

СЛІЩУК Г. І. 
ВОЛКОВА Н. Е. 

Інститут кліматично орієнтованого сільського господарства НААН,
Україна, 67667, Одеська обл., Одеський р-н, смт Хлібодарське, вул. Маяцька дорога, 24
✉ heorhii.slisichuk@icsanaas.com.ua

ДИФЕРЕНЦІЙНА ЕКСПРЕСІЯ ХЛОРОПЛАСТНОГО РЕГУЛЯТОРНОГО БІЛКА ХЛОРИДНОЇ ПРОВІДНОСТІ *ICLN* ТА ХЛОРОПЛАСТНОГО ПОТЕНЦІАЛЗАЛЕЖНОГО ХЛОРИДНОГО КАНАЛУ 1, НУТУ (*CICER ARIETINUM* L.) В УМОВАХ ІМІТОВАНОЇ ПОСУХИ

Мета. Вивчення впливу генів, що асоційовано із транспортом хлорид-іонів, на посухотолерантність нуту. **Методи.** Для дослідження диференційної експресії генів у двох генотипів нуту Desi P1598080 (чутливий до посухи) та Kabuli Flip07 318C (стійкий до посухи), було проаналізовано 12 транскриптомів. Експерименти проводили у контрольних і стресових імітованої посухи. Вирівнювання виконано за допомогою інструменту Bowtie2. Для оцінки впливу чинників «генотип» та «умови» на рівень експресії виконано двофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) з використанням мови програмування R. Значущість різниць визначалася за рівнем $p < 0,05$. **Результати.** За геном *ICLN* показано чіткий та статистично значущий вплив фактору «генотип» у реакції на посуху, у той час як за геном, що кодує хлоропластний потенціалзалежний хлоридний канал 1 не виявлено статистично значущих відмінностей. **Висновки.** Встановлено, що ген *ICLN* є залученим у реакцію рослини на посуху і є перспективною мішенню як для визначення механізмів стійкості до посухи, так і для створення молекулярних маркерів для селекції на підвищення посухотолерантності.

Ключові слова: нут, посухотолерантність, транскриптоміка, хлориди.

Нут (*Cicer arietinum* L.) має великий потенціал для України в умовах змін клімату, завдяки великому природньому рівню посухотолерантності через високу ксерофітність, зручну і просту агротехніку. Через аридизацію клімату півдня України площі посівів ростуть, що може привести до переходу нуту із категорії нішевих

культур до стратегічних (Sichkar, 2021). Окрім цього, нут, завдяки азот-фіксуючим симбіотним мікроорганізмам, здійснює підвищення родючості ґрунтів і сприяє їхньому відновленню. Крім того, включення нуту до сівозміни покращує фітосанітарний стан ґрунтів (Dolia and Kovalska, 2021).

Посухостійкість нуту є складною кількісною ознакою, що охоплює архітектуру кореневої системи, осмотичну адаптацію, антиоксидантний захист і гормональну сигналізацію та контролюється численними локусами з малим до значного ефекту. Нещодавні дослідження з картування QTL, GWAS і мультиоміки знайшли перспективні маркери на кількох «гарячих точках» геному і генах-кандидатах, які тепер впроваджуються у селекційні програми (Slisichuk and Volkova, 2025).

Зараз активно вивчається роль хлорид-аніону (Cl^-) у посухотолерантності. Так, у тютюну та ксерофіта *Pugionium cornutum* (L.) Gaertn, іони Cl^- накопичуються у вакуолях як основний неорганічний осмотик, збільшуючи розмір клітин листка, посилюючи осмотичну адаптацію і підтримуючи тургор за умов водного дефіциту чи осмотичного стресу (Franco-Navarro et al., 2021, Cui et al., 2020). Тонопласт-локалізований хлоридний канал 1 (*OsCLC1*) у рису підвищує посухостійкість і врожайність зерна; коренеспецифічна надекспресія посилює стійкість до посухи, тоді як нокаут знижує її (Um et al., 2018). Транспорт і компартментація хлориду інтегровані у ширші механізми відповіді на посуху – регуляцію продихів, контроль активних форм кисню та іонний гомеостаз (Silva-Herrera et al., 2025).



© 2026 Сліщук Г. І., Волкова Н. Е. This work is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Саме тому метою роботи було дослідити роль генів, що асоційовано із транспортом хлорид-іонів у посухотолерантності нуту за допомогою дослідження їх диференційної експресії.

Матеріали і методи

Для визначення диференційної експресії генів в умовах осмотичного стресу (імітованої посухи) і контрольних умов використано дванадцять транскриптомів, які представлені у таблиці 1. Об'єкти дослідження включали два генотипи нуту: Desi PI598080, який є нестійкий до посухи і Kabuli Flip07 318C, що стійкий (Negussu et al., 2023). Обидва генотипи проаналізовані в однакових експериментальних повтореннях, щоб порівняти рівень транскрипції генів без будь-якої обробки (контрольні умови) і під впливом умов імітованої посухи.

мРНК XM_004506301.4 Chloride conductance regulatory protein ICln voltage-dependent chloride channel 1, chloroplastic та XM_073363957.1 *C. arietinum* voltage-dependent chloride channel 1, chloroplastic використовувались як мішені для аналізу диференційної експресії, тоді як NM_001365163.1 *C. arietinum* elongation factor 1-alpha (EF1A) слугував референтним геном для нормалізації підрахунків. Побудову індексів мРНК, а також вирівнювання

і підрахунок прочитів транскриптому проводили з використанням програмного забезпечення Bowtie2 (Langmead and Salzberg, 2012).

Для оцінки статистичної відмінності рівнів експресії мРНК двох вибраних мішеней в умовах різних генотипів та експериментальних умов виконано двофакторний дисперсійний аналіз ANOVA з використанням R (версія 4.3.1) (R Core Team...). Основні ефекти, пов'язані з генотипом та умовами, а також їхня взаємодія були перевірені на наявність статистично значущих відмінностей. Нульова гіпотеза відхилялась, якщо значення $p < 0,05$. ANOVA проведено за допомогою пакету stats, для пост-хок аналізу використано пакет TukeyHSD.

Результати та обговорення

Аналіз гена хлоропластного регуляторного білка хлоридної провідності *ICLN* показав, що фактор «генотип» мав статистично значущий вплив на досліджуваний показник ($F(1,8) = 5,346$; $p = 0,0495$). Натомість фактор «умови вирощування» не мав достовірного впливу ($F(1,8) = 0,078$; $p = 0,7869$). Взаємодія між генотипом та умовами також не була статистично значущою ($F(1,8) = 0,788$; $p = 0,4005$) (табл. 2, рис. 1, 2).

Таблиця 1. Транскриптоми нуту, що були використані для проведення дослідження

Транскриптом ID	Генотип	Умови
ERR11526165	Desi PI598080	Контроль
ERR11526166	Desi PI598080	Контроль
ERR11526167	Desi PI598080	Контроль
ERR11526168	Desi PI598080	Посуха
ERR11526169	Desi PI598080	Посуха
ERR11526170	Desi PI598080	Посуха
ERR11526171	Kabuli Flip07 318C	Контроль
ERR11526172	Kabuli Flip07 318C	Контроль
ERR11526173	Kabuli Flip07 318C	Контроль
ERR11526174	Kabuli Flip07 318C	Посуха
ERR11526175	Kabuli Flip07 318C	Посуха
ERR11526176	Kabuli Flip07 318C	Посуха

Таблиця 2. Результати ANOVA для гена *ICLN*

Фактор	F-статистичний критерій	Значення p	Рівень значущості
Генотип	5,346	0,0495	Значущий
Умови	0,078	0,7869	Незначущий
Взаємодія	0,788	0,4005	Незначущий

Пост-хок аналіз за критерієм Tukey HSD показав, що між генотипами Kabuli та Desi виявлено статистично значущу різницю ($p = 0,0495$), причому середнє значення у генотипу Kabuli було нижчим порівняно з Desi (різниця = -0.1328). Інші парні порівняння не продемонстрували статистично значущих відмінностей, взаємодію факторів також не відмічено (рис. 2).

Аналіз хлоропластного потенціалзалежного хлоридного каналу 1, показав, що фактор «генотип» мав статистично значущий вплив на

досліджуваний показник на рівні тренду ($F(1,8) = 1,236$; $p = 0,299$). Також фактор «умови вирощування» продемонстрував вплив на рівні тренду ($F(1,8) = 1,108$; $p = 0,323$). Взаємодія між генотипом та умовами була статистично незначущою ($F(1,8) = 0,112$; $p = 0,746$) (табл. 3, рис. 3).

Пост-хок аналіз за критерієм Tukey HSD не виявив статистично значущих відмінностей між жодними парами порівнянь ($p > 0,05$), взаємодію не продемонстровано (рис. 4).

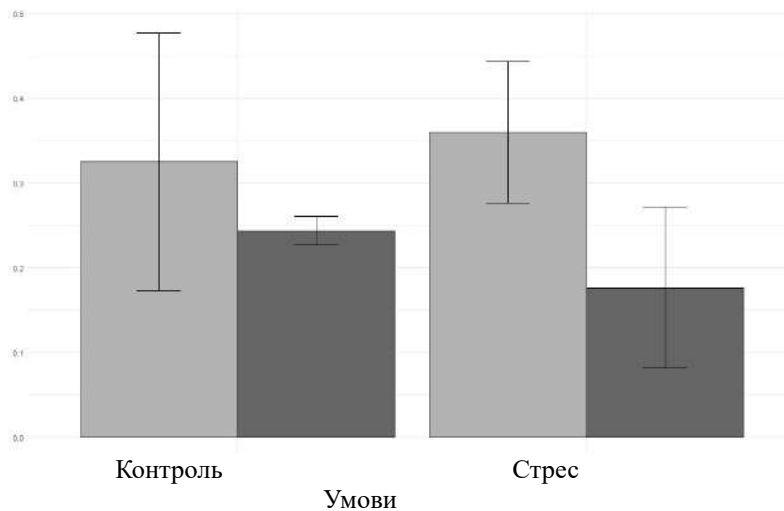


Рис. 1 Порівняння диференційної експресії гена *ICLN* з відображенням довірчих інтервалів світло-сірий колір – генотип Desi PI598080, темно-сірий – генотип Kabuli Flip07 318C.

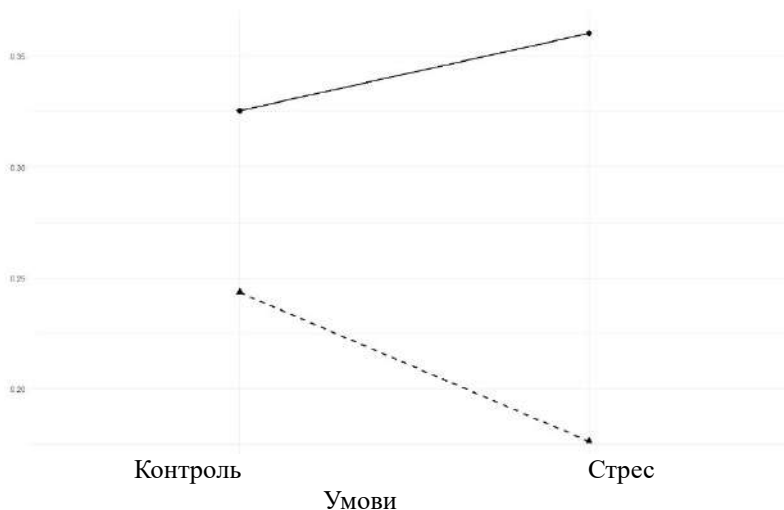


Рис. 2. Графік взаємодії факторів «умови вирощування – генотип» для гена *ICLN*. Кружечки – генотип Desi PI598080, трикутники – генотип Kabuli Flip07 318C.

Таблиця 3. Результати ANOVA для гена хлоропластного потенціалзалежного хлоридного каналу 1

Фактор	F-статистичний критерій	Значення p	Рівень значущості
Генотип	1,236	0,299	На рівні тренду
Умови	1,108	0,323	На рівні тренду
Взаємодія	0,112	0,746	Незначущий

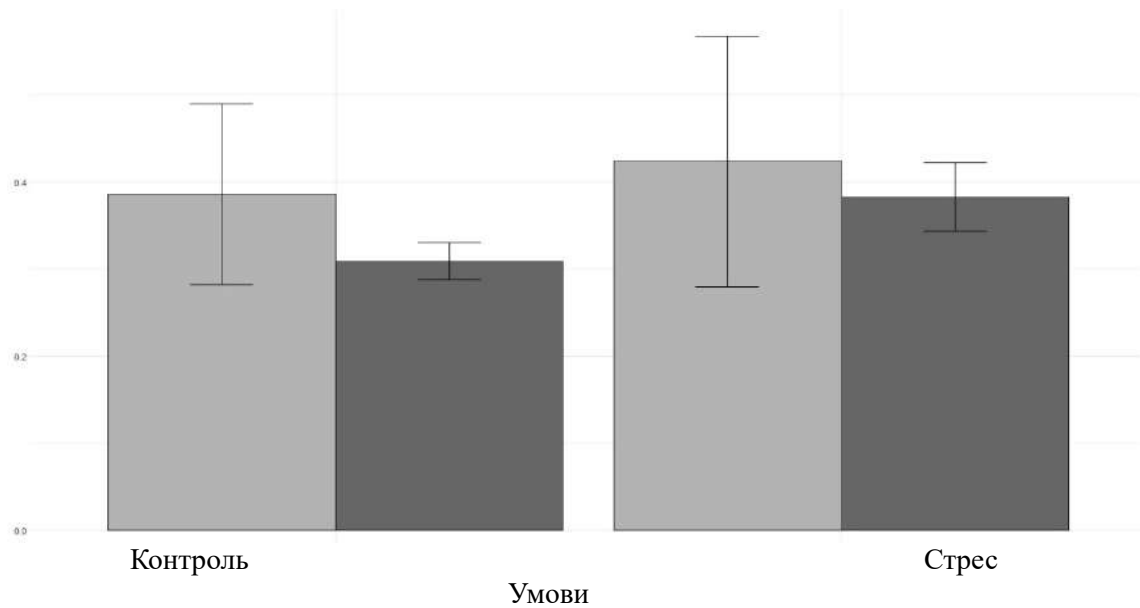


Рис. 3 Порівняння диференційної експресії гена хлоропластного потенціалзалежного хлоридного каналу 1 з відображенням довірчих інтервалів світло-сірий колір – генотип Desi PI598080, темно-сірий – генотип Kabuli Flip07 318C.

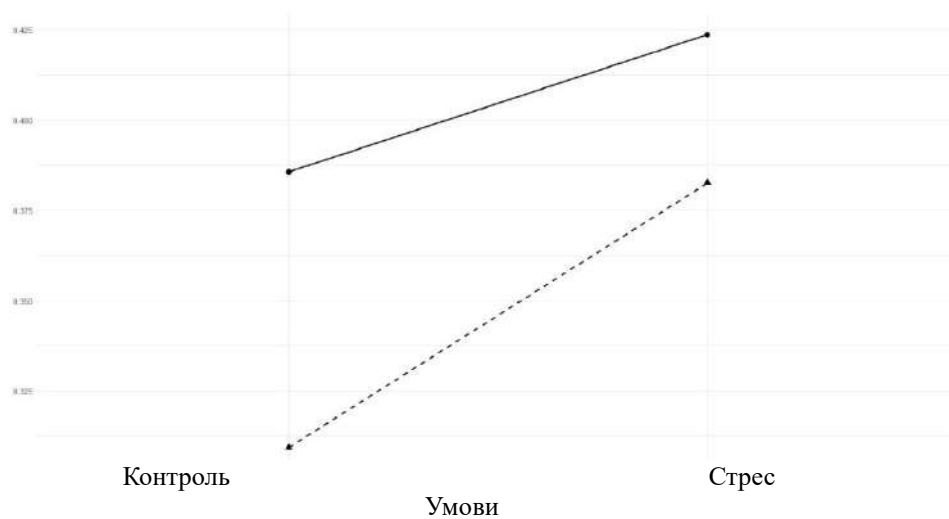


Рис. 4. Графік взаємодії факторів «умови вирощування – генотип» для гена хлоропластного потенціалзалежного хлоридного каналу 1. Кругечки – генотип Desi PI598080, трикутники – генотип Kabuli Flip07 318C.

Отримані результати свідчать про те, що експресія гена хлоропластного регуляторного білка хлоридної провідності *ICLN* є генотип-специфічною ознакою. Статистично значущий вплив фактора «генотип» і відсутність ефекту умов вирощування вказують на те, що відмінності між Kabuli Flip07 318C і Desi PI598080 зумовлені передусім, їхніми внутрішніми генетичними особливостями, а не реакцією на досліджуваний стресовий чинник. Нижчий рівень показника у генотипу Kabuli Flip07 318C порівняно з Desi PI598080 може свідчити про відмін-

ності у механізмах регуляції хлоридного транспорту у хлоропластах, що потенційно впливає на іонний гомеостаз і функціонування фотосинтетичного апарату. Відсутність статистично значущої взаємодії між генотипом і умовами вирощування дозволяє припустити, що характер генотипових відмінностей зберігається незалежно від зміни середовища.

Натомість для гена хлоропластного потенціалзалежного хлоридного каналу 1 не встановлено достовірного впливу жодного з досліджуваних факторів, а також їхньої взаємодії. Це

може свідчити про більш консервативний характер його експресії або про те, що регуляція цього каналу відбувається на інших рівнях (посттранскрипційному чи посттрансляційному), які не відображаються у вимірюваному показнику. Відсутність статистично значущих відмінностей за результатами Tukey HSD підтверджує стабільність експресії даного гена між генотипами та умовами вирощування. Таким чином, на відміну від *ICLN*, потенціалзалежний хлоридний канал 1, ймовірно, не є ключовим маркером генотип-специфічної відповіді у межах проведеного експерименту, хоча подальші дослідження з більшим обсягом вибірки могли б уточнити ці висновки.

Висновки

Ген *ICLN* демонструє конститутивну генотип-залежну експресію, стійкий генотип має нижчий рівень експресії як в умовах контролю, так і під час реакції на посуху, тоді як нестійкий генотип демонструє підвищений рівень його експресії. Реакція на умови у генотипів різна: нестійкий генотип демонструє стабільно високий рівень експресії, а стійкий показує незначне зменшення рівня його експресії. Ймовірно, різ-

ниця закладена на рівні регуляції між генотипами.

Ген хлоропластного потенціалзалежного хлоридного каналу 1, на відміну від гену *ICLN*, демонструє стабільну експресію, яка майже не реагує на досліджуваний стрес і не відрізняється між генотипами, показуючи різницю лише на рівні трендів.

Для комбінації факторів «генотип» та «умови» не було отримано достовірної ($p < 0,05$) залежності від взаємодії двох факторів одночасно для обох генів.

Ген *ICLN*, як ген що показав статистично значущу залежність експресії від генотипу має високий потенціал як маркер стійкості до посухи. Водночас ген хлоропластного потенціалзалежного хлоридного каналу 1 не показав залежності ані від генотипу, ані від умов, що означає, що він не залучений у реакції рослини на посуху та не є перспективним для подальшого дослідження у селекції нуту на посухотолерантність.

Інформація про фінансову підтримку, подяки: відсутня.

Конфлікт інтересів: автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Список використаних джерел

1. Cui Y., Li X., Yuan J., Wang F., Guo H., Xia Z., Wang S. Q. Chloride is beneficial for growth of the xerophyte *Pugionium cornutum* by enhancing osmotic adjustment capacity under salt and drought stresses. *Journal of Experimental Botany*. 2020. Vol. 71. P. 4215–4231. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa158>.
2. Dolia M., Kovalska A. Specific composition of chickpea pests in the Forest-Steppe of Ukraine. *Agricultural and Biological Sciences*. 2021. Vol. 1. P. 3–8. <https://doi.org/10.21303/2504-5695.2021.001631>.
3. Franco-Navarro J., Díaz-Rueda P., Rivero-Núñez C., Brumós J., Rubio-Casal A., De Cires A., Colmenero-Flores J., Rosales M. Chloride nutrition improves drought resistance by enhancing water deficit avoidance and tolerance mechanisms. *Journal of Experimental Botany*. 2021. Vol. 72. P. 5246–5261. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab143>.
4. Langmead B., Salzberg S. L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*. 2012. Vol. 9 (4). P. 357–359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>.
5. Negussu M., Karalija E., Vergata C., Buti M., Subašić M., Pollastri S., Loreto F., Martinelli F. Drought tolerance mechanisms in chickpea (*Cicer arietinum* L.) investigated by physiological and transcriptomic analysis. *Environmental and Experimental Botany*. 2023. Vol. 215. P. 105488. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105488>.
6. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Retrieved from: <https://www.R-project.org>.
7. Sichkar V. Strategic directions of increase of bean production in Ukraine. *Plant Breeding and Seed Production*. 2021. Vol. 119. P. 70–83. <https://doi.org/10.30835/2413-7510.2021.237011>.
8. Silva-Herrera H., Wege S., Franzisky B., Ahmad N., Roelfsema M., Geilfus C. Chloride transport and homeostasis in plants. *Quantitative Plant Biology*. 2025. Vol. 6. <https://doi.org/10.1017/qpb.2025.10008>.
9. Slisichuk H., Volkova N. Molecular mechanisms of chickpea responses to drought stress (minireview). *Biopolymers and Cell*. 2025. Vol. 41 (1). P. 13–22. <https://doi.org/10.7124/bc.000B0C>.
10. Um T., Lee S., Kim J., Jang G., Choi Y. CHLORIDE CHANNEL 1 promotes drought tolerance in rice, leading to increased grain yield. *Plant Biotechnology Reports*. 2018. Vol. 12. P. 283–293. <https://doi.org/10.1007/s11816-018-0492-9>.

SLISHCHUK H. I., VOLKOVA N. E.

*Institute of Climate-Smart Agriculture NAAS Ukraine,
Ukraine, 67667, Odesa reg., Khibodarske, Maiakhska doroha str., 24*

DIFFERENTIAL EXPRESSION OF THE CHLOROPLAST CHLORIDE CONDUCTANCE REGULATORY PROTEIN *ICLN* AND CHLOROPLAST VOLTAGE-DEPENDENT CHLORIDE CHANNEL 1 IN CHICKPEA (*CICER ARIETINUM* L.) UNDER SIMULATED DROUGHT CONDITIONS

Aim. To investigate influence of chloride ions transport on drought tolerance in chickpea. **Methods.** To analyze differential gene expression in two chickpea genotypes – Desi PI598080 (drought-sensitive) and Kabuli Flip07 318C (drought-tolerant) – 12 transcriptomes were examined. Experiments were conducted under control and simulated drought stress conditions. Sequence alignment was performed using Bowtie2. A two-way analysis of variance (ANOVA) was applied using the R programming language to assess the effects of the factors “genotype” and “conditions” on gene expression levels. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. **Results.** The *ICLN* gene demonstrated a clear and statistically significant effect of the “genotype” factor in response to drought, whereas chloroplast voltage-dependent chloride channel 1 showed no statistically significant differences. **Conclusions.** The *ICLN* gene was found to be involved in the plant drought response and represents a promising target both for elucidating the molecular mechanisms underlying drought tolerance and for the development of molecular markers to improve drought tolerance in breeding programs.

Keywords: chickpea, drought tolerance, transcriptomics, chloride ions.

Надходження статті: 26 лютого 2026 р.

Прийняття до друку після рецензування: 6 квітня 2026 р.

Публікація: 30 червня 2026 р.