

Міністерство освіти і науки України

ВІСНИК

*Харківського національного
університету імені В. Н. Каразіна*

Серія "Біологія"

Випуск 39

Започаткований у 1970 р.

THE JOURNAL

of V. N. Karazin Kharkiv

National University

Series "Biology"

Issue 39

Founded in 1970

Харків-2022

Вісник, серія «Біологія» є збірником наукових праць, який містить результати досліджень та оглядові статті з біології, зокрема з біохімії та генетики, зоології та ботаніки, фізіології тварин і рослин, мікології, мікробіології, ґрунтознавства, кріобіології та ін., а також матеріали про події наукового життя та описання оригінальних методів і приладів у галузі біології.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів і студентів, які спеціалізуються у відповідних або суміжних галузях науки.

Вісник включений до Переліку фахових видань України, категорія «Б», за спеціальністю 091 Біологія (Наказ МОН України №1643 від 28.12.2019 р.), індексується у Google Scholar, Ulrich's Periodicals Directory, WorldCat, BASE, DOAJ, Web of Science (Zoological Record) та включений до Clarivate Analytics Master Journal List.

Затверджено до друку рішенням

Вченої ради Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна
(протокол №19 від 26.12.2022).

Д. А. Шабанов – головний редактор, д.б.н., професор кафедри зоології та екології тварин, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Ю. Г. Гамуля – заступник головного редактора, к.б.н., доцент кафедри ботаніки та екології рослин, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

В. В. Навроцька – відповідальний секретар, к.б.н., доцент кафедри генетики і цитології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Члени редакційної колегії:

Л. О. Атраментова – д.б.н., професор кафедри генетики і цитології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

С. Ю. Утєвський – д.б.н., професор кафедри зоології та екології тварин, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

О. М. Утєвська – д.б.н., професор кафедри генетики і цитології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Є. Е. Перський – д.б.н., професор кафедри біохімії, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

В. Ю. Страшнюк – д.б.н., професор кафедри генетики і цитології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

О. Ю. Акулов – к.б.н., доцент кафедри мікології та фітоімунології, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Н. Ю. Полчанінова – к.б.н., доцент кафедри зоології та екології тварин, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

О. О. Авксентьєва – к.б.н., доцент кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

В. П. Комариста – к.б.н., доцент кафедри ботаніки та екології рослин, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

С. О. Костерін – д.б.н., академік НАНУ, завідувач відділу біохімії м'язів, Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАНУ

Н. О. Сибірна – д.б.н., професор кафедри біохімії, Львівський національний університет імені Івана Франка

Л. О. Білявська – д.б.н., старший науковий співробітник відділу загальної і ґрунтової мікробіології, Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАНУ

О. О. Стасик – д.б.н., член-кореспондент НАНУ, завідувач відділу фізіології та екології фотосинтезу, Інститут фізіології рослин і генетики НАНУ

Gederts Ievinsh – Doctor of Science in Biology, Full Professor, University of Latvia (Латвія)

Gregory F. Oxenkrug – PhD, MD, Professor, Tufts University School of Medicine, Tufts Medical Center (США)

N. I. Ronkina – PhD in Biology, Scientific Researcher, Hannover Medical School (Німеччина)

Адреса редакції:

біологічний факультет,

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,

майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022

тел. +38 /057/ 707-55-71

<http://seriesbiology.univer.kharkov.ua>

e-mail: seriesbiology@karazin.ua

Статті пройшли рецензування.

Свідоцтво про державну реєстрацію KB №21572–11472P від 20.08.2015

© Харківський національний університет
імені В. Н. Каразіна, оформлення, 2022

*** ЗМІСТ *** CONTENT ***

Василь Васильович Жмурко. Пам'яті вченого і викладача /In memory of Vasyl Vasylyovych Zhmurko, scientist and teacher/	4
---	---

*** ГЕНЕТИКА *** GENETICS ***

Хао Фу Успадкування забарвлення колосу у пшениці однозернянки (<i>Triticum monococcum</i> L.) / Hao Fu Inheritance of spike color in einkorn wheat (<i>Triticum monococcum</i> L.)/	6
---	---

*** КРІОБІОЛОГІЯ *** CRYOBIOLOGY ***

Возовик К.Д., Шевченко Н.О. Вплив умов низькотемпературного зберігання на життєздатність мікроводорості <i>Chlorococcum dissectum</i> / Vozovyk K.D., Shevchenko N.O. Effect of low temperature storage conditions on the viability of microalgae <i>Chlorococcum dissectum</i> /	12
---	----

*** ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН *** PLANT PHYSIOLOGY ***

Реліна Л.І., Важеніна О.Є., Кобизєва Л.Н., Богуславський Р.Л., Понуренко С.Г., Коломацька В.П., Безугла О.М., Супрун О.Г., Ільченко Н.К., Вечерська Л.А. Оцінка взаємодії генотип-середовище за ознаками вмісту неполярних ліпідів та жирних кислот в насінні нуту (<i>Cicer arietinum</i> L.) / Relina L.I., Vazhenina O.Ye., Kobyzeva L.N., Bohuslavsky R.L., Ponurenko S.H., Kolomatska V.P., Bezuhla O.M., Suprun O.H., Ilchenko N.K., Vecherska L.A. Evaluation of genotype-environment interactions for non-polar lipids and fatty acids in chickpea (<i>Cicer arietinum</i> L.) seeds/	20
---	----

*** ІНФОРМАЦІЯ *** INFORMATION ***

Правила для авторів /Author guidelines/	35
--	-----------



Василь Васильович Жмурко Пам'яті вченого і викладача

23 грудня 2021 року на 73-му році пішов із життя професор кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів, доктор біологічних наук, професор Жмурко Василь Васильович.

Василь Васильович народився у сім'ї службовців 16 лютого 1949 р. в с. Новоселівка, що на Харківщині. Після закінчення середньої школи у 1967 р. вступив до Харківського сільськогосподарського інституту імені В.В. Докучаєва, який закінчив у 1972 р., отримавши спеціальність «Агрономія» та кваліфікацію «Вчений агроном». Жагу до наукової діяльності молодого фахівця помітив В.С. Цибулько – він став науковим керівником аспіранта. Науковий напрям, за яким Василь Васильович проводив дослідження під час навчання в аспірантурі, стосувався вивчення зв'язку живлення рослин з темпами їхнього розвитку. На кафедрі рослинництва, а потім в агроекологічній лабораторії ХСПІ Василь Васильович пройшов шлях від старшого лаборанта до старшого наукового співробітника. Протягом цього періоду під керівництвом В.С. Цибулька молодий науковець проводив дослідження, що зробили вагомий внесок в розвиток і, врешті-решт, формулювання теорії трофічних закономірностей фотоперіодизму рослин. Починаючи з 1980-го року діяльність Василя Васильовича була пов'язана з Інститутом рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України. Результати, отримані під час проведення дослідів під керівництвом В.С. Цибулька, стали підґрунтям для написання В.В. Жмурком кандидатської дисертації «Інтенсивність ділення клітин в меристемах і активність ферментів в листках у зв'язку з озимістю та фотоперіодичною реакцією рослин», яку він захистив у 1982 році. Після успішного захисту дисертації коло наукових інтересів Василя Васильовича стосувалося вивчення фізіолого-генетичних механізмів регуляції розвитку рослин. Ці дослідження він проводив як старший науковий співробітник лабораторії розвитку та насінної продуктивності рослин Інституту рослинництва, де отримав звання старшого наукового співробітника (у 1989 р.).

Подальша наукова і педагогічна діяльність Жмурка В.В. відбувалася в Каразинському університеті. З 1993 року Василь Васильович очолював кафедру фізіології і біохімії рослин біологічного факультету тоді ще Харківського державного університету. Протягом наступних 23-х років він був її беззмінним керівником, ідейним натхненником, наставником для молоді. За цей час на кафедрі істотно розширилася тематика досліджень, що виконувалися під керівництвом Василя Васильовича. Дослідження, що проводилися на кафедрі за часів його керівництва, були спрямовані на вивчення зв'язку темпів розвитку ізогенних ліній пшениці та сої з вуглеводним та азотним обміном, активністю фітогормонів та ферментів, значення генів *PPD*, *VRN* та *EE* в детермінації морфогенезу рослин у культурі *in vitro*. Також вивчалася роль цих генів у взаємодії рослина–мікроорганізм (на моделі симбіотичної та асоціативної азотфіксації), а також у фітохромній

регуляції розвитку рослин. Ці дослідження базувалися на методологічному підході, який був обґрунтований В.С. Цибулькою при вивченні трофічних закономірностей фотоперіодизму та озимості рослин. Протягом багатьох років В.В. Жмурко розвивав напрям, започаткований його науковим керівником. За результатами дослідів з ізогенними лініями було зроблено висновки, що гени контролю фотоперіодичної чутливості (*PPD* та *EE*), а також контролю типу розвитку ярий/озимий (*VRN*) детермінують темпи розвитку рослин опосередковано, шляхом їхньої участі в регуляції метаболічних процесів.

Василь Васильович підтримував та сприяв відкриттю на кафедрі ще одного напрямку підготовки студентів – «Мікробіологія і вірусологія». На тлі нових напрямків дослідження та попиту нової спеціалізації з боку студентів Василь Васильович ініціював зміну назви кафедри – з 2015 р. кафедра має назву «Фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів». Під час роботи на кафедрі Василь Васильович завершив і захистив докторську дисертацію «Фізіолого-біохімічні аспекти фотоперіодичного і яровизаційного контролю розвитку рослин» (2010 р.), а у 2013 отримав звання професора. За результатами багаторічних досліджень В.В. Жмурком була сформульована оригінальна концепція, що розкриває закономірності системної регуляції росту і розвитку рослин. Під керівництвом професора В.В. Жмурка були виконані та захищені 7 кандидатських дисертацій. У 2016 році Василь Васильович був обраний деканом біологічного факультету і успішно керував факультетом протягом наступних п'яти років.

Професор В.В. Жмурко – автор понад 200 наукових публікацій, серед яких 3 монографії, 6 патентів на винаходи, 10 навчально-методичних посібників, у тому числі рекомендованих МОН України. Василь Васильович був членом редколегії Вісника Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, серія Біологія; Вісника Харківського національного аграрного університету імені В.В. Докучаєва, серія Біологія; головою Харківського регіонального відділення Українського товариства фізіологів рослин. Професор В.В. Жмурко був головою спеціалізованої вченої ради Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна та членом спеціалізованої вченої ради Харківського державного університету харчування та торгівлі.

Віддана праця Жмурка В.В. на благо університету та науки була відзначена нагородами і подяками – почесною грамотою НАН України, нагрудним знаком МОН України «Відмінник освіти» (2015 р.), знаком Харківської обласної ради, «Медаллю імені В.Н. Каразіна» (2019 р.), медаллю «За служіння Каразінському університету» (2021 р.).

Протягом життя Василь Васильович керувався принципами щирості і порядності, був відданий своїй справі. Ми запам'ятаємо його як дуже ерудовану, талановиту та відкриту особистість. Світла пам'ять про Жмурка Василя Васильовича назавжди залишиться в серцях тих, хто його знав та з ним спілкувався.

А.С. Щоголев,
О.І. Віннікова

••• ГЕНЕТИКА ••• GENETICS •••

DOI: 10.26565/2075-5457-2022-39-1
UDC: 575.116:58.018+633.113.1**Inheritance of spike color in einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.)**

Hao Fu

Aim: specify the spike color inheritance in einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.) hybrids. Methods: reciprocal hybrids between the black-spikeed UA0300282 and white-spikeed UA0300311 cultivated einkorn accessions were created with the use of the “single cross” method. Four generations were analyzed using the segregation analysis method: P₁, P₂, F₁, and F₂ at autumn and spring sowing. Results: it was found that for the combination UA0300311 × UA0300282 at autumn sowing, the most suitable inheritance model is MX2-EA-AD, which implies the presence of two main genes with an equal additive effect plus polygene systems with an additive-dominant effect. In the plants of spring sowing, spike color is described by the MX2-CD-AD model, which suggests the presence of two major genes with full dominant effect plus polygenes with additive-dominant effect. In the reciprocal combination UA0300282 × UA0300311, the optimal model that describes best the spike color dispersion in plants of autumn sowing is MX2-ADI-AD, which suggests the presence of two main genes with an additive-dominant-epistatic effect plus polygenes with the additive-dominant effect. Distribution of the spring-sowing plants in terms of the spike color is well described by the MX2-ADI-ADI model – two main genes with an additive-dominant-epistatic effect plus a system of polygenes also with an additive-dominant-epistatic effect. The genes manifest themselves differently in the trait control depending on the weather conditions determined by the sowing time. In the group of direct combination plants (UA0300311 × UA0300282) of autumn sowing, heritability determined by the main gene is 97%, while that determined by polygenes is 2.7%; at spring sowing, these values are 67% and 32% respectively. In the reciprocal combination (UA0300282 × UA0300311) of autumn sowing, the main genes heritability effect is 99%, and the polygenic system accounts for 1%; in plants of spring sowing, respectively, 72%, and 28%. Conclusions: on the basis of the spike color expressiveness in the crossing combination of the einkorn kinds of wheat UA0300311 × UA0300282, the parental forms differ in two main genes and polygenes. The ratio of spike color heritability components depends on the growing conditions: at autumn sowing, 97–99 % of heritability is determined by the main genes, the polygenes account for 1–3 % of phenotypic variability; at spring sowing, the heritability component increases to 28–33 % due to the polygenic complex.

Key words: einkorn wheat, spike color, gene, segregation analysis.

Cite this article: Hao Fu. Inheritance of spike color in einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.). *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series “Biology”*, 2022, 39, 6–11. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2022-39-1>

About the author:

Hao Fu – V.N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Square, 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, fuhaoinua@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3791-7958>

Received: 03.11.2022 / Revised: 18.11.2022 / Accepted: 07.12.2022

Introduction

Triticum monococcum L. is one of the first domesticated cereal crops whose cultivation has almost ceased until recently (Brandolini, Heun, 2019). In recent decades, interest in einkorn wheat has been revived among scientists, farmers, nutritionists, and ordinary consumers. This is explained by the fact that einkorn wheat has a higher content of gluten and protein (Geisslitz et al., 2019), antioxidants and vitamins (Pehlivan et al., 2021), microelements (Cakmak et al., 2000) than other wheat species which determines its value as a crop for healthy nutrition. Products of the einkorn wheat can be consumed by some categories of people with wheat gluten intolerance (Di Stasio et al., 2020; Rotondi Aufiero et al., 2022).

Comprehensive knowledge of the of wheat plant traits complex and the nature of their inheritance contributes to its purposeful improvement for cultivation. The color of the wheat spike determined by the color of the spike scales, has an adaptive value (Börner et al., 2005). This trait is widely used in taxonomy and for certification of wheat varieties and forms, and it is also a convenient model for genetic and molecular genetic studies (Khlestkina, 2013). Using spike color, agronomists calculate spikes number per unit area to predict yield (Zhao et al., 2014), and assess Fusarium wilt (Song et al., 2022).

It is known that the colored spike is dominant over the uncolored one (Khlestkina, 2013). In wheat and Aeglops, the genes determining the colored spike (red, brown, black, gray-smoky) are localized on the

distal sections of the short arms of the first homeologous group chromosomes: *Rg-A1*, *Rg-B1*, *Rg-D1*, respectively, in chromosomes *1A*, *1B*, *1D* (Khlestkina, 2013). In particular, the genes localized in the *A* genome derived from the einkorn wheat are of interest. Four alleles (*a-d*) are known for the *Rg-A1* gene, located on the short arm of chromosome *1A*. The *Rg-A1b* allele determines the red color of spikelet scales. The *Rg-A1c* and *Rg-A1d* alleles control black color of the scales (<http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jspMacGene>). Kozub et al. (2016) on *T. spelta* L. showed linkage of the *Rg-A1* allele which determines black spike color with the *Gli-A1j** allele which encodes the corresponding block of gliadin and can serve as a marker for the *Rg-A1* allele.

To determine nature of traits inheritance in hybrids, the method of segregation analysis "Mixed major genes plus polygenes inheritance analysis" was developed (Gai et al., 2003), which can be used to determine the number of major genes and polygenes controlling quantitative traits. This method has been used to study a number of traits in tetra- and hexaploid wheats, such as productivity (Xie et al., 2020) and grain characteristics (Yang et al., 2013) in common wheat (*Triticum aestivum* L.), plant height in durum wheat (*T. durum* Desf.) (Gong et al., 2021). The aim of this study was to determine the nature of spike color inheritance when crossing forms of einkorn wheat with an alternative manifestation of this trait.

Materials and methods

Object of study

The accessions from the National Plant Genetic Resources Bank of Ukraine were used to create reciprocal hybrids: UA0300282 var. *nigricultum* originating from Hungary, UA0300311 var. *monococcum* from Syria. The accession UA0300282 has a black spike, winter growth habit, the average spike length is of 6.25 cm, the 1000 kernels weight is of 25.0 g. The accession UA0300311 has a white spike, spring growth habit, the average spike length is of 6.95 cm, the 1000 kernels weight is of 22,8 g (Fig. 1).



Figure 1. Samples UA0300282 (right) and UA0300311 (left)

Field tests

The research was conducted on the experimental field of the Plant Production Institute named after V.Ya. Yuryev of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine. The soil type is chernozem. The F_1 hybrids were created in 2019, the seeds were used to obtain F_2 . Re-crossing to obtain F_1 was carried out in 2020 on the plots sown in the autumn of 2019.

All the generations (P_1 , P_2 , F_1 , F_2) were grown at two sowing terms. Vegetation of autumn sowing plants began in October 2020 and ended in July 2021 (option E_1). Spring sowing was carried out in March 2021, ripening occurred in July 2021 (option E_2).

The plots were placed according to the block scheme: P_1 , P_2 , F_{1dir} , F_{2dir} , P_1 , P_2 , F_{1rec} , F_{2rec} , P_1 , P_2 . (F_{1dir} and F_{2dir} – accordingly F_1 and F_2 from direct cross; F_{1rec} and F_{2rec} – accordingly F_1 and F_2 from reciprocal cross). The row length is 1 m, the width between the rows is 15 cm. 30 seeds were sown in each row. By 20 plants each were analyzed from the plots P_1 , P_2 , F_1 ; by 180 plants at least in F_2 . The spike color was

evaluated after the plants ripened according to a nine-score scale: black (9), dark gray (8), gray (7), red (6), gray on a red background (5), light gray (4), pink on a red background (3), pink (2), white (1).

Statistical analysis

Segregation analysis was performed using R SEA v2.0 software developed by Wang et al. (2022a). Maximum likelihood indices and the Akaike information criterion of the genetic model were calculated. Three models were selected as candidates. The fit of the candidate model was checked using the χ^2 (U_1^2 , U_2^2 , U_3^2), Smirnov (nW^2), and Kolmogorov (D_n) criteria.

Results and discussion

Selection of a candidate model

The selection of the optimal genetic model was based on the AIC values obtained from the spike color data in the P₁, P₂, F₁ and F₂ generations. Models with the smallest AIC values were selected as candidates. The table 1 shows that in the combination UA0300311 × UA0300282 at autumn sowing, among the 24 calculated models, MX2-A-AD, 2MG-A and MX2-EA-AD have relatively low AIC values, which are 379, 383, 378, respectively. For spring sowing, three models were selected for testing: MX2-EA-AD, MX1-AD-AD, and MX2-CD-AD, with AIC values of 362, 392, and 346, respectively. In the reciprocal combination UA0300282 × UA0300311 for plants of autumn sowing, this condition is satisfied by the MX2-ADI-AD, MX2-CD-AD and 2MG-EAD models, the AIC values are 487, 492, and 500, respectively; for spring sowing – models MX1-A-AD, MX1-NCD-AD and MX2-ADI-ADI with the corresponding AIC values: 522, 489 and 482. The values of the maximum likelihood function (MLV) are also presented in the table 1.

Table 1. Maximum likelihood functions and Akaike criteria

E	Crossing combinations	Model	MLV	AIC
E ₁	UA0300311 × UA0300282	MX2-A-AD	-186	379
		2MG-A	-911	383
		MX2-EA-AD	-187	378
	UA0300282 × UA0300311	MX2-ADI-AD	-235	487
		MX2-CD-AD	-378	422
		2MG-EAD	-201	500
E ₂	UA0300311 × UA0300282	MX2-EA-AD	263	362
		MX1-AD-AD	289	392
		MX2-CD-AD	-378	346
	UA0300282 × UA0300311	MX1-A-AD	-235	522
		MX1-NCD-AD	239	489
		MX2-ADI-ADI	-279	482

Note: E is sowing time, E₁ is autumn sowing, E₂ is spring sowing, MLV is maximum likelihood function, AIC is Akaike's criterion, 2MG is two major genes, MX is mixed model of major gene and polygene system, A is additive effect, AD – additive-dominant effect, ADI – additive-dominant-epistatic effect, EA – equal additive effect, CD – complete dominant effect. For example: MX2-A-AD means a mixed model of two major genes with an additive effect plus a polygene system with an additive-dominant effect.

Test of spike color inheritance genetic models suitability

The suitability of the selected candidate models was tested according to the homogeneity (U_1^2 , U_2^2 , U_3^2), Smirnov (nW^2) and Kolmogorov (D_n) criteria. The genetic model with the lowest AIC value and the minimum number of statistically significant indicators is considered optimal (Akaike, 1977).

It was concluded that for the combination UA0300311 × UA0300282 at autumn sowing, the most suitable inheritance model is MX2-EA-AD, which assumes the presence of two main genes with an equal additive effect plus a system of polygenes with an additive-dominant effect. In spring-sown plants, spike color is described by the MX2-CD-AD model which assumes the presence of two main genes with a full dominant effect plus polygenes with an additive-dominant effect.

In the reciprocal combination – UA0300282 × UA0300311, the optimal model that best describes the dispersion of spike color in plants of autumn sowing is MX2-ADI-AD, which assumes the presence of two main genes with an additive-dominant-epistatic effect plus polygenes with an additive-dominant effect. The plant of spring sowing distribution by spike color is well described by the MX2-ADI-ADI model – two main genes with an additive-dominant-epistatic effect plus a system of polygenes with an additive-dominant-epistatic effect.

Parameters of the optimal genetic model based on spike color

The genes manifest themselves differently in a trait depending on the weather conditions determined by the sowing timing. In the combination UA0300311 × UA0300282 at winter sowing, the additive effect of the first pair of main genes is positive and equal to 1.96. The additive effect of polygene ([d]) is negative and is represented by the number –1.41, the dominant effect of polygene ([h]) is 2.52. In the plants of spring sowing, the additive effect of the first and second pairs of main genes is negative and expressed weaker and at the same level, amounting to –0.08. The additive effect of polygenes is –2.35, and the dominant effect of polygenes is estimated at 2.69. In the reciprocal combination UA0300282 × UA0300311, the additive effect of the first pair is much greater than that of the second pair of main genes in terms of absolute value: respectively –2.98 and –0.01 for winter sowing, –3.25 and –0.25 for spring sowing. The dominant effect of the first pair of main genes is also much greater than that of the second pair: respectively, 1.86 and 0.04 for winter sowing, 1.75 and 0.25 for spring sowing.

In the plants of direct combination (UA0300311 × UA0300282) of autumn sowing, heritability determined by the main gene is 97%; and that determined by polygenes is estimated at 2.7%; in spring sowing, these values are equal to 67% and 32%, respectively. In the reverse combination (UA0300282 × UA0300311) from autumn sowing, the heritability is 99%, the polygenic system accounts for 1%; in plants from spring sowing, respectively, 72% and 28%. In the reverse combination (UA0300282 × UA0300311) of autumn sowing, the heritability is 99%, the polygenic system accounts for 1%; in plants of spring sowing, respectively, 72% and 28%. This means that the growing conditions and the environment strongly influence the spike color (Wei et al., 2017), it depends on the growing conditions, in particular on the light intensity (Zeven, 1983).

The results of the study on the plants quantitative traits inheritance obtained by the method of Mixed major genes plus polygenes inheritance analysis and the methods of molecular genetics, evaluate the genetic effect in various aspects. Studies show that the numbers predicted by these two methods and the QTL positioning results of major genes controlling plant quantitative traits are in agreement (Zhang et al., 2007; Wang et al., 2022b).

Conclusions

1. The difference in spike color between the black-spikeed and white-spikeed forms of einkorn wheat is under the control of two main genes and a polygene system.
2. The ratio of heritability components of spike color in einkorn wheat depends on the vegetation conditions: at autumn sowing, 97–99 % of the heritability is caused by the main genes and 1–3 % of the phenotypic variability is accounted by polygenes; at spring sowing, the heredity component due to the polygenic complex increases to 28–33 %.

Acknowledgments

The research was supported by the China Scholarship Council (201906300105).

I would like to express my sincere gratitude to Professor L.O. Atramentova and leading researcher R.L. Boguslavskiy for their constant help in conducting the research, valuable advice and discussion of the results.

References

- Akaike H. (1977). On entropy maximization principle. In: Proceedings of the symposium on applications of statistics. *Applications of Statistics*, Amsterdam: North-Holland, 27–41.
- Börner A., Schäfer M., Schmidt F. et al. (2005). Associations between geographical origin and morphological characters in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Genetic Resources*, 3(3), 360–372. <https://doi.org/10.1079/PGR200589>
- Brandolini A., Heun M. (2019). Genetics of brittleness in wild, domesticated and feral einkorn wheat

- (*Triticum monococcum* L.) and the place of origin of feral einkorn. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 66(2), 429–439. <https://doi.org/10.1007/s10722-018-0721-7>
- Cakmak I., Ozkan H., Braun H.J. et al. (2000). Zinc and iron concentrations in seeds of wild, primitive and modern wheats. *Food and Nutrition Bulletin*, 21(4), 401–403. <https://doi.org/10.1177/156482650002100411>
- Di Stasio L., Picascia S., Auricchio R. et al. (2020). Comparative analysis of *in vitro* digestibility and immunogenicity of gliadin proteins from durum and einkorn wheat. *Frontiers in Nutrition*, 7, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00056>
- Gai J.Y., Zhang Y.M., Wang J.K. (2003). *Genetic system of quantitative traits in plants*. Science Press, Beijing. 380 p. (in Chinese)
- Geisslitz S., Longin C.F.H., Scherf K.A. et al. (2019). Comparative study on gluten protein composition of ancient (einkorn, emmer and spelt) and modern wheat species (durum and common wheat). *Foods*, 8(9), 1–14. <https://doi.org/10.3390/foods8090409>
- Gong Y.S., Wei S.H., Peng Z.S. et al. (2021). Genetic study on plant height and its components, partial yield traits in durum wheat ANW16F. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 34(2), 229–235. <https://doi.org/10.16213/j.cnki.scjas.2021.2.001> (in Chinese with English abstract)
- Khlestkina E.K. (2013). Genes determining the coloration of different organs in wheat. *Russ. J. Genet. Appl. Res.*, 3(1), 54–65. <https://doi.org/10.1134/S2079059713010085> (in Russian)
- Kozub N.A., Sozinov I.A., Niniyeva A.K. et al. (2016). Genetic marking of glume color in *Triticum spelta* L. var. *caeruleum* using gliadins. *Cytology and Genetics*, 50(3), 168–172. <https://doi.org/10.3103/S0095452716030075>
- Pehlivan K.F., Keskin C.N., Agil F. et al. (2021). Profiles of vitamin B and E in wheat grass and grain of einkorn (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum*), emmer (*Triticum dicoccum* ssp. *dicoccum* Schrank.), durum (*Triticum durum* Desf.), and bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars by LC-ESI-MS/MS analysis. *Journal of Cereal Science*, 98, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103177>
- Rotondi Aufiero V., Sapone A., Mazzarella G. (2022). Diploid wheats: are they less immunogenic for non-celiac wheat sensitive consumers? *Cells*, 11(15), 1–11. <https://doi.org/10.3390/cells11152389>
- Song Y., Chen Y., Yang J. et al. (2022). Identification wheat scab by color feature index of digital image. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 50(2), 186–191. <https://doi.org/10.15889/j.issn.1002-1302.2022.02.031> (in Chinese)
- Wang J.T., Zhang Y.W., Du Y.W. et al. (2022a). SEA v2.0: an R software package for mixed major genes plus polygenes inheritance analysis of quantitative traits. *Acta Agronomica Sinica*, 48(6), 1416–1424. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1006.2022.14088> (In Chinese with English abstract)
- Wang L.M., Dang Z., Zhao W. et al. (2022b). Genetic analysis of plant height in flax using segregating generations and recombination inbred line populations. *Journal of Plant Genetic Resources*, 23(5), 1446–1457. <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20220305001> (in Chinese with English abstract)
- Wei Y., Hu F., Zheng X. et al. (2017). The molecular mechanism of the impacts of illumination on litchi fruit coloration and anthocyanin biosynthesis. *Acta Horticultural Science*, 44(7), 1363–1370. <https://doi.org/10.16420/j.issn.0513-353x.2016-0717> (in Chinese with English abstract)
- Xie S.F., Ji W.Q., Zhang Y.Y. et al. (2020). Genetic effects of important yield traits analyzed by mixture model of major gene plus polygene in wheat. *Acta Agronomica Sinica*, 46(3), 365–384. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1006.2020.91044> (in Chinese with English abstract)
- Yang X.S., Liang Z.Y., Li H. et al. (2013). Analysis on genetic model of grain characteristics in common wheat by mixed inheritance model of major genes plus polygenes. *Journal of Triticeae Crops*, 33(6), 1119–1127. <https://doi.org/10.7606/j.issn.1009-1041.2013.06.009> (in Chinese with English abstract)
- Zeven A.C. (1983). The character brown spike of bread wheat: A review. *Euphytica*, 32, 299–310.
- Zhang J.F., Qi C.K., Pu H.M. et al. (2007). Inheritance and QTL identification of oil content in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Acta Agronomica Sinica*, 33(9), 1495–1501.
- Zhao F., Wang K., Yuan Y. (2014). Study on wheat spike identification based on color features and AdaBoost algorithm. *Crop Journal*, 1, 141–144. <https://doi.org/10.16035/j.issn.1001-7283.2014.01.042> (in Chinese with English abstract)

Успадкування забарвлення колосу у пшениці однозернянки (*Triticum monosocum* L.)

Хао Фу

Ціль: встановити характер успадкування забарвлення колосу у гібридів пшениці однозернянки (*Triticum monosocum* L.). Методи: реципрокні гібриди двох зразків культурної однозернянки, чорноколосого UA0300282 та білоколосого UA0300311, були створені за допомогою методу single cross. З використанням методу сегрегаційного аналізу проаналізовано чотири генерації: P1, P2, F1 та F2 при осінньому та весняному посіві. Результати: встановлено, що для комбінації UA0300311 × UA0300282 при осінньому посіві найбільш сприятливою моделлю успадкування є MX2-EA-AD, яка передбачає наявність двох головних генів з рівним адитивним ефектом плюс системи полігенів з адитивно-домінантним ефектом. У рослин від весняного посіву забарвлення колосу описується моделлю MX2-CD-AD, яка передбачає присутність двох головних генів з повним домінантним ефектом плюс полігенів з адитивно-домінантним ефектом. У реципрокній комбінації – UA0300282 × UA0300311 оптимальна модель, яка найкраще описує дисперсію кольору колосу у рослин від осіннього посіву, – це MX2-ADI-AD, яка передбачає наявність двох головних генів з адитивно-домінантно-епістатичним ефектом плюс полігенів з адитивно-домінантним ефектом. Розподіл рослин від весняного посіву за кольором колосу добре описує модель MX2-ADI-ADI – з двома головними генами з адитивно-домінантно-епістатичним ефектом плюс системою полігенів з адитивно-домінантно-епістатичним ефектом. Гени по-різному проявляють себе у контролі ознаки залежно від погодних умов, що визначаються термінами посіву. У групі рослин прямої комбінації (UA0300311 × UA0300282) від осіннього посіву успадкованість, що визначається головним геном, становить 97%, а та, що визначається полігенами, оцінюється числом 2,7%; при весняному посіві ці значення дорівнюють відповідно 67% і 32%. У зворотній комбінації (UA0300282 × UA0300311) від осіннього посіву успадкованість ефекту головних генів становить 99%, на полігенну систему припадає 1%; у рослин від весняного посіву відповідно 72% і 28%. Висновки: за ознакою виразності забарвлення колосу в комбінації схрещування пшениць однозернянок UA0300311 × UA0300282 батьківські форми розрізняються двома головними генами та полігенами. Співвідношення компонент успадкованості забарвлення колосу у пшениці однозернянки залежить від умов вегетації: при осінньому посіві 97–99 % успадкованості зумовлюють головні гени, а на частку полігенів припадає 1–3 % фенотипічної мінливості; при весняному посіві компонента успадкованості, зумовлена полігенним комплексом, збільшується до 28–33 %.

Ключові слова: пшениця однозернянка, забарвлення колосу, ген, сегрегаційний аналіз.

Цитування: Хао Фу. Inheritance of spike color in einkorn wheat (*Triticum monosocum* L.). Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія», 2022, 39, 6–11. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2022-39-1>

Про авторів:

Хао Фу – Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, fuhaoinua@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3791-7958>

Подано до редакції: 03.11.2022 / **Прорецензовано:** 18.11.2022 / **Прийнято до друку:** 07.12.2022

••• КРІОБІОЛОГІЯ ••• CRYOBIOLOGY •••

DOI: 10.26565/2075-5457-2022-39-2
УДК: 57.086.13:582.232**Вплив умов низькотемпературного зберігання на життєздатність
мікроводорості *Chlorococcum dissectum*
К.Д. Возовик, Н.О. Шевченко**

Chlorococcum dissectum Korshikov, 1953 – одноклітинна прісноводна зелена водорість, здатна до накопичення та депонування ліпідів у клітини. Незалежно від походження та таксономічної класифікації, біотехнологічно важливі мікроорганізми та клітинні лінії є біологічними ресурсами, які використовують для виробництва різних продуктів. Метою роботи було визначення впливу режимів низькотемпературного зберігання на її життєздатність. Використовували такі температури: -18°C , -40°C , -70°C , -196°C . Для забезпечення -18°C використовували звичайний побутовий морозильник. Охолодження до -40°C та -70°C проводили з неконтрольованими швидкостями охолодження шляхом вміщення кріопробірок безпосередньо у морозильні камери або з використанням контейнера для заморожування Mr. Frosty, який забезпечує швидкість зниження температури 1 град/хв. Заморожування до -196°C відбувалося шляхом прямого занурення кріопробірок у рідкий азот та за умов двоетапного охолодження зі швидкістю 1 та 20 град/хв. до -40°C з подальшим перенесенням у кріосховище. Життєздатність *C. dissectum* визначали шляхом підрахунку колоній, які сформувалися на агаризованому поживному середовищі BG-11. Встановлено, що внаслідок заморожування до -18°C та зберігання протягом двох діб клітини повністю втрачали свою життєздатність. Кріоконсервування до -196°C за усіх досліджених варіантів та неконтрольована швидкість охолодження до -40°C та -70°C , а також подальше зберігання таких зразків за цих температур призводило до значної або повної втрати життєздатності. Охолодження у контейнері для заморожування Mr. Frosty до -40°C та -70°C не впливало на здатність клітин до колонієутворення, при цьому, зберігання *C. dissectum* за температури -40°C не приводило до значної втрати життєздатності протягом усього терміну дослідження, а за -70°C зовсім не змінювало цього показника. Отримані результати показали, що для середньострокового та довготривалого зберігання суспензійної культури *C. dissectum* перспективним є контрольоване охолодження та використання морозильних камер з температурою -40°C та -70°C відповідно. Для підвищення життєздатності зразків після охолодження до температури рідкого азоту необхідно розробити режими кріоконсервування з використанням кріопротекторів.

Ключові слова: мікроводорості, *C. dissectum*, життєздатність, низькотемпературне зберігання, кріоконсервування.

Цитування: Возовик К.Д., Шевченко Н.О. Вплив умов низькотемпературного зберігання на життєздатність мікроводорості *Chlorococcum dissectum*. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія», 2022, 39, 12–19. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2022-39-2>

Про авторів:

К.Д. Возовик – Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, Україна, 61015, k.vozovik@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9743-001X>

Н.О. Шевченко – Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, Україна, 61015, shevchenko_nadyusha@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0001-6794-1444>

Подано до редакції: 02.11.2022 / Прорецензовано: 05.11.2022 / Прийнято до друку: 07.12.2022

Вступ

Біотехнологія, заснована на функціональних можливостях мікроорганізмів, має величезне значення для світової економіки. Існують численні продукти, які сприяють комерційному успіху практично всіх основних виробничих секторів, включаючи сільське господарство, біоремедіацію, біопаливо, їжу, напої, текстиль та фармацевтику (McWilliams, 2015). Наразі лише невелика частка мікробного біорізноманіття досліджена на предмет його комерційного потенціалу, причому більшість продуктів і послуг отримують з відносно невеликої кількості об'єктів. Мікроводорості практично не використовуються з точки зору біотехнологій, але зростає кількість компаній, які вирощують їх для виробництва пігментів, продуктів харчування, харчових добавок, косметики та космецевтики з комерційною метою. Крім того, аквакультура, зокрема вирощування риби та молюсків на ранніх стадіях розвитку, залежить від харчування високоякісними кормами на основі водоростей. Висока

продуктивність мікроводоростей, порівняно з наземними культурами, стимулювала великий науковий та комерційний інтерес до них, як джерела відновлювальних природних ресурсів (Karooge et al., 2019). Існує два види біопалива – біодизель та біоетанол, для виробництва яких використовують олійні та цукрові культури відповідно, у той час як мікроводорості є єдиною платформою, оскільки синтезують обидва біологічних компоненти (крохмаль і ліпіди) (Rehman, Anal, 2019). *C. dissectum* родини *Chlorococcaceae* – одноклітинна прісноводна зелена водорість, здатна до потенційного накопичення та депонування ліпідів у клітини (Hasan et al., 2016). Незалежно від походження та таксономічної класифікації, біотехнологічно важливі мікроорганізми та клітинні лінії є біологічними ресурсами, які використовують для виробництва різних продуктів. У промисловості, яка базується на виробництві водоростей, безпека основних культур, а також їхня функціональність (тобто здатність синтезувати метаболіти, які мають комерційну цінність) – це першочергове значення. Підтримання культури мікроводоростей у життєздатному стані за стандартних умов культивування займає багато часу. Тому дослідники зацікавлені у розвитку технологій, які передбачають використання низьких температур, зокрема криоконсервування. При цьому культури зберігають здатність до відновлення функцій росту та розмноження, захищені від генетичного дрейфу, забруднення, не потребують фінансових витрат на довготривале обслуговування (Abreu et al., 2012). Якщо довгострокове збереження зразків призводить до порушення фізичної, генетичної та функціональної стабільності, то під загрозу стає будь-яке їхнє використання з комерційною метою. Існує декілька основних підходів для підтримки основних характеристик вихідної культури. Звичайний серійний перенос, який найчастіше використовується в режимі культивування та викликає сповільнення метаболічної активності; зберігання у дегідратованому вигляді при кімнатній температурі або в холодильнику при 4°C; сублімаційна сушка або ліофілізація; криоконсервування, при якому температура навколишнього середовища може варіювати від –40 до –196°C (Kirsop, Doyle, 1991).

Більшість науковців центру біологічних ресурсів (BRC), до якого входять представники 38 країн, вважають криоконсервування найоптимальнішим методом довготривалого зберігання культур. У випадку еукаріотичних мікроводоростей не спостерігалось значного зниження життєздатності протягом 22 років низькотемпературного зберігання ряду таксонів (Hipkin et al., 2014). Крім того, було продемонстровано здатність клітин, відновлених після криосховища, синтезувати метаболіти, які мають біотехнологічну цінність (Hipkin et al., 2014). Хоча при криогенних температурах припиняється більшість біологічних функцій, варто зазначити, що при тривалому зберіганні можуть виникати деякі хімічні зміни внаслідок утворення вільних радикалів, іонізуючого випромінювання, результатом чого є пошкодження нуклеїнових кислот, а отже відбувається вплив на генетичну стабільність (Day, Fleck, 2015). Проте з практичної точки зору вважається, що життєздатність фактично не залежить від тривалості зберігання протягом десятиліть, якщо не сотень років, а період напіврозпаду криоконсервованого матеріалу оцінюється в понад 3000 років (Walters et al., 2004). Більшість бактерій можна успішно криоконсервувати, зберігаючи у морозильній камері за температури –70°C (Ananyina et al., 2020). Ця методика також була успішно використана для ціанобактерій, але не застосовувалася для більш складних еукаріотичних водоростей.

Метою даної роботи було проведення досліджень щодо визначення впливу різних режимів низькотемпературного зберігання на життєздатність *C. dissectum*.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження були мікроводорості *C. dissectum*, які були отримані з колекції кафедри ботаніки Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.

Культивування суспензійної культури здійснювали на рідкому поживному середовищі BG-11 (Al-Rikabey, Al-Mayah, 2018; Rehman, Anal, 2019) до початку стаціонарної фази росту в колбах Ерленмейера об'ємом 50 мл за температури 25±2°C і цілодобовому освітленні білим флуоресцентним світлом 52,84 мкмоль фотонів m⁻² s⁻¹ (3 klx) без додаткової аерації (Aravantinou, Manariotis, 2016).

Контроль накопичення біомаси здійснювали шляхом підрахунку кількості клітин у камері Горяєва.

Для концентрування мікроводоростей перед дослідженням впливу низькотемпературного зберігання суспензію центрифугували протягом 3 хв., за 3000 об/хв. до 10⁶ кл/мл та розливали у 1,8 мл криопробірки (Starlab, Україна). Використовували наступні температури: –18, –40, –70, –196°C.

Для забезпечення -18°C використовували звичайний побутовий морозильник. Охолодження до -40 і -70°C , проводили з неконтрольованими швидкостями охолодження шляхом вміщення кріопробірок безпосередньо у морозильні камери та з використанням контейнера для заморожування Mr. Frosty (TermoFisher Scientific, США), який при дотриманні інструкції експлуатації забезпечує швидкість зниження температури 1 град/хв. Заморожування до -196°C відбувалося шляхом прямого занурення кріопробірок зі зразками у рідкий азот та за умов двоетапного охолодження зі швидкістю 1 та 20 град/хв. до -40°C за допомогою програмного заморожувача ЗП-10 (СКТБ з ОП, Україна) з наступним перенесенням у кріосховище. Відігрів зразків після низькотемпературного зберігання проводили зануренням у водяну баню з температурою 40°C . Контролем були клітини мікроводоростей до зберігання.

Життєздатність *C. dissectum* визначали шляхом підрахунку колоній, які сформувалися на агаризованому поживному середовищі BG-11 протягом 10 днів за температури 25°C і цілодобовому освітленні (Chernobai et al., 2021).

Усі дослідження проводили у шестикратній повторності. Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою програми Past V.3.15 (Університет м. Осло, Норвегія). Визначали середнє значення та стандартне відхилення ($M \pm \sigma$). Значущість різниці між показниками оцінювали за критерієм Тьюкі. Різницю між вибірками вважали значущою при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Для визначення впливу процесу охолодження на культуру клітин необхідно було дослідити життєздатність мікроводорості після заморожування до температур зберігання з використанням різних режимів. Встановлено, що внаслідок заморожування *C. dissectum* до -18°C та зберігання протягом двох діб культура повністю втрачала свою життєздатність. Кріоконсервування до температури рідкого азоту за усіх варіантів дослідження значуще змінювало здатність клітин до утворення колоній (величини цього показника складала від 0,71 до 0,2 КУО $\times 10^6$ /мл). Охолодження зразків до -40 та -70°C за неконтрольованих умов зниження температури призводило до втрати показника життєздатності втричі – 4,1 проти 13,5 КУО $\times 10^6$ /мл. Охолодження у контейнері для заморожування Mr. Frosty до обох зазначених температур не змінювало величини життєздатності клітин, порівняно з контрольним значенням, яке складало від 11,5 до 13,5 КУО $\times 10^6$ /мл (рис. 1).

На рис. 2 показано вплив режиму охолодження та термінів зберігання за -40°C на життєздатність *C. dissectum*. Встановлено, що уже через 10 діб зберігання за умов неконтрольованого режиму охолодження до температури морозильної камери значуще знижувалася життєздатність мікроводорості з 13,5 до 2 КУО $\times 10^6$ /мл. Подовження терміну до 20 діб значуще не змінювало величини зазначеного показника, порівняно з попереднім терміном, та становило 1,6 КУО $\times 10^6$ /мл. Через 30 діб майже усі клітини втратили свою життєздатність (рис. 2).

За умов контрольованого охолодження *C. dissectum* не втрачав здатності до росту протягом усього терміну дослідження, хоча на 20 добу спостерігалось значуще зниження кількості життєздатних зразків порівняно з контролем (6,7 КУО $\times 10^6$ /мл). Слід відзначити, що подовження термінів зберігання до 30 та 90 діб призводило до додаткового зменшення кількості утворених колоній, величина дослідженого показника становила 4,7 та 3 КУО $\times 10^6$ /мл відповідно (рис. 2).

На рис. 3 показано вплив режиму охолодження та зберігання за -70°C на життєздатність *C. dissectum*. Показано, що через 10 діб зберігання за умов неконтрольованого режиму охолодження до температури морозильної камери його життєздатність знижувалася майже у чотири рази по відношенню до контрольних значень та становила 3,1 порівняно з 13,3 КУО $\times 10^6$ /мл. Подовження термінів зберігання призводило до додаткового зменшення кількості утворених колоній, а саме 1,4 на 20-ту добу спостереження, 0,6 на 30-ту та 0,3 на 90-ту (рис. 3).

Встановлено, що охолодження зразків у контейнері для заморожування до -70°C не змінювало показника їхньої життєздатності протягом досліджених термінів зберігання. Здатність клітин до колонієутворення становила 9,5–13,3 КУО $\times 10^6$ /мл (рис. 3).

Традиційне двоетапне кріоконсервування залишається методом вибору для збереження життєздатності мікроводоростей і ціанобактерій. Існує оптимальна швидкість охолодження, яка мінімізує утворення летального внутрішньоклітинного льоду (виникає при швидкому охолодженні) та надмірну осмотичну дегідратацію, що може бути причиною хімічного пошкодження внаслідок збільшення концентрації внутрішньоклітинних розчинених речовин або руйнування внутрішньоклітинних органелів (відбувається в результаті надмірно повільних швидкостей

охлаждения) (Day, Harding, 2008). Для багатьох таксонів водоростей оптимальним режимом є зниження температури 1°C/хв до -40°C з наступним зануренням у рідкий азот (Day, Brand, 2005).

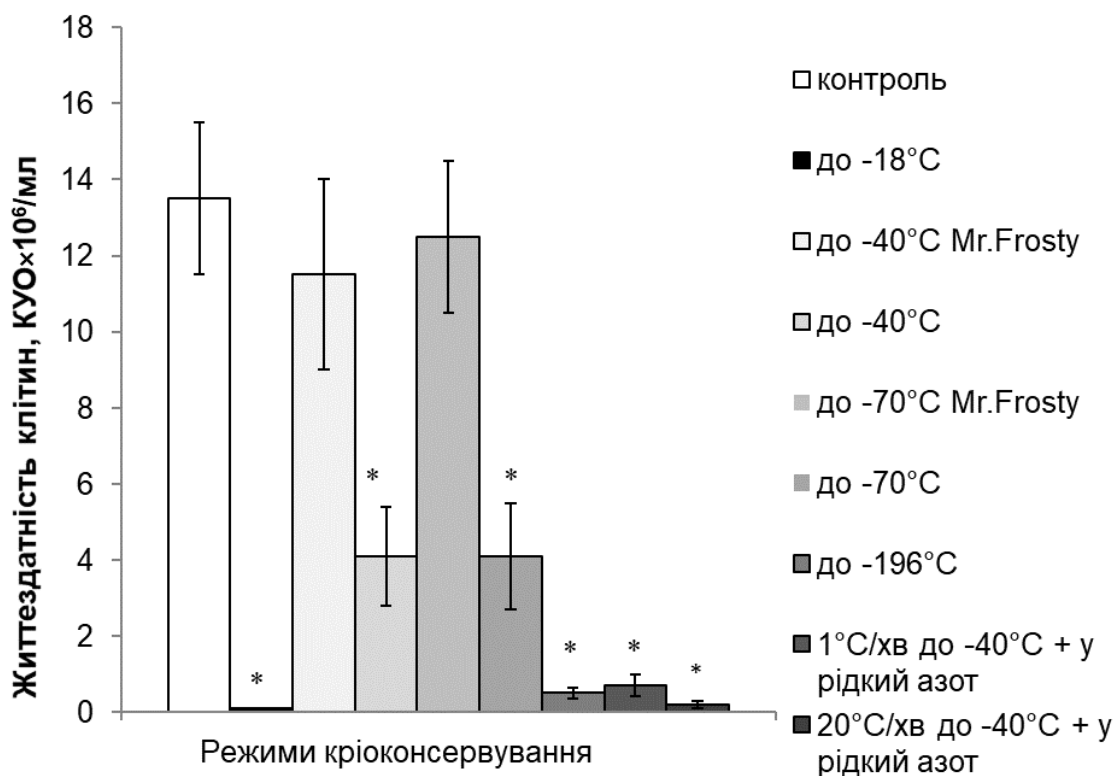


Рис 1. Вплив режимів криоконсервування на життєздатність клітин *C. dissectum* після зберігання за різних температурних режимів протягом двох діб, КУО×10⁶/мл (M±σ). * різниця значуща, по відношенню до контролю, p<0,05

Fig. 1. Effect of cryopreservation regime on *C. dissectum* cells viability after different temperatures storage for two days, CFU×10⁶/ml (M±σ). * significant difference compared to the control, p<0,05

У даній роботі для визначення внеску пошкоджуючої дії першого етапу заморожування до -40°C на життєздатність клітин перед їхнім зануренням у рідкий азот використовували два режими (рис. 4).

Показано, що використання повільного (1 град/хв.) та швидкого охолодження (20 град/хв.) до -40°C знижувало здатність *C. dissectum* до утворення колоній на агаризованому середовищі на 36 та 69% відповідно, порівняно з контролем (рис. 4). За подальшого заморожування клітин до температури рідкого азоту спостерігали різке зменшення величини дослідженого показника – 0,7 та 0,2 КУО×10⁶/мл (рис. 1). Встановлено, що зберігання зразків за -196°C значуще не змінювало величини життєздатності, яка складала 0,4 та 0,1 КУО×10⁶/мл відповідно (рис. 4).

Використання неконтрольованого охолодження мікроводоростей шляхом прямого занурення криопробірок у рідкий азот призводило до зменшення дослідженого показника з 13,5 до 0,3 (рис. 1). Зберігання зразків за даної температури не викликало додаткових змін (рис. 4).

Хотілося б відмітити, що рівень життєздатності за такого режиму криоконсервування дорівнював такому, отриманому за умов програмного двоетапного заморожування, яке потребує додаткового обладнання та додаткових витрат холодагенту (рис. 4).

Хоча використання субоптимальних умов навколишнього середовища, включаючи температуру інкубації та освітлення (для зниження інтенсивності росту), є стандартним підходом до підтримки колекційних культур водоростей (Lorenz et al., 2005), воно вважається незадовільним у контексті важливих для біотехнології зразків, як з точки зору безпеки штаму, так і забезпечення їхньої продуктивності (Smith, Ryan, 2008).

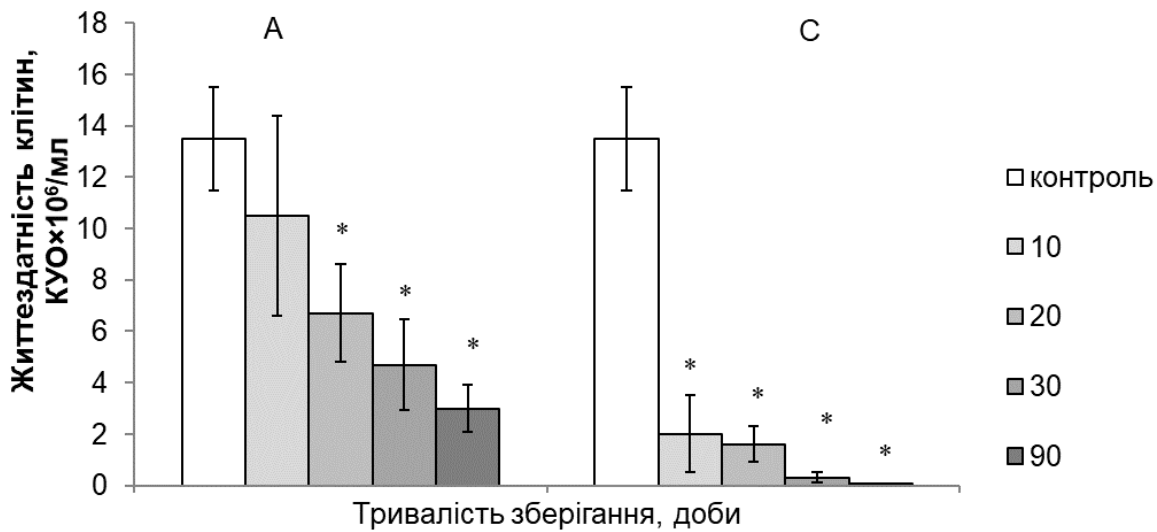


Рис. 2. Життєздатність *C. dissectum* після зберігання за температури -40°C протягом 90 діб, КУО $\times 10^6$ /мл: А – контрольоване охолодження, С – неконтрольоване охолодження ($M\pm\sigma$). * різниця значуща, по відношенню до контролю, $p < 0,05$

Fig. 2. *C. dissectum* viability after storage at -40°C for 90 days, CFU $\times 10^6$ /ml: A – controlled cooling, C – uncontrolled cooling ($M\pm\sigma$). * significant difference compared to the control, $p < 0,05$

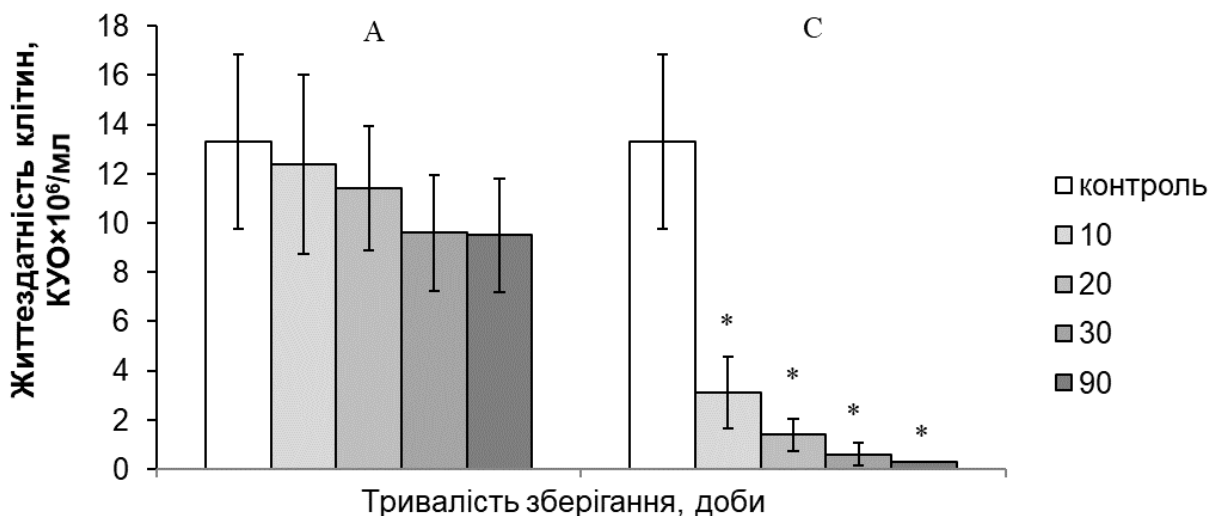


Рис. 3. Життєздатність *C. dissectum* після зберігання за температури -70°C , КУО $\times 10^6$ /мл: А – контрольоване охолодження, С – неконтрольоване охолодження ($M\pm\sigma$). * різниця значуща, по відношенню до контролю, $p < 0,05$

Fig. 3. *C. dissectum* viability after storage at -70°C , CFU $\times 10^6$ /ml: A – controlled cooling, C – uncontrolled cooling ($M\pm\sigma$). * significant difference compared to the control, $p < 0,05$

Якщо для біологічного об'єкту розроблено ефективні методології зберігання при низьких температурах загалом та у рідкому азоті зокрема, то такі підходи вважаються оптимальними (Smith, Ryan, 2008). Стійкість біологічних матеріалів до низькотемпературного зберігання залежить від здатності зразків уникнути крипошкодження, спричиненого фізичними та хімічними змінами, пов'язаними із заморожуванням навколишнього середовища та самого організму. Для водоростей, як і для інших біологічних груп, не існує універсального методу, хоча існують опубліковані стандартні

операційні протоколи, застосовні для різних ціанобактерій, мікро- та макроводоростей, які передбачають використання криозахисних сполук та контрольованих умов охолодження (Charrier et al., 2018; Sharma et al., 2013). Незалежно від методологічного підходу, першочергове значення має стабільність збережених зразків. Теоретично, якщо температури зберігання достатньо низькі, щоб запобігти молекулярному руху, то такі зразки повинні бути фактично інертними.

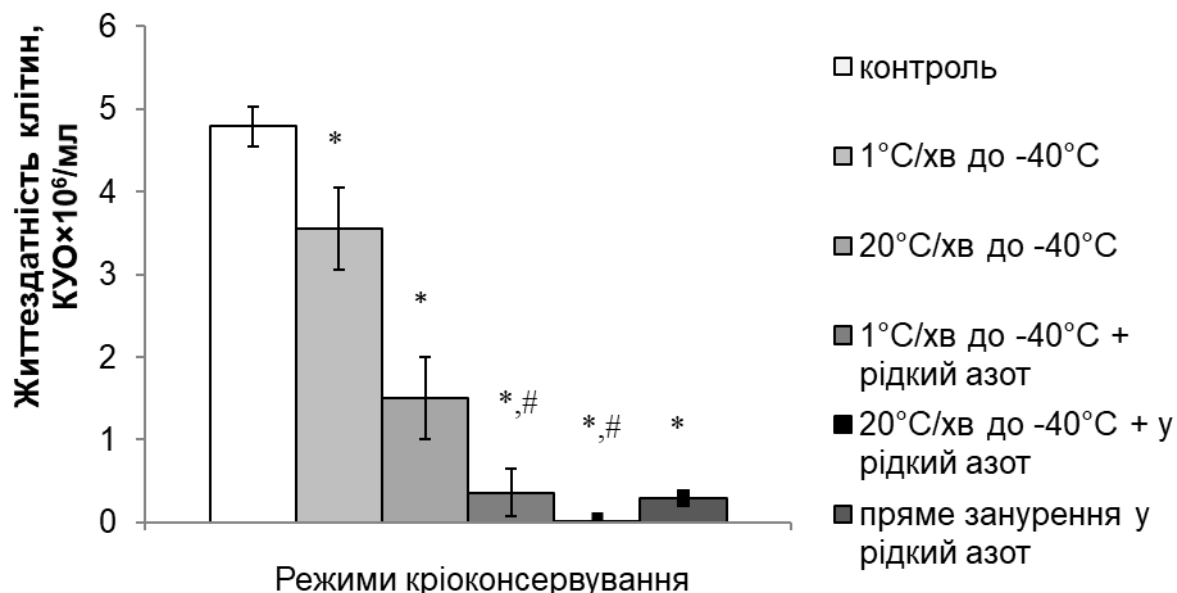


Рис. 4. Життєздатність *C. dissectum* після зберігання за температури рідкого азоту протягом року, КУО×10⁶/мл (M±σ). * різниця значуща, по відношенню до контролю, # різниця значуща по відношенню до зразків, які не піддавали дії температури рідкого азоту, p<0,05

Fig. 4. *C. dissectum* viability after storage at liquid nitrogen temperature for a year, CFU×10⁶/ml (M±σ). * significant difference compared to the control, # significant difference compared to the samples that were not exposed to liquid nitrogen temperature, p<0,05

У літературі майже відсутні дані успішного низькотемпературного зберігання водоростей за відсутності або за невисоких концентрацій криопротекторів. Встановлено, що клітини двох штамів *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata* та *Tetraselmis tetrahele* повністю втрачали життєздатність після двоетапного криоконсервування у рідкому азоті із застосуванням розчинів диметилсульфоксиду, гліцерину, етиленгліколю у 5%-й концентрації (Nakanishi et al., 2012). Повідомлялося про криоконсервування 19 штамів прісноводних мікроводоростей *Palmellopsis* sp., *Chlamydomonas* sp., *Palmellopsis* sp. без додавання криопротекторів. Було показано, що тільки 7 з досліджених штамів зберегли здатність до утворення колоній, при цьому величина цього показника становила менш ніж 10%, порівняно з контрольним значенням (Vui et al., 2013).

Досліджували можливість низькотемпературного зберігання *C. vulgaris* без додавання криопротекторів. Спостерігали зниження життєздатності цієї культури більш ніж вдвічі протягом 30-ти діб та майже в чотири рази після 4-х місяців перебування за температури –80°C. Зберігання зразків за температури –15°C було можливим тільки протягом 24 годин, після чого відзначали майже повну загибель клітин (Karoore et al., 2019).

Отримані нами результати показали, що для довготривалого зберігання суспензійної культури *C. dissectum* перспективним є використання морозильних камер з температурою –70°C та режиму охолодження у контейнері для заморожування Mr. Frosty. Однак ця робота потребує подальшого дослідження, а саме збільшення терміну зберігання. Для середньострокового зберігання (протягом 20 діб) можна рекомендувати температуру –40°C. Для криоконсервування зразків цієї мікроводорості за температур рідкого азоту необхідно провести серію досліджень з використання криопротекторів різних класів хімічних сполук та їхніх сумішей з метою підвищення показника життєдіяльності.

Висновки

Результати дослідження показали, що зберігання *C. dissectum* неможливе в умовах побутової морозильної камери (за температури -18°C). Використання неконтрольованого охолодження до -40 та -70°C з метою довготривалого підтримання зразків недоцільне, оскільки спостерігається значна втрата показника життєздатності протягом 10 діб.

Для довготривалого зберігання суспензійної культури *C. dissectum* перспективним є використання морозильних камер з температурою -70°C та режиму охолодження у контейнері для заморожування Mr. Frosty. Для середньострокового зберігання (протягом 20 діб) можна рекомендувати температуру -40°C за умов використання контейнера для заморожування Mr. Frosty.

Кріоконсервування мікроводорості за температур рідкого азоту за досліджених режимів значуще знижує здатність клітин до утворення колоній, аж до повної втрати життєздатності.

References

- Abreu L., Borges L., Marangoni J., Abreu P.C. (2012). Cryopreservation of some useful microalgae species for biotechnological exploitation. *Journal of Applied Phycology*, 24(6), 1579–1588. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9818-0>
- Al-Rikabey M.N., Al-Mayah A.M. (2018). Cultivation of *Chlorella vulgaris* in BG-11 media using Taguchi method. *Jour. of Adv. Research in Dynamical & Control System*, 10(7), 19–30.
- Ananyina G.E., Stepanyuk L.V., Visekantsev I.P., Petrov I.V. (2020). Influence of hypothermic and low-temperature storage conditions on the viability of immobilized probiotic *Bifidobacterium bifidum*. *Actual problems of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Stomatological Academy*, 3(71), 185–191. (In Ukrainian)
- Aravantinou A.F., Manariotis I.D. (2016). Effect of operating conditions on *Chlorococcum* sp. growth and lipid production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(1), 1217–1223. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.01.028>
- Bui T.V.L., Ross I.L., Jakob G., Hankamer B. (2013). Impact of procedural steps and cryopreservation agents in the cryopreservation of chlorophyte microalgae. *PloS one*, 8(11), e78668. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078668>
- Charrier B., Wichard T., Reddy C.R.K. (Eds.). (2018). *Protocols for macroalgae research*. CRC Press. 518 p. <https://doi.org/10.1201/b21460>
- Chernobai N.A., Vozovik K.D., Kadnikova N.G. (2021). Comparative analysis of methods for assessing the preservation of microalgae cultures of *Dunaliella salina* Teodoresco and *Chlorococcum dissectum* Korshikov (Chlorophyta) after exposure to stress factors, *Algologia*, 31(4), 353–364. <https://doi.org/10.15407/alg31.04.353> (In Ukrainian)
- Day J.G., Fleck R.A. (2015). Cryo-injury in algae and the implications this has to the conservation of microalgae. *Microalgae Biotechnol*, 1(1), 1–11. <https://doi.org/10.1515/micbi-2015-0001>
- Day J.G., Harding K. (2008). Cryopreservation of algae. *Plant cryopreservation: a practical guide*. Springer, New York, NY. 95–116. https://doi.org/10.1007/978-0-387-72276-4_6
- Day J.G., Brand J.J. (2005). Cryopreservation methods for maintaining microalgal cultures. *Algal Culturing Techniques*. Academic Press, Elsevier. 165–187. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-012088426-1/50013-5>
- Hasan C.M.M., Aftabuddin S., Sharif M., Khan M. (2016). Triacylglycerol profile of a microalga *Chlorococcum* sp. as a potential biofuel feedstock. *Journal of Bangladesh Academy of Sciences*, 40(2), 147–153. <https://doi.org/10.3329/jbas.v40i2.30770>
- Hipkin R., Day J.G., Rad-Menéndez C., Mock T. (2014). The first evidence for genotypic stability in a cryopreserved transgenic diatom. *Journal of Applied Phycology*, 26(1), 65–71. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0047-y>
- Kapoor R.V., Huete-Ortega M., Day J.G. et al. (2019). Effects of cryopreservation on viability and functional stability of an industrially relevant alga. *Scientific Reports*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38588-6>
- Kirsop B.E., Doyle A. (1991). *Maintenance of microorganisms and cultured cells: a manual of laboratory methods*. ed. 2. Academic Press Inc. 308 p. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(92\)90255-z](https://doi.org/10.1016/0169-4758(92)90255-z)
- Lorenz M., Friedl T., Day J.G. (2005). Perpetual maintenance of actively metabolizing microalgal cultures. *Algal culturing techniques*. Academic Press, Elsevier. 145–155. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-012088426-1/50011-1>

- McWilliams A. (2018). Microbial products: technologies, applications and global markets. *Wellesley: BCC Research*. 132 p.
- Nakanishi K., Deuchi K., Kuwano K. (2012). Cryopreservation of four valuable strains of microalgae, including viability and characteristics during 15 years of cryostorage. *Journal of Applied Phycology*, 24(6), 1381–1385. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9790-8>
- Rehman Z.U., Anal A.K. (2019). Enhanced lipid and starch productivity of microalga (*Chlorococcum* sp. TISTR 8583) with nitrogen limitation following effective pretreatments for biofuel production. *Biotechnology Reports*, 21, e00298. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2018.e00298>
- Sharma N.K., Rai A.K., Stal L.J. (2013). *Cyanobacteria: an economic perspective*. John Wiley & Sons. i–xxv. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118402238>
- Smith D., Ryan M.J. (2008). The impact of OECD best practice on the validation of cryopreservation techniques for microorganisms. *CryoLetters*, 29(1), 63–72.
- Walters C., Wheeler L., Stanwood P.C. (2004). Longevity of cryogenically stored seeds. *Cryobiology*, 48(3), 229–244. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2004.01.007>

Effect of low temperature storage conditions on the viability of microalgae *Chlorococcum dissectum* K.D. Vozovyk, N.O. Shevchenko

Chlorococcum dissectum Korshikov, 1953 is a unicellular freshwater green alga capable of accumulating and depositing lipids in cells. Regardless of their origin and taxonomic classification, biotechnologically important microorganisms and cell lines are biological resources that are used to produce various products. The aim of the work was to determine the effect of low-temperature storage conditions on the alga viability. The temperatures used were as follows: –18, –40, –70, and –196°C. An ordinary household freezer was used to provide –18°C. Cooling to –40 and –70°C was carried out with uncontrolled cooling rates by placing the cryotubes directly into the freezers or using a Mr. Frosty freezing container, which provides a temperature decrease rate of 1 deg/min. Freezing to –196°C was carried out by direct immersion of cryotubes in liquid nitrogen and two-stage cooling at 1 and 20 deg/min to –40°C with subsequent transfer to a cryostorage. The viability of *C. dissectum* was determined by counting the colonies formed on BG-11 agarized nutrient medium. It was found that the cells completely lost their viability after freezing to –18°C and storage for two days. Cryopreservation to –196°C for all studied variants and uncontrolled cooling rate to –40 and –70°C, as well as further storage of such samples at these temperatures, led to significant or complete loss of their viability. Cooling in a Mr. Frosty freezer container to –40 and –70°C did not affect the ability of cells to grow. Moreover, storing *C. dissectum* at –40°C did not cause a significant loss of viability throughout the study period, and its storage at –70°C did not change the viability index at all. The obtained results showed that the controlled cooling and the use of freezers at –40°C and –70°C, respectively, are promising for medium-term and long-term storage of *C. dissectum* suspension culture. To increase the viability of samples after cooling to liquid nitrogen temperature, it is necessary to develop cryopreservation modes using cryoprotectants.

Key words: *microalgae, C. dissectum, viability, low-temperature storage, cryopreservation.*

Cite this article: Vozovyk K.D., Shevchenko N.O. Effect of low temperature storage conditions on the viability of microalgae *Chlorococcum dissectum*. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series "Biology"*, 2022, 39, 12–19. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2022-39-2>. (In Ukrainian)

About the authors:

K.D. Vozovyk – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine, Pereyaslavka st., 23, Kharkiv, Ukraine, 61015, k.vozovik@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9743-001X>
N.O. Shevchenko – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the NAS of Ukraine, Pereyaslavka st., 23, Kharkiv, Ukraine, 61015, shevchenko_nadyusha@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0001-6794-1444>

Received: 02.11.2022 / Revised: 05.11.2022 / Accepted: 07.12.2022

••• ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН ••• PLANT PHYSIOLOGY •••

DOI: 10.26565/2075-5457-2022-39-3

UDC: 635.657:581.16

Evaluation of genotype-environment interactions for non-polar lipids and fatty acids in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds**L.I. Relina, O.Ye. Vazhenina, L.N. Kobzyeva, R.L. Bohuslavsky, S.H. Ponurenko, V.P. Kolomatska, O.M. Bezuhla, O.H. Suprun, N.K. Ilchenko, L.A. Vecherska**

Genotype-environment ($G \times E$) interactions for non-polar lipids and fatty acids were studied in 28 chickpea accessions. The total nonpolar lipid content was determined by Soxhlet procedure; fatty acid profiles were investigated by gas chromatography. There were strong negative correlations between oleic and linoleic acids and between oleic and linolenic acids. The correlation between linoleic and linolenic acids was positive and either strong or moderate. Correlations between the other acids were differently directed and of various strengths. Line Luh 99/11 turned out to be an outlier in relation to the other genotypes due to an unusually high content of stearic acid. Cultivar CDC Jade was an outlier because of too low content of stearic acid and too high content of linoleic acid. Accession UD0502195 was an outlier due to a higher content of palmitic acid. Accessions UD0500022 and UD0502195 were outliers due to the low content of total nonpolar lipids. The variability in the total nonpolar lipid content was not affected by the environment, but the environment contributions to the variability of oleic and linoleic acids were very high. There were only statistically significant differences in the oleic and linoleic acid amounts between the cultivation years. There was a positive correlation between the oleic acid content and the average air temperature during the "anthesis – maturity" period and a negative correlation between the linoleic acid content and the average temperature during this period. There was also a negative correlation between the oleic acid content and precipitation during the "anthesis – maturity" period and a positive correlation between the linoleic acid content and precipitation during this period. The palmitic acid content was the most responsive to environmental changes in cultivar CDC Vanguard and the most resistant in cultivar Krasnokutskiy 123. The stearic acid content was the most sensitive to environmental changes in cultivar ILC 3279 and the most irresponsive in accession UKR001:0502116. As to oleic and linoleic acids, line L 273-18 had the bi (plasticity) and S^2di (stability) values coupled with the corresponding mean contents, meaning that this genotype may be adapted to decreased temperature. The ecovalence values (Wi^2) for the total nonpolar lipids, palmitic, stearic and linolenic acids indicated that these characteristics were little responsive to environmental fluctuations. As to oleic and linoleic acids, Wi^2 values were much higher in many accessions, confirming the variability of these parameters depending on growing conditions. Having the highest Wi^2 values, accession Garbanzo 2 is expected to show high degrees of the $G \times E$ interactions for oleic and linoleic acids. S^2di was positively correlated with Wi^2 .

Key words: chickpea, oil, correlation, outlier, vegetation phases, analysis of variance, stability, ecovalence.

Cite this article: Relina L.I., Vazhenina O.Ye., Kobzyeva L.N., Bohuslavsky R.L., Ponurenko S.H., Kolomatska V.P., Bezuhla O.M., Suprun O.H., Ilchenko N.K., Vecherska L.A. Evaluation of genotype-environment interactions for non-polar lipids and fatty acids in chickpea (*Cicer arietinum*) seeds. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series "Biology"*, 2022, 39, 20–34. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2022-39-3>

About the authors:

L.I. Relina – The Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Heroiv Kharkova Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, lianaisaakovna@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2833-5841>

O.H. Suprun – The Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Heroiv Kharkova Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, oleg.suprun@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-7708-093X>

R.L. Bohuslavskiy – The Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Heroiv Kharkova Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, boguslavr@meta.ua, <https://orcid.org/0000-0003-3145-4788>

L.A. Vecherska – The Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Heroiv Kharkova Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, lyudmila_vecherska@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-3513-6701>

O.M. Bezuhla – The Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Heroiv Kharkova Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, olgabezuglaya61@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1458-1630>

L.N. Kobyzeva – The Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Heroiv Kharkova Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, l.n.kobyzeva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3067-7971>

O.Ye. Vazhenina – The Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Heroiv Kharkova Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, vajeninaolga29@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9471-5987>

V.P. Kolomatska – The Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Heroiv Kharkova Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, valeriya.kolom@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5408-4244>

S.H. Ponurenko – The Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Heroiv Kharkova Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, serhii_ponurenko@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-0397-636X>

N.K. Ilchenko – The Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Heroiv Kharkova Ave., 142, Kharkiv, Ukraine, 61060, masovianalizy@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1080-1373>

Received: 03.10.2022 / Revised: 07.10.2022 / Accepted: 03.11.2022

Introduction

Plants encounter different environmental conditions. Responses to these conditions depend on the genetic make-up of plants. When the same genotype develops in different environments, it can generate a variety of phenotypes. These phenotypic variations are attributed to effects of external conditions on the expression of genes influencing the trait of interest. Genotype – environment ($G \times E$) interactions refer to differences in genotypes' responses to different environments (Falconer, Mackay, 1996). First of all, the yield of a crop is highly influenced by the environment. However, the seed quality is also highly dependent on the environment. Fatty acid profiles are one of the determinants of the seed quality. In addition to their roles in the human and animal health, unsaturated fatty acids (UFAs) affect the shelf lives of products, as they undergo oxidation and hydrolysis reactions, eventually turning rancid. This determinant pertains not only to oilseeds, but also to crops with a relatively low oil yield. The chickpea (*Cicer arietinum* L.) is not an oil crop, but it is considered a source of UFAs, as chickpeas are one of the most commonly consumed pulses. Thus, according to the 2018 FAOSTAT data, the chickpea production amounted to 17,192,188 tons (United Nations Data Retrieval System, 2022). *C. arietinum* is a well studied crop for its nutritional value, including lipids (Wallace et al., 2016). However, a great assortment of chickpea cultivars is available and each of them may have its biochemical peculiarities. It should be noted that $G \times E$ interactions are generally seldom explored for biochemical characteristics and, in addition, researchers have focused their efforts on exploring heritability and environmental variability of fatty acid profiles in oil crops, like the common olive, but pulses have been completely neglected in this respect. Previously, we determined fatty acid contents in *kabuli* and *desi* seeds, which are a part of the collection of the National Centre for Plant Genetic Resources of Ukraine (in press). Our next objective was to investigate the $G \times E$ interactions for total lipids and major fatty acids in chickpea seeds. To our knowledge, it is the first (pilot) study to investigate $G \times E$ interactions for these biochemical features of chickpea seeds.

Methods and Materials

Test accessions

Twenty-eight chickpea accessions from the collection of the National Center for Plant Genetic Resources of Ukraine were studied (17 *kabuli* and 11 *desi*). Accessions that are used or planned to be used in crossings and of interest for the chickpea breeding in the Eastern Forest-Steppe of Ukraine were selected for this study. *C. arietinum* was grown in experimental plots of the Plant Production Institute named after V.Ya. Yuriev of NAAS (eastern forest-steppe of Ukraine; Kharkivska Oblast, Kharkivskiy District; N 49°59'39", E 36°27'09") in compliance with conventional farming techniques. Seeds were harvested in 2018, 2019, and 2020. The hydrothermal coefficient (HTC), an indicator that is commonly used in Ukraine to characterize meteorological conditions, was computed (Selyaninov, 2028). The weather conditions during the chickpea growing period differed greatly in 2018, 2019 and 2020. 2019 with an optimal HTC of 0.63 was favorable for chickpea plants; 2020 (HTC = 1.60) was waterlogged, but precipitation was distributed unevenly; 2018 (HTC = 0.43) had the harshest hydrothermal characteristics (Fig. 1). Relationships between the studied characteristics and temperature/precipitation during the chickpea vegetation phases are discussed below in the Result and Discussion section.

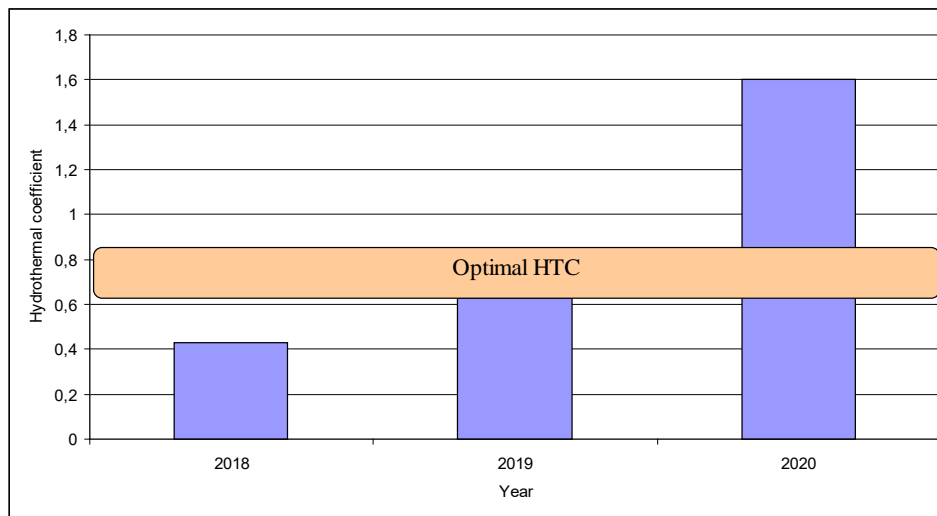


Fig. 1. Meteorological conditions during the chickpea vegetation

Freshly harvested seeds were used for analyses. Whole seeds were milled on a laboratory mill LZM (Olis, LLC, Ukraine). The test accessions were encoded as follows: G1-Rozanna; G2-Dniprovskiyi 1; G3-ILC 3279; G4-Kamila 1255; G5-Garbanzo 2; G6-Zehavit; G7-Luh 99/11; G8-Luh 101/11; G9-Alcazaba; G10-UKR001: 0502116; G11-Garbanzo 3; G12-CDC Vanguard; G13-UKR001: 0502059; G14-UKR001: 0502061; G15-Avatar; G16-L 273-18; G17-L 279-18; G18-L 292-18; G19-UD0500196; G20-Chorny; G21-UD0500022; G22-Krasnokutskiy 123; G23-UKR001: 0501960; G24-UD0502195; G25-Luch; G26-CDC Ebony; G27-CDC Jade; G28-B-90.

Total nonpolar lipid content: Three samples of each accession were analyzed for each year. Lipids were extracted from dried (to the constant weight) whole chickpea seeds (700-800 mg in two replications) by Soxhlet procedure (Juhaimi et al., 2019). Oil was repeatedly washed (percolated) with petroleum ether of boiling range between 40–60°C. The Soxhlet extractor (Cordial, China) was heated to 40°C (hot extraction). After 6-hour incubation at 40°C, the solvent was evaporated under vacuum using a rotary evaporator (Ika, Germany). The percentage of oil in the initial sample was calculated using the following formula:

Total nonpolar lipids (crude oil), % = weight of obtained oil × 100 / weight of absolutely dry milled seeds used in a run.

Gas chromatography: Three samples of each accession were analyzed for each year. Fatty acid methyl esters were prepared by the modified Peisker method (Peisker, 1964). Chloroform-methanol-96% sulfuric acid mixture in a ratio of 100:100:1 was used for methylation. 30–50 µl of lipid extract was placed in a glass ampoule; 2.5 ml of methylation mixture was added, and the ampoule was sealed. Ampoules were incubated in a thermostat at 105°C for 3 hours. After methylation, ampoules were opened, the contents were transferred to test tubes, a pinch of powdered zinc sulfate was added, and then 2 ml of distilled water and 2 ml of hexane were poured to extract methyl esters. After thoroughly stirring and settling, the hexane extracts were filtered and analyzed by gas chromatography (Prokhorova, 1982).

Fatty acid composition was determined using a gas chromatograph Selmikhrom 1 (OAO SELMI, Ukraine) equipped with a flame ionization detector (FID). The stainless steel column, 2.5 m length × 4 mm i.d., was packed with a stationary phase, Inerton AW-DMCS (0.16–0.20 mm) processed with 10% diethylene glycol succinate. 2 µl of hexane solution of fatty acid methyl esters was injected. Gas chromatography was operated under the following conditions: nitrogen flow 30 mL/min; hydrogen flow 30–35 mL/min; air flow 300 mL/min; column temperature 180°C; injector temperature 230°C and FID temperature 220°C. The fatty acids were identified by comparing the retention time of sample with those of reference fatty acid methyl esters (Sigma-Aldrich, US).

Data processing: The percentages of fatty acid methyl esters were calculated by internal normalization. The data were statistically processed in MICROSOFT EXCEL and STATGRAPHICS PLUS. The Mann-Whitney test was used for comparisons. Joint analysis of variance was applied to evaluate the

genotype and environmental contributions to the variability. The $G \times E$ interactions were assessed using Russell and Eberhart's algorithm (Eberhart, Russell, 1966) and Wricke's ecovalence values (Wricke, 1965), as described in (Ivanenko et al., 1978).

Results and Discussion

We performed correlation analysis for fatty acids in the chickpea. There was a strong negative correlation between oleic and linoleic acids ($r=-0.89 - -0.95$), which was expected, since in the plant kingdom linoleic acid is synthesized via desaturation (dehydrogenation) of oleic acid (Bernard, 2014; Zhou et al., 2017). There was also a strong negative correlation between oleic and linolenic acids ($r=-0.67 - -0.84$), and it is known that linoleic acid is dehydrogenated to form linolenic acid (Tanhuanpaa, Schulman, 2002; Timoszuk et al., 2018). The correlation between linoleic and linolenic acids was positive and either strong ($r=0.71$ in 2019) or moderate ($r=0.52$ and 0.62 in 2018 and 2020, respectively) in the chickpea accessions under investigation. Oleic acid is synthesized from stearic acid (Benelli et al., 2017), but we observed no significant correlation between these fatty acids in the chickpea. Absence of correlation between oleic and stearic acids was also reported for sunflower (Izquierdo et al., 2006), for *Brassica spp.* and *Brassica rapa* (Stefansson, Storgaard, 1969). There was a moderate negative correlation between oleic and palmitic acids ($r=-0.46 - -0.56$). Palmitoleic is produced *de novo* by desaturation of palmitic acid (Cahoon, Shanklin, 2000), and we found a moderate positive correlation between these fatty acids ($r=0.54-0.60$) in the chickpea. Palmitic acid is elongated to stearic acid (Vickery, Vickery, 1981), but there was no significant correlation between these fatty acids. This is generally in line with a study on peanut (a weak correlation was found in one population (Wang et al., 2015), rapeseed and mustard (a significant correlation was only found for *Brassica napus*) (Islam et al., 2009), but it is in disagreement with the findings of Mustiga et al. (2019), who revealed significant negative correlations between the levels of palmitic acid and the downstream fatty acids: stearic ($r=-0.74$), oleic ($r=-0.37$), and linoleic acids ($r=-0.05$) in *Theobroma cacao* L. beans. Eicosanoic acid is produced from stearic acid by elongation (Barker et al., 2007), and the correlation between these fatty acids in the chickpea was positive and either strong ($r=0.90$ and 0.87 in 2018 and 2019, respectively) or moderate ($r=0.52$ in 2020).

Thus, relationships between fatty acids may differ not only between species, but even between populations within one species. Such complex patterns are most likely to be due to multiple factors (both genetic and environmental ones) influencing the level of each fatty acid. Taking palmitic acid as an example, one major quantitative trait locus (QTL) and three minor QTLs encoding genes of different isoforms of stearoyl-acyl carrier protein desaturase were located (Zhang et al., 2015) in the chocolate tree. Eleven and 19 QTLs were identified for palmitic acid in two peanut populations (Wang et al., 2015).

The variations in the total lipid and fatty acid contents were low (<10%) or moderate (10–20 %), according to classification of variation ranges (Chepur, 2015) (Fig. 2).

It should be noted that seeds of G7 (Luh 99/11) had an unusually high content of stearic acid. It was statistically proven (ISO 16269-4:2010) that Luh 99/11 was an outlier in relation to the other genotypes (Fig. 3). G27 (CDC Jade) was an outlier because of too low content of stearic acid. In plants, acyl carrier protein (ACP) acts as the acyl carrier for fatty acid synthases (Harwood, 2005). The palmitoyl-ACP is extended by two 2-carbon units to form the stearoyl-ACP by stearoyl-ACP synthase, which is a multienzymatic complex composed of four enzymes (beta-ketoacyl ACP-synthase II, enoyl-ACP reductase, hydroxyacyl-ACP dehydrase, and enoylacyl-ACP reductase) (Harwood, 1996). So, the outlying values can be caused by a mutation in the genes encoding these enzymes or in genes affecting their expression.

There were also outliers for other fatty acids as well as for total nonpolar lipids, though the fluctuations were not as drastic as for stearic acid. CDC Jade was also an outlier for the linoleic acid content. As linoleic acid production is catalyzed by fatty acid desaturase 2 (FAD2) (Bernard, 2014; Zhou et al., 2017), the outlying content of linoleic acid in CDC Jade seeds may be explained by a mutation affecting expression of this enzyme.

G24 (UD0502195) was an outlier because of higher content of palmitic acid. Palmitic acid synthesis is accomplished in the following steps: the beta-ketoacyl-ACP is reduced by beta-ketoacyl-ACP reductase, then dehydrated by beta-hydroxyacyl-ACP dehydratase, and further reduced by enoylacyl-ACP reductase to produce butyryl-ACP. After further condensation with malonyl-ACP, butyryl-ACP is elongated by two C2 units by beta-ketoacyl-ACP synthase I. After seven cycles, palmitoyl-ACP is formed. So, mutations in any of these enzymes can be a cause of the outlying data.

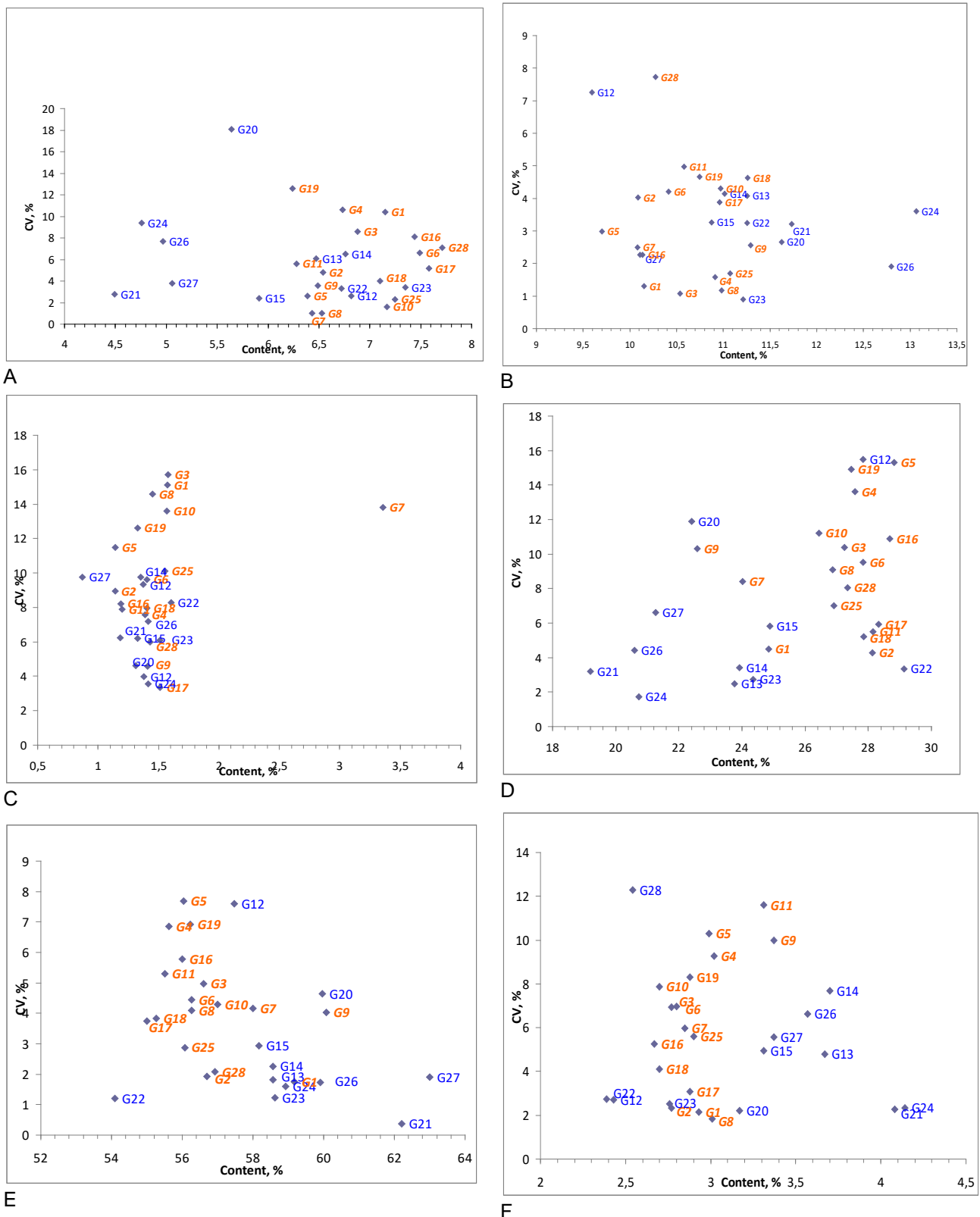


Fig. 2. Mean-CV plots of the crude oil and fatty acid contents. A – total nonpolar lipids; B – palmitic acid; C – stearic acid; D – oleic acid; E – linoleic acid; F – linolenic acid. **G** – kabuli type, **g** – desi type

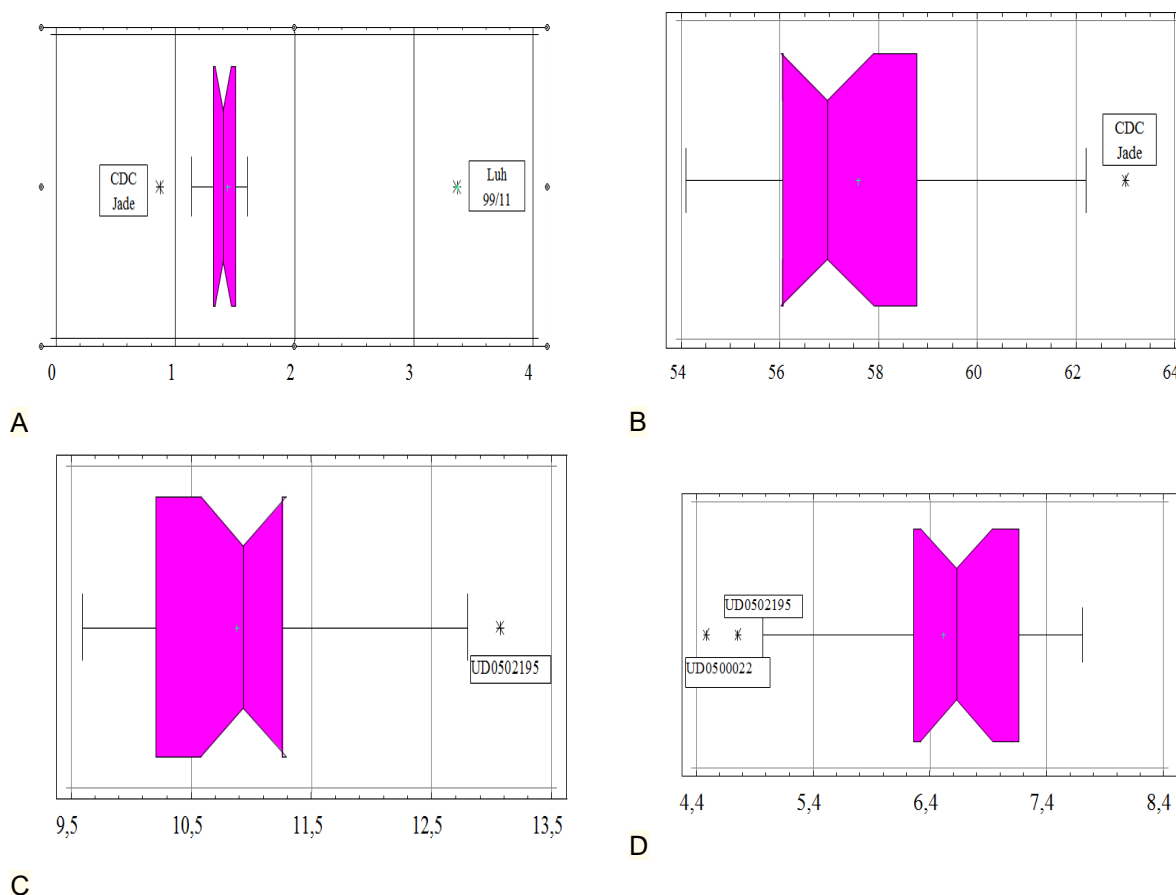


Fig. 3. Box-and whiskers plots of the crude oil and fatty acid contents. A – stearic acid; B – linoleic acid; C – palmitic acid; D – total nonpolar lipids. * – outlier; + – mean; notch – median

G21 (UD0500022) and G24 (UD0502195) were outliers due to a low content of total nonpolar lipids, and there may be a lot of alterations responsible for this peculiarity.

A number of researchers confirmed the high heritability of fatty acid composition (Dabbou et al., 2010; De la Rosa et al., 2016; Ripa et al., 2008; Salimonti et al., 2020). We analyzed the genotype and environmental contributions to the variability of the lipid traits in *C. arietinum* seeds (Table 1).

Table 1. The genotype, environment and G × E interaction contributions to the variability of the total nonpolar lipid and fatty acid contents in *C. arietinum* seeds (% of total)

Trait	Genotype	Environment	G × E interaction
Total nonpolar lipid content	84.68	1.17	14.16
Palmitic acid content	82.90	4.49	12.17
Stearic acid content	89.99	0.05	9.97
Oleic acid content	63.3	10.50	26.09
Linoleic acid content	48.73	20.46	30.83
Linolenic acid content	87.69	1.53	10.87

Thus, the variability in the total nonpolar lipid content was not affected by the environment. The environment did not contribute to the variability of the stearic acid content either. The environment contributions to the variability of the palmitic and linolenic acid contents were statistically significant, but low; that is why we observed not significant differences in these fatty acids between the cultivation years. As to oleic and linoleic acids, the environment contributions to their variability were much higher, which is

generally in agreement with other researchers' data (see below). The 'genotype-environment' interaction effects were also the most pronounced for oleic and linoleic acids.

We detected no significant differences in the palmitic or stearic acid levels, i.e. major saturated acids, between the growing conditions (cultivation years). Brock et al. (2020) also showed that saturated (but not unsaturated) fatty acid accumulation was unaffected by environment in gold-of-pleasure. Nevertheless, many authors reported that increased temperature contributed to a rise in palmitic acid content (Falcone et al., 2004; Lehrian et al., 1980; Mustiga et al., 2019; Liu, Huang, 2004; Wintgens, 1992). Martínez-Force et al. (1998) found that all mutant (high-stearic and high-palmitic) sunflower lines increased palmitic acid content at high growth temperature and almost all mutants increased stearic acid content at low temperature, though one could expect a decline in all saturated fatty acids, including stearic, as a result of a temperature drop. Rainfall and sunlight were also shown to affect the palmitic acid level (Mustiga et al., 2019; Shen et al., 2018).

In our study, there were only statistically significant differences in the oleic and linoleic amounts between the cultivation years (Fig. 4).

The oleic acid level was lower both in the *kabuli* and in *desi* accessions in 2020 and in 2018 than in 2019. The 2018 and 2020 years differed for the *kabuli* types only: the oleic acid content in *kabuli* seeds was higher in 2018 than in 2020. An opposite trend was observed for linoleic acid: its content was higher both in the *kabuli* and in *desi* accessions in 2020 and in 2018 than in 2019. The linoleic acid content was higher in 2020 than in 2018. Such opposite changes seem to be quite logical, as in the plant kingdom linoleic acid is synthesized via desaturation of oleic acid by FAD2 (Bernard, 2014; Zhou et al., 2017).

We analyzed these differences in the context of temperature and rainfall during different phases of chickpea plant development. No consistent patterns were observed between the linoleic and oleic acids contents and air temperature or precipitation amount during the "sowing-emergence" and "emergence-anthesis" periods. However, there was a strong or moderate positive correlation between the oleic acid content and the average air temperature during the "anthesis – maturity" period ($r=0.84$ ($P<0.05$) and $r=0.60$ ($P<0.05$) for the *kabuli* and *desi* types, respectively). Concurrently, there was a strong or moderate negative correlation between the linoleic acid content and the average temperature during this period ($r=-0.84$ ($P<0.05$) and $r=-0.70$ ($P<0.05$) for the *kabuli* and *desi* types, respectively). This is in line with data obtained on other crops. FAD2 activity depends on temperature in sunflower (Martínez-Rivas et al., 2000) FAD2 genes are known to play the direct role in adaptation to cold stress in different plant species (Dar et al., 2017), including cotton (Kargiotidou et al., 2008), arabidopsis (Maeda et al., 2008), common olive (Matteucci et al., 2011) and in soybean (Byfield, Upchurch, 2007). A FAD2-2 isoform was shown to be involved in the response to drought in common olive (Hernández et al., 2009, 2018). Levels of other unsaturated fatty acids also tend to increase during cold adaptation. Soybean oil accumulated more linolenic acid when plants were cultivated at a decreased temperature (Lanna et al., 2005). Liu et al. (2019) hypothesized that palmitoleic acid may play an important role in developing upland cotton seeds, especially under cold stress.

We also found a strong negative correlation between the oleic acid content and the precipitation amount during the "anthesis – maturity" period ($r=-0.95$ ($P<0.05$) and $r=-0.98$ ($P<0.05$) for the *kabuli* and *desi* types, respectively). In parallel, there was a strong positive correlation between the linoleic acid content and the precipitation amount during this period ($r=0.95$ ($P<0.05$) and $r=0.98$ ($P<0.05$) for the *kabuli* and *desi* types, respectively). These results are consistent with data reported for other crops. Water deficit caused a decrease in the linoleic acid content in olive mesocarp. Analysis of the fatty acid composition in water-deficient stressed *Brassica napus* showed decreased contents of linoleic and linolenic acids in phospholipid fractions (Dakhma et al., 1995). Mekki et al. (1999) reported that drought stress increased the percentage of palmitic acid. Water deficit stress also increased the stearic acid content in canola cultivars (Moghadam et al., 2011).

The discrepancies between data of different authors and our data concerning saturated fatty acids and palmitoleic or linolenic fatty acids can be explained by different stages of ontogenesis under investigation or by different solvents used for lipid extraction. Petroleum ether extracts mainly nonpolar lipids (triglycerides), while membrane lipids are amphiphilic, and mixtures for their extraction are to contain polar solvents (with methanol being the most common one). At the same time, it is membrane lipids that are supposed to respond to environmental changes (primarily to temperature). When temperature drops, the composition of membrane lipids tends to become more unsaturated to maintain homeoviscosity. Thus, the levels of petroleum ether-extracted lipids may not change in parallel with environment-induced general

patterns in fatty acid composition. Further research is needed to elucidate if there are any relationships between fatty acid profiles in membrane lipids from plants vegetating under different environmental conditions and in lipids from mature seeds.

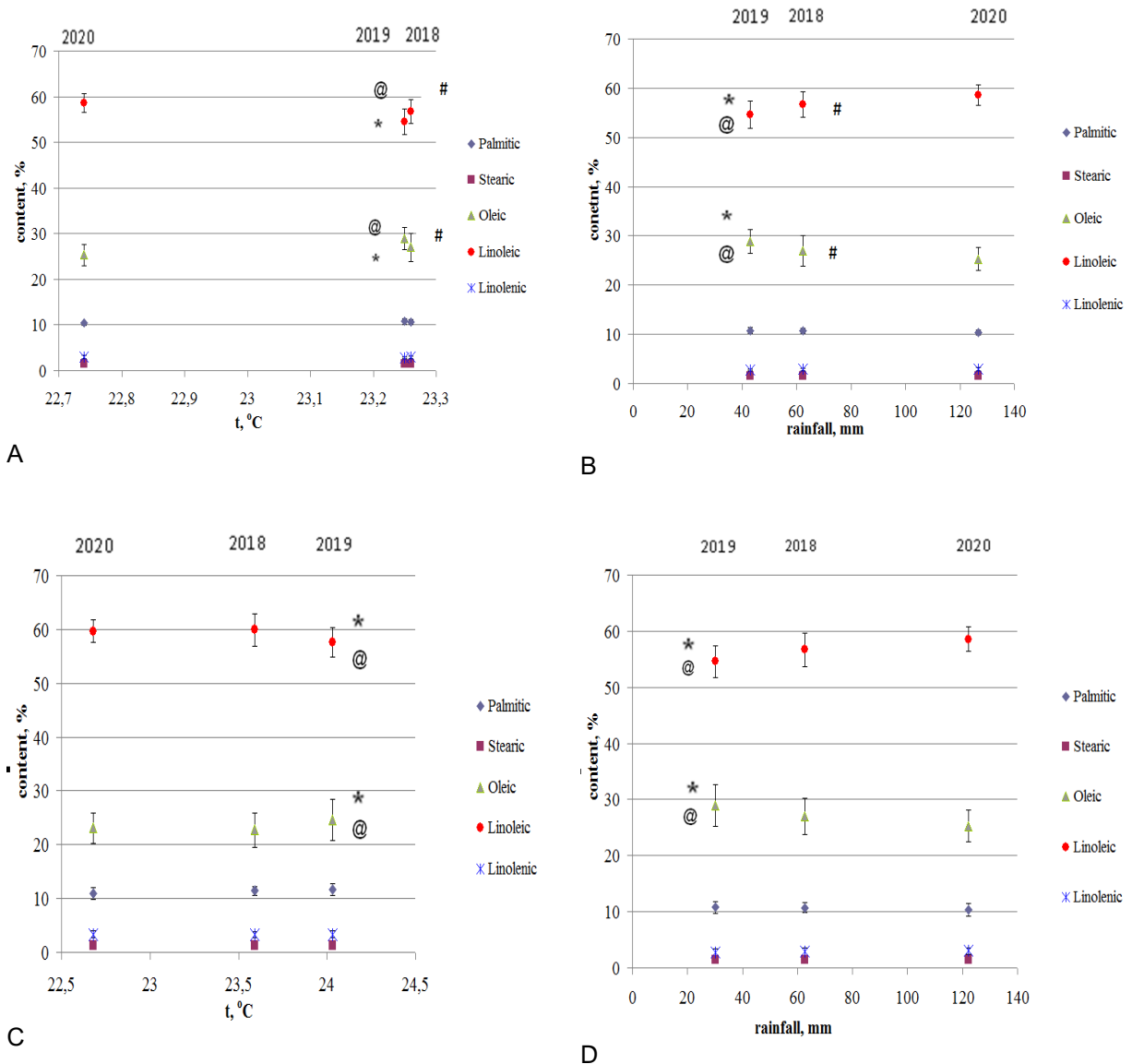


Fig. 4. Plots of the mean contents of fatty acids versus average temperature and precipitation amount during the “anthesis – maturity” period. A, B – kabuli type; C, D – desi type. * – significant difference between 2019 and 2020; @ – significant difference between 2019 and 2018; # – significant difference between 2018 and 2020

To analyze how the chickpea accessions respond to environmental changes, we applied Russell and Eberhart’s algorithm (Fig. 5). A wide adaptability genotype is defined as one with $b_i=1$ and high stability as one with $S^2d_i=0$. Here, we should emphasize that Russell and Eberhart’s method is usually used to evaluate yield/performance, so high and stable yields are sure to be recognized as promising ones (Lule et al., 2014). However, when discussing biochemical parameters, interpretation may differ. For example, high stability of linoleic content may be beneficial with regard to seed quality and nutritional value, but detrimental to plants in the context of adaptation to heat stress.

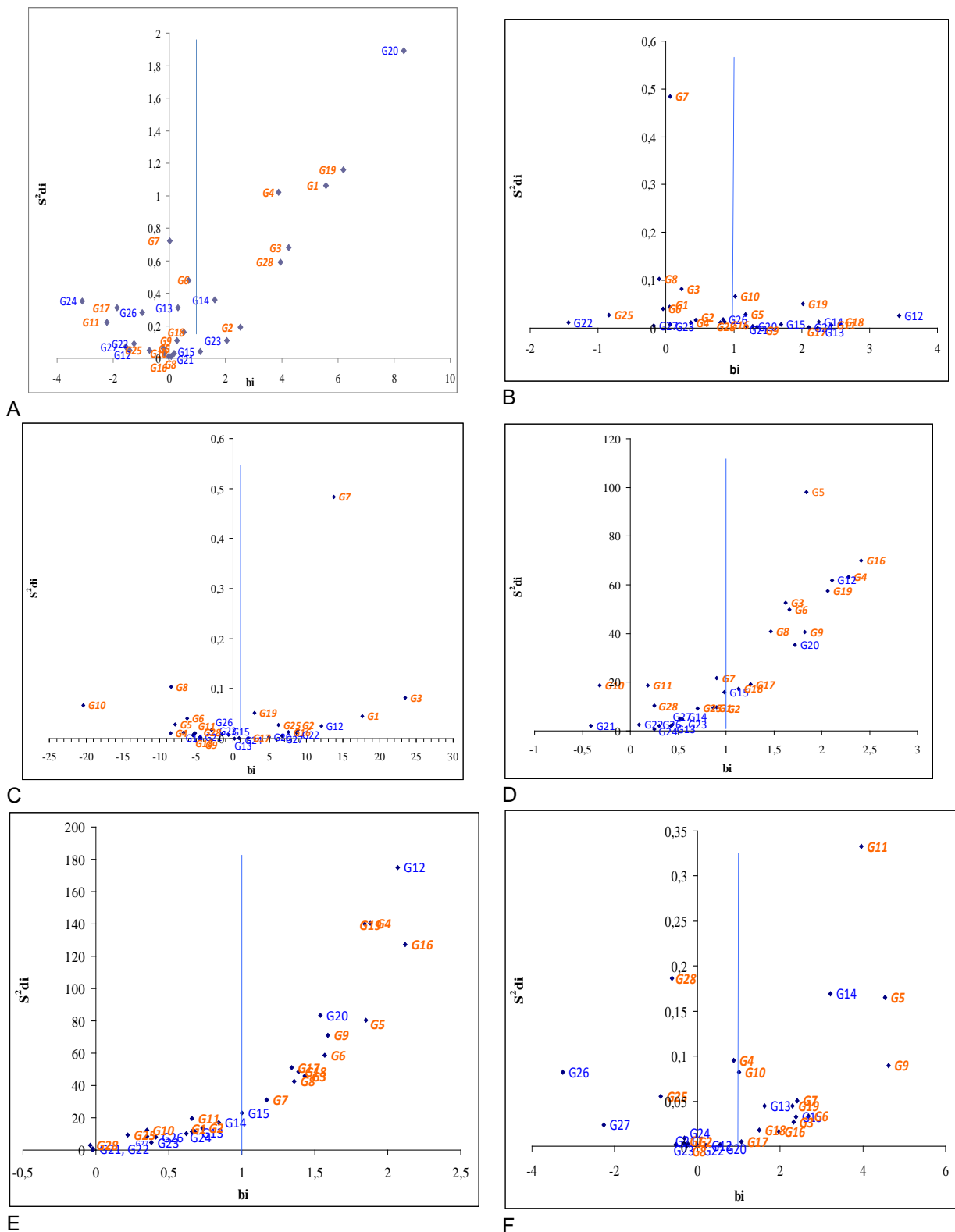


Fig. 5. Biplot for regression coefficient (bi) and deviation from regression (S^2di) stability parameters. A – total nonpolar lipids; B – palmitic acid; C – stearic acid; D – oleic acid; E – linoleic acid; F – linolenic acid. **G** – kabuli type, **G** – desi type

Table 2. Wricke's ecovalence for the total nonpolar lipid and fatty acid contents in chickpea seeds

Genotype	Total lipids	Palmitic	Stearic	Oleic	Linoleic	Linolenic
G1	0.80	0.11	0.13	0.09	0.64	0.02
G2	0.08	0.42	0.02	0.39	0.41	0.02
G3	0.47	0.08	0.13	10.92	9.20	0.02
G4	0.81	0.10	0.02	21.10	21.31	0.16
G5	0.10	0.07	0.03	37.63	31.14	0.15
G6	0.48	0.58	0.05	8.28	3.75	0.03
G7	0.04	0.24	0.53	6.99	7.06	0.03
G8	0.03	0.16	0.11	7.16	3.93	0.02
G9	0.12	0.03	0.01	2.99	2.42	0.19
G10	0.07	0.44	0.12	28.33	16.51	0.08
G11	0.41	0.30	0.02	20.35	19.97	0.28
G12	0.17	0.61	0.03	33.48	30.03	0.01
G13	0.32	0.16	0.00	1.29	0.62	0.03
G14	0.32	0.16	0.04	1.27	0.47	0.13
G15	0.00	0.05	0.01	1.34	1.60	0.02
G16	0.75	0.05	0.01	9.17	7.88	0.01
G17	0.45	0.12	0.00	0.92	1.07	0.00
G18	0.16	0.26	0.03	0.20	1.17	0.00
G19	0.89	0.31	0.06	29.39	23.20	0.10
G20	1.62	0.07	0.00	8.12	7.80	0.00
G21	0.05	0.17	0.01	8.19	5.79	0.03
G22	0.20	0.71	0.03	5.60	6.69	0.01
G23	0.03	0.11	0.01	1.73	2.42	0.03
G24	0.61	0.21	0.00	2.25	0.81	0.03
G25	0.13	0.35	0.06	7.28	9.27	0.09
G26	0.38	0.04	0.02	3.61	3.66	0.20
G27	0.20	0.24	0.01	4.77	5.28	0.14
G28	0.40	1.48	0.01	14.12	9.35	0.26

The total nonpolar lipid content was the most sensitive to environmental changes in G20 (Chopnyi) and the most resistant in G24 (UD0502195), with S^2di values not significantly different from zero. The palmitic acid content was the most sensitive to environmental changes in G12 (CDC Vanguard) and the most resistant in G22 (Krasnokutskiy 123), with very low values of S^2di , too. The other accessions also had very low values of S^2di , though with bi closer to 1. Thus, CDC Vanguard is adapted to environments favoring high levels of palmitic acid (which may reflect adaptation to increased temperature), while Krasnokutskiy 123, *vis versa*, may be adapted to cool environments. It is noteworthy that the assumption about Krasnokutskiy 123 was confirmed by multi-year field surveys, which showed that this cultivar better survived during cool periods than other accessions. Similar considerations can be applied to stearic acid, though different genotypes stood out with marginal values. The stearic acid content was the most sensitive to environmental changes in G3 (ILC 3279) and the most resistant in G10 (UKR001: 0502116), with very low values of S^2di . It should be noted that G7 (Luh 99/11) had the highest S^2di values for palmitic and stearic acids, though they were not significantly different from zero, either. As to the oleic and linoleic acid contents, the patterns were different. S^2di values for oleic and linoleic acids were much higher than for saturated ones. For example, for oleic acid, G16 (L 273-18) and G5 (Garbanzo 2) had bi of 2.41 and 1.84 and S^2di of 70.0 and 98.1 coupled with the mean content of 28.6% and 28.8%, respectively, meaning that these genotypes may be adapted to decreased temperature. As for linoleic acid, G12 (CDC Vanguard) and G4 (Kamila 1255) had the highest values of S^2di : 174.8 and 140.3, respectively, (bi of 2.07 and 1.88), with the mean content of 57.5% and 55.6%, respectively. G16 (L 273-18) and G19 (UD0500196) also had fairly high values of bi and S^2di : 2.12 and 1.84, respectively, and 127.3 and 139.9, respectively. The mean content of linoleic content in seeds of these chickpea accessions was 56.0% and 56.2%, respectively. Hence, much

greater variability is intrinsic to oleic and linoleic acids in chickpea seeds as compared to other fatty acids, which may be a consequence of membrane adaptability to temperature fluctuations. L 273-18, Garbanzo 2, CDC Vanguard, Kamila 1255, and UD0500196 were later acquired by the National Center for Plant Genetic Resources of Ukraine and have not been yet tested for survival at decreased temperature. We suppose that they can be adaptable to cool weather too, like Krasnokutskiy 123, but this supposition needs further verification in the field. However, no clear patterns were observed for linolenic acid, which had near zero S^2di values and bi ranging from -3.25 (G26; CDC Ebony) to 4.62 (G9; Alcazaba).

The ecovalence (Wi^2) is a measure of the $G \times E$ interaction. Wi^2 is equal to zero (or near zero) if there is no (or negligible) $G \times E$ interaction. The Wricke's ecovalence values for the total nonpolar lipids, palmitic, stearic and linolenic acids were generally in line with our conclusions on these characteristics drawn from the other evaluation approaches: these parameters are little responsive to environmental changes (Table 2). The S^2di - Wi^2 correlation coefficients amounted to 0.96, 0.67, 0.98, 0.69, 0.63, and 0.85 for total lipids, palmitic, stearic, oleic, linoleic, and linolenic acids, respectively. As to oleic and linoleic acids, Wi^2 were much higher in many accessions, confirming the variability of these parameters depending on growing conditions. G5 (Garbanzo 2) had the highest Wi^2 values for the oleic and linoleic acid contents, attesting to high degrees of the $G \times E$ interaction for these characteristics, which was in agreement with the assessment by Russell and Eberhart's method. G12 (CDC Vanguard) had the second highest value of Wi^2 for linoleic acid, which also agreed with the assessment by Russell and Eberhart's method. However, there were some discrepancies for other genotypes: G12 (CDC Vanguard), G19 (UD0500196) and G10 (UKR001: 0502116) (not G16 (L 273-18)) had the second, third and fourth highest values of Wi^2 for oleic acid.

Conclusions

Correlation analysis revealed differently directed correlations of various strengths between fatty acids in the chickpea accessions under investigation. The variations in the total lipid and fatty acid contents were low or moderate. Seeds of Luh 99/11 had an unusually high content of stearic acid, making this genotype an outlier in relation to the other genotypes. CDC Jade was an outlier because of too low content of stearic acid. CDC Jade was also an outlier for the linoleic acid content. UD0502195 was an outlier because of higher content of palmitic acid. UD0500022 and UD0502195 were outliers due to the low content of total nonpolar lipids. The variability in the total nonpolar lipid content was not affected by the environment. The environment did not contribute to the variability of the stearic acid content either. As to oleic and linoleic acids, the environment contributions to their variability were much higher. There were only statistically significant differences in the oleic and linoleic acid amounts between the cultivation years. There was a positive correlation between the oleic acid content and the average air temperature during the "anthesis – maturity" period and a negative correlation between the linoleic acid content and the average temperature during this period. We also found a negative correlation between the oleic acid content and the precipitation amount during the "anthesis – maturity" period and a positive correlation between the linoleic acid content and the precipitation amount during this period. The palmitic acid content was the most sensitive to environmental changes in CDC Vanguard and the most resistant in Krasnokutskiy 123. Thus, CDC Vanguard may be adapted to environments with increased temperature favoring high levels of palmitic acid, while Krasnokutskiy 123, vice versa, may be adapted to cool environments. The stearic acid content was the most sensitive to environmental changes in ILC 3279 and the most resistant in UKR001: 0502116. For oleic and linoleic acids, L 273-18 had the bi and S^2di values coupled with the corresponding mean contents, meaning that this genotype may be adapted to decreased temperature. The Wricke's ecovalence values for the total nonpolar lipids, palmitic, stearic and linolenic acids indicated that these characteristics were hardly responsive to environmental changes. As to oleic and linoleic acids, Wi^2 values were much higher in many accessions, confirming the variability of these parameters depending on growing conditions. Having the highest Wi^2 values, Garbanzo 2 is expected to show high degrees of the $G \times E$ interactions for oleic and linoleic acids.

References

Barker G.C., Larson T.R., Graham I.A. et al. (2007). Novel insights into seed fatty acid synthesis and modification pathways from genetic diversity and quantitative trait loci analysis of the *Brassica C* genome. *Plant Physiology*, 144(4), 1827–1842. <https://doi.org/10.1104/pp.107.096172>

- Benelli V., Allen F., Wang M. (2017). Variability in seed oil content and fatty acid composition, phenotypic traits and self-incompatibility among selected niger germplasm accessions. *Plant Genetic Resources*, 15(4), 348–354. <https://doi.org/10.1017/S1479262115000702>
- Bernard M.H. (2014) *Molecular cloning and functional characterization of genes involved in the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in oat (Avena sativa L.)*. Thesis for the Degree of Master of Science, University of Saskatchewan. HARVEST Repository: <http://hdl.handle.net/10388/ETD-2014-04-1543>
- Brock J.R., Scott T., Lee A.Y. et al. (2020). Interactions between genetics and environment shape *Camelina* seed oil composition. *BMC Plant Biology*, 20, 423. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02641-8>
- Byfield G.E., Upchurch R.G. (2007). Effect of temperature on delta-9 stearoyl-ACP and microsomal omega-6 desaturase gene expression and fatty acid content in developing soybean seeds. *Crop Science*, 47(4), 1698–1704. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.04.0213>
- Cahoon E.B., Shanklin J. (2000). Substrate-dependent mutant complementation to select fatty acid desaturase variants for metabolic engineering of plant seed oils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 97(22), 12350–12355. <https://doi.org/10.1073/pnas.210276297>
- Chepur S.S. (2015). *Biometry*. Uzhhorod: Publishing House UzhNU “Hoverla”. 40 p. (in Ukrainian)
- Dabbou S., Rjiba I., Echbili A. et al. (2010). Effect of controlled crossing on the triglyceride and fatty acid composition of virgin olive oils. *Chemistry & Biodiversity*, 7(7), 1801–1813. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200900385>
- Dakhma W.S., Zarrouk M., Cherif A. (1995). Effects of drought stress on lipids in rape leaves. *Phytochemistry*, 40(5), 1383–1386. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00459-K](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00459-K)
- Dar A.A., Choudhury A.R., Kancharla P.K. et al. (2017). The *FAD2* gene in plants: occurrence, regulation, and role. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1789. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01789>
- De la Rosa R., Arias-Calderón R., Velasco L., León L. (2016). Early selection for oil quality components in olive breeding progenies. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(8), 1160–1167. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500425>
- Eberhart S.A., Russell W.A. (1966). Stability parameters for comparing varieties. *Crop Science*, 6(1), 36–40. <https://doi.org/10.2135/cropsci1966.0011183X000600010011x>
- Falcone D.L., Ogas J.P., Somerville C.R. (2004). Regulation of membrane fatty acid composition by temperature in mutants of *Arabidopsis* with alterations in membrane lipid composition. *BMC Plant Biology*, 4, 17. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-4-17>
- Falconer D.S., Mackay T.F.C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th edition. Harlow, Essex, UK: Addison Wesley Longman, 448 p.
- Harwood J.L. (1996). Recent advances in the biosynthesis of plant fatty acids. *Biochimica et Biophysica Acta – Lipids and Lipid Metabolism*, 1301(1–2), 7–56. [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(95\)00242-1](https://doi.org/10.1016/0005-2760(95)00242-1)
- Harwood J.L. (2005). Fatty acid biosynthesis. In: *Plant Lipids: Biology, Utilisation and Manipulation*. Ed. D.J. Murphy. Oxford: Blackwell Publishing. P. 27–66.
- Hernández M.L., Padilla M.N., Mancha M., Martínez-Rivas J.M. (2009). Expression analysis identifies *FAD2-2* as the olive oleate desaturase gene mainly responsible for the linoleic acid content in virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.*, 57(14), 6199–6206. <https://doi.org/10.1021/jf900678z>
- Hernández M.L., Velázquez-Palmero D., Sicardo M.D. et al. (2018). Effect of a regulated deficit irrigation strategy in a hedgerow ‘Arbequina’ olive orchard on the mesocarp fatty acid composition and desaturase gene expression with respect to olive oil quality. *Agricultural Water Management*, 204, 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.04.002>
- Islam M.S., Rahman L., Alam M.S. (2009). Correlation and path coefficient analysis in fat and fatty acids of rapeseed and mustard. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 34(2), 247–253. <https://doi.org/10.3329/bjar.v34i2.5796>
- ISO 16269-4:2010. Statistical interpretation of data – Part 4: Detection and treatment of outliers.
- Ivanenko E.G., Volf V.G., Litun P.P. (1978). To the method of studying the plasticity of varieties. *Selektsiya i Semenovodstvo*, 40, 16–25. (in Russian)
- Izquierdo N.G., Aguirrezábal L.A.N., Andrade F.H. et al. (2006). Modeling the response of fatty acid composition to temperature in a traditional sunflower hybrid. *Agronomy Journal*, 98(3), 451–461. <https://doi.org/10.2134/agronj2005.0083>

- Juhaimi F.A., Uslu N., Babiker E.E. et al. (2019). The effect of different solvent types and extraction methods on oil yields and fatty acid composition of safflower seed. *Journal of Oleo Science*, 68(11), 1099–1104. <https://doi.org/10.5650/jos.ess19131>
- Kargiotidou A., Deli D., Galanopoulou D. et al. (2008). Low temperature and light regulate delta 12 fatty acid desaturases (FAD2) at a transcriptional level in cotton (*Gossypium hirsutum*). *Journal of Experimental Botany*, 59(8), 2043–2056. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern065>
- Lanna A.C., José I.C., Oliveira M.G. de A. et al. (2005). Effect of temperature on polyunsaturated fatty acid accumulation in soybean seeds. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(2), 213–222. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000200004>
- Lehrian D.W., Keeney P.G., Butler D.R. (1980). Triglyceride characteristics of cocoa butter from cacao fruit matured in a microclimate of elevated temperature. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 57, 66–69. <https://doi.org/10.1007/BF02674362>
- Liu X., Huang B. (2004). Changes in fatty acid composition and saturation in leaves and roots of creeping bentgrass exposed to high soil temperature. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(6), 795–801. <https://doi.org/10.21273/JASHS.129.6.0795>
- Liu B., Sun Y., Xue J. et al. (2019). Stearoyl-ACP $\Delta 9$ desaturase 6 and 8 (GhA-SAD6 and GhD-SAD8) are responsible for biosynthesis of palmitoleic acid specifically in developing endosperm of upland cotton seeds. *Frontiers in Plant Science*, 10, 703. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00703>
- Lule D., Tesfaye K., Mengistu G. (2014). Genotype by environment interaction and grain yield stability analysis for advanced triticale (x. *Triticosecale* Wittmack) genotypes in western Oromia, Ethiopia. *Ethiopian Journal of Science*, 37(1), 63–68.
- Maeda H., Sage T.L., Isaac G. et al. (2008). Tocopherols modulate extraplastidic polyunsaturated fatty acid metabolism in *Arabidopsis* at low temperature. *The Plant Cell*, 20(2), 452–470. <https://doi.org/10.1105/tpc.107.054718>
- Martínez-Force E., Álvarez-Ortega R., Cantisán S., Garcés R. (1998). Fatty acid composition in developing high saturated sunflower (*Helianthus annuus*) seeds: maturation changes and temperature effect. *J. Agric. Food Chem.*, 46(9), 3577–3582. <https://doi.org/10.1021/jf980276e>
- Martínez-Rivas J.M., García-Díaz M.T., Mancha M. (2000). Temperature and oxygen regulation of microsomal oleate desaturase (FAD2) from sunflower. *Biochem. Soc. Trans.*, 28(6), 890–892.
- Matteucci M., D'Angeli S., Errico S. et al. (2011). Cold affects the transcription of fatty acid desaturases and oil quality in the fruit of *Olea europaea* L. genotypes with different cold hardiness. *Journal of Experimental Botany*, 62(10), 3403–3420. <https://doi.org/10.1093/jxb/err013>
- Mekki B.B., El-Kholy M.A., Mohamad E.M. (1999). Yield, oil and fatty acids contents as affected by water deficit and potassium fertilization in two sunflower cultivars. *Egyptian Journal of Agronomy*, 21(1), 67–85.
- Moghadam H.R.T., Zahedi H., Ghooshchi F. (2011). Oil quality of canola cultivars in response to water stress and super absorbent polymer application. *Pesqui. Agropecu. Trop.*, 41(4), 579–586. <https://doi.org/10.5216/pat.v41i4.13366>
- Mustiga G.M., Morrissey J., Stack J.C. et al. (2019). Identification of climate and genetic factors that control fat content and fatty acid composition of *Theobroma cacao* L. beans. *Front Plant Sci.*, 10, 1159. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01159>
- Peisker K.V. (1964). A rapid semi-micro method for preparation of methyl esters from triglycerides using chloroform, methanol, sulphuric acid. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 41(1), 87–88. <https://doi.org/10.1007/BF02661915>
- Prokhorova M.I. (1982). *Methods of biochemical studies (lipid and energy metabolism)*. Leningrad: Publishing House of Leningrad University. 327 p. (in Russian)
- Ripa V., De Rose F., Caravita M.A. et al. (2008). Qualitative evaluation of olive oils from new olive selections and effects of genotype and environment on oil quality. *Advances in Horticultural Science*, 22(2), 95–103.
- Salimonti A., Carbone F., Romano E. et al. (2020). Association study of the 5'UTR intron of the FAD2-2 gene with oleic and linoleic acid content in *Olea europaea* L. *Front. Plant Sci.*, 11, 66 <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00066>
- Selyaninov G.T. (1928). About agricultural estimate of climate. *Trudy po Selskokhosyaystvennoy Meteorologii*, 20, 165–177. (in Russian)

- Shen Q., Zhao J.X., Qiu X.B. et al. (2018). Research on influence of environment factors to yield and quality traits of *Perilla frutescen*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 43(20), 4033–4043. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20180820.007>. (in Chinese)
- Stefansson B.R., Storgaard A.K. (1969). Correlations involving oil and fatty acids in rapeseed. *Canadian Journal of Plant Science*, 49(5), 573–580. <https://doi.org/10.4141/cjps69-099>
- Tanhuanpaa P., Schulman A. (2002). Mapping of genes affecting linolenic acid content in *Brassica rapa* ssp. *oleifera*. *Molecular Breeding*, 10, 51–62. <https://doi.org/10.1023/A:1020357211089>
- Timoszuk M., Bielawska K., Skrzydlewska E. (2018). Evening primrose (*Oenothera biennis*) biological activity dependent on chemical composition. *Antioxidants*, 7(8), 108. <https://doi.org/10.3390/antiox7080108>
- United Nations Data Retrieval System. (2022). <http://data.un.org/Data.aspx?d=FAO&f=itemCode%3A191>
- Vickery M.L., Vickery B. (1981). Introduction. In: *Secondary Plant Metabolism*. Palgrave, London. 1–19. https://doi.org/10.1007/978-1-349-86109-5_1
- Wallace T.C., Murray R., Zelman K.M. (2016). The nutritional value and health benefits of chickpeas and hummus. *Nutrients*, 8(12), 766. <https://doi.org/10.3390/nu8120766>
- Wang M.L., Khera P., Pandey M.K. et al. (2015). Genetic mapping of QTLs controlling fatty acids provided insights into the genetic control of fatty acid synthesis pathway in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *PLoS One*, 10(4), e0119454. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119454>
- Wintgens J.N. (1992). *Influence of genetic factors and agroclimatic conditions on the quality of cocoa*: 2nd International Congress on Cocoa and Chocolate, May 1991. Munich: Nestec Limited, Agricultural Services. 55 p.
- Wricke G. (1965). Zur berechnung der okovalenz bei sommerweizen und hafer. *Z. Pflanzenzuchtung*, 52, 127–138. (in German)
- Zhang Y., Maximova S.N., Guiltinan M.J. (2015). Characterization of a stearoyl-acyl carrier protein desaturase gene family from chocolate tree, *Theobroma cacao* L. *Frontiers in Plant Science*, 6, 239. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00239>
- Zhou X.P., Wang M.Y., Feng L. et al. (2017). Cloning and expression of HaFAD2 2 gene from *Helianthus annuus* L. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 37(5), 845–850. (in Chinese)

Оцінка взаємодії генотип-середовище за ознаками вмісту неполярних ліпідів та жирних кислот в насінні нуту (*Cicer arietinum* L.)

Л.І. Реліна, О.Є. Важеніна, Л.Н. Кобизева, Р.Л. Богуславський, С.Г. Понуренко, В.П. Коломацька, О.М. Безугла, О.Г. Супрун, Н.К. Ільченко, Л.А. Вечерська

Взаємодії генотип-середовище (Г × С) за ознаками вмісту неполярних ліпідів та жирних кислот вивчалися в 28 зразках нуту. Загальний вміст неполярних ліпідів визначали за методикою Сокслета; жирнокислотний склад вивчали методом газової хроматографії. Встановлено сильні негативні кореляції між вмістом олеїнової та лінолевої кислот, а також між вмістом олеїнової та ліноленої кислот. Кореляція між вмістом лінолевої та ліноленої кислот була позитивною і сильною або помірною. Кореляції між іншими кислотами характеризувались різнонаправленістю та були різної сили. Лінія Луг 99/11 виявилась викидом по відношенню до інших генотипів через незвичайно високий вміст стеаринової кислоти. Сорт CDC Jade був викидом через надзвичайно низький вміст стеаринової кислоти та надзвичайно високий вміст лінолевої кислоти. Зразок UD0502195 був викидом через підвищений вміст пальмітинової кислоти. Зразки UD0500022 та UD0502195 були викидами через низький загальний вміст неполярних ліпідів. Навколишнє середовище не впливало на варіабельність загального вмісту неполярних ліпідів, проте внески середовища в варіабельність вмісту олеїнової та лінолевої кислот були дуже високими. Відмінності між роками вирощування були статистично значущими тільки для олеїнової та лінолевої кислот. Встановлено позитивну кореляцію між вмістом олеїнової кислоти та середньою температурою повітря в період “цвітіння – зрілість” і негативну кореляцію між вмістом лінолевої кислоти та середньою температурою за цей період. Також встановлено негативну кореляцію між вмістом олеїнової кислоти та сумою опадів в період “цвітіння – зрілість” і позитивну кореляцію між вмістом лінолевої кислоти та сумою опадів за цей період. Вміст пальмітинової кислоти був найбільш чутливим до змін навколишнього середовища в насінні сорту CDC Vanguard і найбільш стійким в насінні сорту Краснокутський 123. Вміст стеаринової кислоти був найбільш чутливим до змін навколишнього середовища в насінні сорту ILC 3279 і найбільш стійким в насінні зразка UKR001:0502116. Що стосується олеїнової та лінолевої кислот, лінія Л 273-18 характеризувалась значеннями b_i та S^2d_i , які у поєднанні з відповідними середніми значеннями вмісту, означають, що цей генотип може адаптуватись до знижених температур. Значення ековалентності (Wi^2) за ознаками загальний вміст неполярних ліпідів, вміст пальмітинової, стеаринової і ліноленої кислот вказували

на те, що ці характеристики слабо реагували на коливання навколишніх умов. Щодо олеїнової та лінолевої кислот, значення Wi^2 були набагато вищі у багатьох зразках, що підтверджує варіабельність цих параметрів в залежності від умов вирощування. Оскільки зразок Garbanzo 2 мав найвищі значення Wi^2 , можна очікувати, що йому будуть притаманні високі ступені взаємодій $\Gamma \times C$ за ознаками олеїнової та лінолевої кислот.

Ключові слова: нут, олія, кореляція, викид, фази вегетації, дисперсійний аналіз, стабільність, ековалентність.

Цитування: Relina L.I., Vazhenina O.Ye., Kobzyeva L.N., Bohuslavsky R.L., Ponurenko S.H., Kolomatska V.P., Bezuhla O.M., Suprun O.H., Ilchenko N.K., Vecherska L.A. Evaluation of genotype-environment interactions for non-polar lipids and fatty acids in chickpea (*Cicer arietinum*) seeds. Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія», 2022, 39, 20–34. <https://doi.org/10.26565/2075-5457-2022-39-3>

Про авторів:

Л.І. Реліна – Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України, пр. Героїв Харкова, 142, Харків, Україна, 61060, lianaisaakovna@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2833-5841>
О.Г. Супрун – Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України, пр. Героїв Харкова, 142, Харків, Україна, 61060, oleg.suprun@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-7708-093X>
Р.Л. Богуславський – Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України, пр. Героїв Харкова, 142, Харків, Україна, 61060, boguslavr@meta.ua, <https://orcid.org/0000-0003-3145-4788>
Л.А. Вечерська – Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України, пр. Героїв Харкова, 142, Харків, Україна, 61060, lyudmila_vecherska@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-3513-6701>
О.М. Безугла – Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України, пр. Героїв Харкова, 142, Харків, Україна, 61060, olgabezuglaya61@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1458-1630>
Л.Н. Кобизева – Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України, пр. Героїв Харкова, 142, Харків, Україна, 61060, l.n.kobzyeva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3067-7971>
О.Є. Важенина – Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України, пр. Героїв Харкова, 142, Харків, Україна, 61060, vajeninaolga29@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9471-5987>
В.П. Коломацька – Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України, пр. Героїв Харкова, 142, Харків, Україна, 61060, valeriya.kolom@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5408-4244>
С.Г. Понуренко – Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України, пр. Героїв Харкова, 142, Харків, Україна, 61060, serhii_ponurenko@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0003-0397-636X>
Н.К. Ільченко – Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Національної академії аграрних наук України, пр. Героїв Харкова, 142, Харків, Україна, 61060, masovianalizu@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1080-1373>

Подано до редакції: 03.10.2022 / Прорецензовано: 07.10.2022 / Прийнято до друку: 03.11.2022

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ
журналу «Вісник Харківського національного
університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Біологія»

У журналі публікуються результати досліджень за всіма напрямками біологічних наук. До публікації приймаються:

- закінчені оригінальні роботи, що досі ніде не видавалися;
- описи оригінальних методів та приладів;
- теоретичні та оглядові статті;
- матеріали та повідомлення про події наукового життя;
- рецензії на книги.

Статті друкуються українською та англійською мовами.

Текст експериментальної статті має складатися з наступних розділів: «Вступ», «Методика» («Об'єкти та методи дослідження»), «Результати», «Обговорення» (можливий об'єднаний розділ «Результати та обговорення»), «Перелік посилань». Тексти статей повинні бути виконані у редакторі Ms Word з використанням шрифту Arial – 10 pt; абзац – 1 см; міжрядковий інтервал – одинарний; поля: верхнє та нижнє – 3,5 см; ліве – 2,5 см, праве – 2 см. Текст статті починається з індексу УДК, далі зазначається, мовою оригіналу, назва статті (Arial – 12 pt), ініціали та прізвища авторів (Arial – 10 pt), анотація (Arial – 9 pt), список ключових слів (Arial – 9 pt). Далі наводиться англійською мовою (якщо стаття написана українською): назва статті (Arial – 12 pt), прізвища та ініціали авторів (Arial – 10 pt), анотація (Arial – 9 pt), список ключових слів (Arial – 9 pt). Обсяг кожної анотації – не менш ніж 1800 фонетичних символів. Таблиці і рисунки розміщуються у тексті. Назви таблиць і рисунків та примітки до них подаються українською та англійською мовами. Посилання на літературу у тексті подаються у круглих дужках із вказуванням прізвища автора та року видання. Список використаних джерел оформлюється за алфавітом (спочатку – джерела кирилицею, потім – латиницею), без нумерації.

Бібліографічний опис джерел та посилань у тексті виконується відповідно до вимог МОН України, зокрема – ДСТУ 8302:2015, але у варіанті, наближеному до норм стилю APA (American Psychological Association). При описі друкованого джерела обов'язково слід зазначити місце видання (місто), видавництво, рік видання, загальну кількість сторінок (у періодичних виданнях – сторінки статті). Бібліографічний опис джерел англійською мовою (References) оформлюється відповідно до норм стилю APA (American Psychological Association). Джерела після слова «References» розташовуються за англійським алфавітом, без нумерації. До посилань обов'язково треба додавати DOI, якщо він присвоєний.

Електронні версії статей надсилаються до редакції електронною поштою. Разом з електронною версією до редакції надсилається друкована копія, підписана авторами. На окремій сторінці вказують прізвища та ініціали усіх авторів, повні назви наукових установ та поштові адреси установ, адреси електронної пошти авторів та посилання на їх профілі у мережі ORCID. Ця інформація наводиться українською та англійською мовами.

Стаття, яка надходить до редакції, реєструється та передається рецензентам, які рекомендують статтю до публікації або відхиляють її. При наявності зауважень статтю повертають авторам для доопрацювання.

Наукове видання

**Вісник Харківського національного
університету імені В. Н. Каразіна.**

Серія «Біологія»

Випуск 39

Збірник наукових праць

Українською, англійською мовами

Підписано до друку 26.12.2022. Формат 60×84 1/8. Папір офсетний. Друк ризографічний.

Ум. друк. арк. 3,8. Обл.-вид. арк. 4,4.

Наклад 100 пр. Зам. №

61022, Харків, майдан Свободи, 4,
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна.

Видавець і виготовлювач

ХНУ імені В. Н. Каразіна

61022, Харків, майдан Свободи, 4.

Видавництво

Тел. +38/057/705–24–32

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 3367 від 13.01.09