біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка.

Методику апробовано та вдосконалено аспіранткою Орисею Макар в межах виконання дисертаційної роботи за участі к.б.н., доценти кафедри фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка Наталії Романюк та професорки кафедри біології та біотехнології мікроорганізмів Інституту біологічних наук Люблінського католицького університету імені Івана Павла II Агнешки Кузняр (Dr. Agnieszka Kuźniar) (Польща).

Методика вирощування рослин пшениці з ізольованих зародків в умовах *in vitro* дає можливість:

- робота з культурою ізольованих зародків в умовах *in vitro*;
- дослідження мінерального живлення, зокрема засвоєння мінеральних елементів рослинами пшениці за контрольованих умов;
- отримання стерильних проростків рослин пшениці для подальшого виділення ендofітних мікроорганізмів.

Завідувач кафедри  
фізіології та екології рослин  
доцент

Декан біологічного факультету  
доцент



Мирослава КОБИЛЕЦЬКА

Ігор ХАМАР