УДК 577.21:575.22:581.6 https://doi.org/10.21498/2518-1017.21.2.2025.333450

Мікросателітний аналіз генотипів нуту звичайного (*Cicer arietinum* L.)

Н. Е. Волкова[1,2,3*], Г. І. Сліщук[1,2,3], Т. Ю. Марченко[2,3], Р. А. Вожегова[2]

[1]ТОВ «КОТЕКНА УКРАЇНА ЛІМІТЕД», вул. Люстдорфська дорога, 140-А, м. Одеса, 65114, Україна,
**e-mail: natalia.volkova@cotecna.com*
[2]Інститут кліматично орієнтованого сільського господарства НААН України, вул. Маяцька дорога, 24, смт Хлібодарське, Одеський р-н, Одеська обл., 67667, Україна
[3]Одеська державна сільськогосподарська дослідна станція Інституту кліматично орієнтованого сільського господарства НААН України, вул. Маяцька дорога, 24, смт Хлібодарське, Одеський р-н, Одеська обл., 67667, Україна

Мета. Виявити поліморфізм генотипів нуту за мікросателітними локусами QTL-hotspot-регіону групи зчеплення 4, пов'язаного з толерантністю до посухи. **Методи.** Екстрагування та очищення ДНК із проростків ЦТАБ-методом; полімеразна ланцюгова реакція; горизонтальний гель-електрофорез; визначення розмірів продуктів ампліфікації за допомогою додатка «GelAnalyzer»; кластерний аналіз із використанням програми «MEGA12». **Результати.** У 26 проаналізованих зразків із колекції Міжнародного науково-дослідного інституту сільськогосподарських культур у напівзасушливих тропіках (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, ICRISAT) установлено наявність від одного до восьми алелів мікросателітних (МС) локусів ICCM0249, NCPGR127, TAA170, NCPGR21, TA130, STMS11 QTL-hotspot-регіону групи зчеплення 4 геному нуту. Розподіл ідентифікованих алелів було порівняно з таким у вибірках *Cicer arietinum* L. різних центрів селекції, зокрема й українського. Для 26 зразків ICRISAT і семи виведених в Україні сортів розраховано генетичні дистанції та побудовано дендрограму, на якій їх згруповано у сім кластерів. Сорти вітчизняної селекції сформували окремий кластер. **Висновки.** Досліджені зразки нуту колекції ICRISAT є поліморфними за МС локусами ICCM0249, TAA170 і TAA130 з трьома, п'ятьма та вісьмома алелями відповідно й неполіморфними за STMS11, NCPGR127 та NCPGR21. Цей розподіл поліморфних і неполіморфних алелів збігається з таким у вибірці сортів нуту української селекції. Останні за результатами кластерного аналізу сформували окрему групу, що може свідчити про різне походження генетичного матеріалу та відмітні напрями селекційного процесу, як порівняти зі зразками колекції ICRISAT.

Ключові слова: *нут; толерантність до посухи; поліморфізм; мікросателітні локуси; ПЛР.*

Вступ

Зміни клімату, а саме: зменшення кількості опадів, підвищення температурного фону та зростання частоти екстремальних погодних явищ, серйозно впливають на аграрну сферу, оскільки порушують стабільність вирощування сільськогосподарських культур, ставлять під загрозу продовольчу безпеку та знижують ефективність виробництва.

Вологозабезпеченість і температурний режим – це основні чинники, від яких залежить урожайність сільськогосподарських культур, зокрема й нуту. До зниження її рівня та втрат урожаїв за збирання призводять часті атмосферні та ґрунтові посухи й тривалі періоди аномальної спеки, характерні для сучасного клімату. Найбільш відчутною ця проблема є у стратегічно важливих аграрних регіонах світу.

Нут (*Cicer arietinum* L.) – перспективна бобова культура, що набуває все більшого значення в умовах глобальних кліматичних змін завдяки своїй здатності формувати високу та

Nataliia Volkova
http://orcid.org/0000-0002-9333-4872
Heorhii Slishchuk
http://orcid.org/0000-0003-4245-8557
Tetiana Marchenko
https://orcid.org/0000-0001-6994-3443
Raisa Vozhehova
https://orcid.org/0000-0002-3895-5633

© The Author(s) 2025. Published by Ukrainian Institute for Plant Variety Examination.
This is an open access article distributed under the terms of the license CC BY-SA 4.0 (https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/), which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

стабільну врожайність навіть за недостатнього зволоження. Утім, попри стійкість проти посухи та спеки, для нуту можливе втрачання понад 30% урожаю через ці погодні явища залежно від фаз росту й розвитку, на які вони припадають. Зокрема, зменшуються загальна біомаса та чисельність бобів, кількість, маса та якість насіння [1]. Ефективна адаптація потребує поєднання технологічних новацій, удосконалення сільськогосподарських практик і проведення проактивних політичних заходів для забезпечення сталого продовольчого виробництва за постійних змін клімату.

Фізіологічні та біохімічні реакції нуту на посуху є різноманітними. Так, підвищується рівень проліну, цукрів, гліцину, бетаїну та активність антиоксидантних ензимів, що допомагає послабити наслідки стресу [2, 3]. Стійкість проти посухи забезпечується кількома генетичними механізмами. А саме: генами, залученими в регуляцію ауксину, генами з «цинковими пальцями» (*англ.* zinc finger knuckle), а також тими, що кодують білки теплового шоку (*англ.* heat shock proteins, HSP) [4–8]. Молекулярні маркери, розроблені на основі аналізу поліморфізму цих генів, можуть використовуватися в селекційних програмах для створення стійких проти посухи сортів.

У групі зчеплення 4 геному нуту (CaLG04) ідентифіковано геномну область, що містить локуси кількох ознак, пов'язаних із толерантністю до посухи, та відповідає за 58,2% фенотипових варіацій, – QTL-hotspot-регіон [9]. Унаслідок його інтрогресії в елітні сорти нуту індійської селекції з використанням маркер-опосередкованого беккросингу (*англ.* Marker-assisted backcrossing, MABC) вдалося в умовах нестачі вологи на 16% (як порівняти з рекурентними батьківськими генотипами) збільшити врожайність насіння інтрогресованих ліній та поліпшити деякі властивості коренів (загальну довжину, її щільність, площу поверхні та об'єм) [10]. Також у цьому QTL-hotspot-регіоні встановлено наявність мікросателітних (МС) послідовностей (*англ.* Simple Sequences Repeats, SSR), за якими можна аналізувати генотипи нуту для оцінювання посухотолерантності. Зокрема, було досліджено вибірки зразків з Європи (України, Молдови, Іспанії, Італії, Угорщини, Чехії), Азії (Індії, Узбекистану), Америки (США, Канади) та Африки (Ефіопії) [11–14]. Автори цієї роботи за шістьма МС локусами вказаного регіону (ICCM0249, NCPGR127, TAA170, NCPGR21, TA130 і STMS11) проаналізували сім сортів нуту української селекції [15]. Було встановлено п'ять типів комбінацій алелів та ідентифіковано – у сорту 'Пам'ять' – унікальний для досліджуваної вибірки алель.

Мета досліджень – виявити поліморфізм генотипів нуту за мікросателітними локусами QTL-hotspot-регіону групи зчеплення 4, пов'язаного з толерантністю до посухи.

Матеріали та методика досліджень

Матеріалом для досліджень слугували 26 зразків нуту з колекції Міжнародного науково-дослідного інституту сільськогосподарських культур у напівзасушливих тропіках (*англ.* International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, ICRISAT). Екстрагування та очищення ДНК виконували з 20 семидобових етиольованих проростків ЦТАБ-методом [16]. Визначення концентрації та оцінювання якості екстрагованої ДНК здійснювали методом спектрофотометрії на спектрофлуориметрі «DeNovixDS-11 FX+» (DeNovix, США).

Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) провадили на термоциклері «QuantStudio 5 Real-Time PCR System» (Applied Biosystem, США). Температурно-часові умови МС аналізу: 1 цикл – 95 °C, 5 хв; 35 циклів – 95 °C, 30 с, 55 °C, 30 с, 72 °C, 1 хв; 1 цикл – 72 °C, 7 хв. Реакційна суміш об'ємом 25 мкл містила 1× суміш iTaq Universal Probes Supermix (BioRad, США), по 150 нМ прямого та зворотного праймерів (Metabion, Німеччина) і 50 нг досліджуваної ДНК (для контролю екстрагування – 5 мкл відповідного розчину, для безматричного контролю – 5 мкл ТЕ-буфера). Послідовності праймерів до МС локусів наведено в дослідженні [11].

Температурно-часові умови ПЛР у режимі «реального часу» (РЧ-ПЛР): 10 хв, 95 °C – перша елонгація та активація Taq-полімерази, 40 циклів 95 °C, 15 с; 60 °C, 1 хв – зчитування флуоресцентного сигналу, температурний інкремент – 1,6 °C/с. Реакційна суміш об'ємом 25 мкл містила 1× суміш iTaq Universal Probes Supermix (BioRad, США), по 150 нМ прямого та зворотного праймерів і 50 нМ зонду (Metabion, Німеччина), 50 нг досліджуваної ДНК.

Отримані фрагменти ампліфікації розділяли методом горизонтального електрофорезу у тривідсотковому агарозному гелі (Agarose Wide Range, Serva, Німеччина) в 1× трисборатному буфері (TBE buffer 10×, Serva, Німеччина) за напруженості електромагнітного поля 2 В/см протягом 4 годин. Для забарвлення гелів використовували 0,5 мкг/мл розчин етидіум броміду (Sigma-Aldrich, США). Маркерами молекулярної маси слугували pUC19/Msp1 (HpaII) (ThermoScientific, США) та 50 bp

DNA Ladder RTU (Cleaver Scientific, Велика Британія). Розміри фрагментів ампліфікації розраховували за допомогою програми «GelAnalyzer» (ліцензія не потрібна) [17].

Кожен зразок аналізували у двох повтореннях ампліфікації. Безматричний контроль та контроль екстрагування аналізували для оцінювання контамінації.

За результатами електрофоретичного розподілу фрагментів ампліфікації розраховували генетичні дистанції. У програмі «MEGA12» (ліцензія не потрібна) виконували графічну побудову дендрограми, застосовуючи методи об'єднання сусідів (*англ.* Neighbor-Joining) і максимальної композиційної правдоподібності (*англ.* Maximum Composite Likelihood) [18–20]. До кластерного аналізу було включено дані алельного розподілу МС локусів у вибірці сортів української селекції.

Результати досліджень

Щоб виключити псевдонегативні результати та одержати змогу виявляти нуль-алелі МС локусів, оцінили здатність екстрагованої ДНК до ампліфікації методом ПЛР у режимі «реального часу». Для цього застосували TaqMan-систему праймерів і зонду до гена 18S rRNA еукаріот. Було відмічено наявність ампліфікації (Ct 23–25) в усіх зразках нуту та її відсутність у контролі екстрагування й безматричному контролі. Це дало змогу використати отримані зразки ДНК для подальшого аналізу за МС локусами.

Для вивчення поліморфізму генотипів нуту аналізували МС локуси QTL-hotspot-регіону – ICCM0249, NCPGR127, TAA170, NCPGR21, TA130 і STMS11. У контролі екстрагування та безматричному контролі не виявлено ампліфікації за жодним із досліджених локусів, що свідчить про відсутність контамінації на стадіях екстрагування ДНК та ампліфікації.

У межах аналізованої вибірки сортів неполіморфними виявилися МС локуси STMS11, NCPGR127, NCPGR21 – детектовано по одному алелю кожного з них розмірами 235, 200, 150 п. н. відповідно (табл. 1). Поліморфними були ICCM0249, TAA170 і TAA130 – у них ідентифіковано три, п'ять і вісім алелів відповідно. Нуль-алель трапився лише раз, за МС локусом TAA170 в одного генотипу – зразка № 96.

Таблиця 1

Алельний склад мікросателітних локусів у досліджених генотипів нуту

Зразок	Розміри алелів мікросателітних локусів, п. н.					
	ICCM0249	TAA170	STMS11	NCPGR127	NCPGR21	TA130
40	220, 220	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 220
42	160, 160	220, 220	235, 235	200, 200	150, 150	220, 220
46	220, 220	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 220
52	220, 220	220, 220	235, 235	200, 200	150, 150	220, 235
53	220, 220	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 240
54	220, 220	220, 220	235, 235	200, 200	150, 150	220, 220
83	200, 200	280, 280	235, 235	200, 200	150, 150	210, 220
84	180, 180	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 220
85	180, 180	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 235
86	180, 180	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 235
87	160, 160	240, 240	235, 235	200, 200	150, 150	220, 225, 240
88	160, 160	240, 260	235, 235	200, 200	150, 150	210, 220, 240
89	160, 160	220, 220	235, 235	200, 200	150, 150	210, 210
90	160, 220	240, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 230
91	160, 220	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	210, 225
92	220, 220	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 220
93	220, 220	280, 280	235, 235	200, 200	150, 150	215, 230
94	220, 220	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 230
95	160, 160	260, 280	235, 235	200, 200	150, 150	210, 220
96	200, 200	null, null	235, 235	200, 200	150, 150	230, 240
97	200, 200	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 230
98	200, 200	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 230
99	200, 200	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 235
100	180, 200	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 230
101	200, 200	260, 260	235, 235	200, 200	150, 150	220, 230, 250
102	200, 200	280, 280	235, 235	200, 200	150, 150	215, 230

За результатами мікросателітного аналізу побудовано дендрограму (рис. 1). На ній утворились сім кластерів та одна гілка (зразок № 99). Окремий кластер, в який потрапив зразок № 100, сформували вітчизняні сорти. Це може свідчити про генетичну специфічність та особливості походження вихідного селекційного матеріалу нуту, з яким проводили добір та селекцію в кліматичних умовах українського Степу.

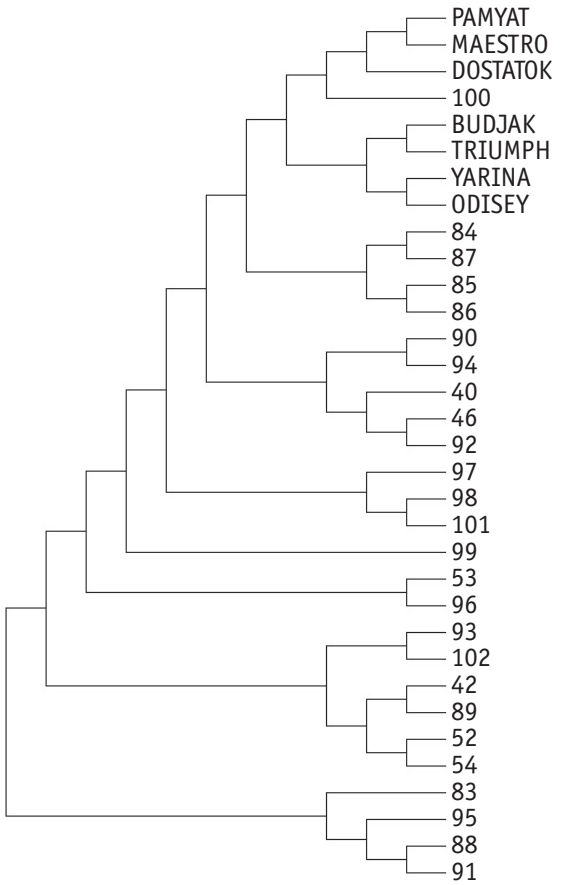

Рис. 1. Дендрограма за результатами кластерного аналізу зразків нуту за даними алельного розподілу МС локусів

Для встановлення можливої залежності кількості та розмірів виявлених алелів від певного центру селекції було проведено порівняння алельного розподілу МС локусів у різних вибірках зразків нуту [11–15] (табл. 2).

Кількість виявлених алелів зростала зі збільшенням чисельності проаналізованих генотипів, що пов'язано з розширенням генетичної мінливості. Алель 160 п. н. локусу ICCM0249, детектований у цьому дослідженні, не виявлено за аналізу інших вибірок [11, 12, 15]. Також у цій роботі, на відміну від інших [11–13, 15], зафіксовано нуль-алель в одного генотипу – для локусу TAA170. Дані щодо розміру алеля (235 п. н.) для локусу STMS11, мономорфного в цьому дослідженні, відрізнялися від наведених в інших публікаціях – як в [11], де він теж був мономорфним, так і у [12, 13], де його визначено як поліморфний. Стосовно мономорфного локусу NCPGR127, то розмір алеля (200 п. н.) збігався з таким у вибірці 33 «desi» генотипів [11], але був відсутнім у вибірці 118 генотипів [13]. Алель розміром 150 п. н. неполіморфного в цій роботі локусу NCPGR21 траплявся в усіх порівнюваних вибірках [11–15]. Щодо TA130, алелів розмірами 210 та 215 п. н. не було в жодній з інших вибірок, а 220 та 230 п. н. траплялися в [11, 15]. Алелі 230, 235, 240 та 250 п. н. могли бути присутніми у вибірці 118 генотипів [13], утім автори вказали лише діапазон виявлених розмірів: 224–289 п. н. Отже, МС локусу TA130 властивий високий рівень поліморфізму як за даними цього дослідження (унікальний алель 185 п. н., детектований у вибірці сортів української селекції, та вісім інших алелів), так і за результатами аналізу інших вибірок (наприклад, 22 алелі [13]). Алель 185 п. н. локусу TA130, ідентифікований у сорту 'Пам'ять', міг бути присутнім серед чотирьох, виявлених у вибірці 36 генотипів [12]. Але автори надали інформацію лише про кількість і діапазон ідентифікованих алелів (чотири алелі розміром 170–190 п. н.). Варто зазначити, що за порівняння розподілу алелів у вибірках сортів української селекції та колекції ICRISAT (рис. 1) різницю встановлено тільки за МС локусами ICCM0249 та TA130 – наявність алелів 200 та 185 п. н. відповідно.

Таблиця 2

Порівняння алельного складу мікросателітних локусів у генотипів нуту різних вибірок

Вибірка генотипів	Кількість та розміри алелів мікросателітних локусів, п. н.					
	ICCM0249	TAA170	STMS11	NCPGR127	NCPGR21	TA130
33 «desi» генотипів [11]	три 170, 180, 200	чотири 220, 240, 260, 280	один 220	два 200, 210	три 150, 170, 190	три 200, 220, 230
36 генотипів [12]	п'ять 280–300	три 200–220	три 195–220	–	–	чотири 170–190
118 генотипів [13]	–	13 208–276	15 192–232	12 229–262	10 132–159	22 224–289
118 зразків [14]	–	–	–	–	шість 135, 145, 150, 155, 160, 180	–
сім сортів української селекції [15]	два 180, 200	три 240, 260, 280	один 235	один 200	один 150	три 185, 220, 230
26 генотипів (це дослідження)	три 160, 180, 220	п'ять null, 220, 240, 260, 280	один 235	один 200	один 150	вісім 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 250

Можна зробити висновок, що групування в окремий кластер сортів, виведених в Україні, спричинено відмінним від зразків ICRISAT генетичним походженням (та іншими напрямами селекції), підтвердженим очікуваною у такому випадку різницею в алельному складі досліджених локусів. Маркери, розташовані в QTL-hotspot-регіоні, є перспективними для оцінювання генотипів нуту та застосування в маркер-опосередкованому доборі у процесі селекції генотипів, толерантних проти абіотичних факторів, зокрема посухи.

Висновки

26 досліджених зразків нуту колекції ICRISAT є поліморфними за МС локусами ICCM0249, TAA170 і TAA130 з трьома, п'ятьма та вісьмома алелями відповідно й неполіморфними за STMS11, NCPGR127 та NCPGR21. Цей розподіл алелів на моно- та поліморфні збігається з таким у вибірці сортів нуту української селекції. Останні за результатами кластерного аналізу сформували окрему групу, що може свідчити про різне походження генетичного матеріалу та відмітні напрями селекційного процесу, як порівняти зі зразками колекції ICRISAT.

References

1. Koloianidi, N. O. (2024). Productivity and quality of chickpea under conditions of water deficit. *Plant Physiology and Genetics*, *56*(6), 515–528. https://doi.org/10.15407/frg2024.06.515
2. Keerthi Sree, Y., Lakra, N., Manorama, K., Ahlawat, Y., Zaid, A., Elansary, H. O., Sayed, S. R. M., Rashwan, M. A., & Mahmoud, E. A. (2023). Drought-Induced Morpho-Physiological, Biochemical, Metabolite Responses and Protein Profiling of Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Agronomy*, *13*(7), Article 1814. https://doi.org/10.3390/agronomy13071814
3. Asati, R., Tripathi, M. K., Yadav, R. K., Tripathi, N., Sikarwar, R. S., & Tiwari, P. N. (2024). Investigation of Drought Stress on Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Genotypes Employing Various Physiological Enzymatic and Non-Enzymatic Biochemical Parameters. *Plants*, *13*(19), Article 2746. https://doi.org/10.3390/plants13192746
4. Li, Y., Ruperao, P., Batley, J., Edwards, D., Khan, T., Colmer, T. D., Pang, J., Siddique, K. H. M., & Sutton, T. (2018). Investigating Drought Tolerance in Chickpea Using Genome-Wide Association Mapping and Genomic Selection Based on Whole-Genome Resequencing Data. *Frontiers in Plant Science*, *9*, Article 190. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00190
5. Khassanova, G., Oshergina, I., Ten, E., Jatayev, S., Zhanbyrshina, N., Gabdola, A., Gupta, N., Schramm, C., Pupulin, A., Philp-Dutton, L., Anderson, P., Sweetman, C., Jenkins, C., Soole, K., & Shavrukov, Y. (2024). Zinc finger knuckle genes are associated with tolerance to drought and dehydration in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Frontiers in Plant Science*, *15*, Article 1354413. https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1354413
6. Singh, V., Gupta, K., Singh, S., Jain, M., & Garg, R. (2023). Unravelling the molecular mechanism underlying drought stress response in chickpea via integrated multi-omics analysis. *Frontiers in Plant Science*, *14*, Article 1156606. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1156606
7. Slishchuk, H. I., Volkova, N. E., Vozhehova, R. A., & Marchenko, T. Y. (2025). Role of heat shock proteins in drought tolerance mechanism in chickpea. *Plant Physiology and Genetics*, *57*(1), 18–26. https://doi.org/10.15407/frg2025.01.018
8. Slishchuk, H. I., & Volkova, N. E. (2025). Molecular mechanisms of chickpea responses to drought stress (minireview). *Biopolymers and Cell*, *41*(1), 13–22. https://doi.org/10.7124/bc.000b0c
9. Varshney, R. K., Thudi, M., Nayak, S. N., Gaur, P. M., Kashiwagi, J., Krishnamurthy, L., Jaganathan, D., Koppolu, J., Bohra, A., Tripathi, S., Rathore, A., Jukanti, A. K., Jayalakshmi, V., Vemula, A., Singh, S. J., Yasin, M., Sheshshayee, M. S., & Viswanatha, K. P. (2013). Genetic dissection of drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *127*(2), 445–462. https://doi.org/10.1007/s00122-013-2230-6
10. Barmukh, R., Roorkiwal, M., Dixit, G. P., Bajaj, P., Kholova, J., Smith, M. R., Chitikineni, A., Bharadwaj, C., Sreeman, S. M., Rathore, A., Tripathi, S., Yasin, M., Vijayakumar, A. G., Rao Sagurthi, S., Siddique, K. H. M., & Varshney, R. K. (2022). Characterization of 'QTL-hotspot' introgression lines reveals physiological mechanisms and candidate genes associated with drought adaptation in chickpea. *Journal of Experimental Botany*, *73*(22), 7255–7272. https://doi.org/10.1093/jxb/erac348
11. Chahande, R. V., Kulwal, P. L., Mhase, L. B., & Jadhav, A. S. (2021). Validation of the markers linked with drought tolerance related traits for use in MAS programme in chickpea. *Journal of Genetics*, *100*(2), Article 74. https://doi.org/10.1007/s12041-021-01324-z
12. Singh, D., Pushpavalli, S. N. C. V. L., Vanisri, S., & Kumar, G. A. (2021). Assessment of genetic diversity in chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.) using agro-morphological and SSR markers. *The Pharma Innovation Journal*, *10*(8), 784–791.
13. Getahun, T., Tesfaye, K., Fikre, A., Haileslassie, T., Chitikineni, A., Thudi, M., & Varshney, R. K. (2021). Molecular genetic diversity and population structure in Ethiopian chickpea germplasm accessions. *Diversity*, *13*(6), Article 247. https://doi.org/10.3390/d13060247
14. Akinina, G., & Popov, V. (2014). Genetic structure of collection of chickpea varieties by morphological and molecular markers. *Visnyk of the Lviv University. Series Biology*, *64*, 170–176. [In Ukrainian]
15. Volkova, N. E., Slishchuk, G. I., Zakharova, O. O., Marchenko, T. Yu., Sichkar, V. I., & Vozhehova, R. A. (2023). Analysis of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes by microsatellite loci of the QTL-hotspotregion associated with drought tolerance. *Plant Varieties Studying and Protection*, *19*(4), 226–231. https://doi.org/10.21498/2518-1017.19.4.2023.291223
16. Rogers, S., & Bendich, A. (1989). Extraction of DNA from plant tissues. In S. B. Gelvin, R. A. Schilperoort, & D. P. S. Verma (Eds.), *Plant Molecular Biology Manual* (pp. 73–83). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-009-0951-9_6
17. GelAnalyzer 23.1.1 (available at www.gelanalyzer.com) by Istvan Lazar Jr., PhD and Istvan Lazar Sr., PhD, CSc.
18. Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, *4*(4), 406–425. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454
19. Tamura, K., Nei, M., & Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *101*(30), 11030–11035. https://doi.org/10.1073/pnas.0404206101
20. Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis Version 12 for Adaptive and Green Computing. *Molecular Biology and Evolution*, *41*(12), Article msae263. https://doi.org/10.1093/molbev/msae263

UDC 577.21:575.22:581.6

Volkova, N. E.[1,2,3*], **Slishchuk, G. I.**[1,2,3], **Marchenko, T. Yu.**[2,3], & **Vozhehova, R. A.**[2] (2025). Microsatellite analysis of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Plant Varieties Studying and Protection, 21*(2), --- . https://doi.org/10.21498/2518-1017.21.2.2025.333450

[1]*COTECNA UKRAINE LIMITED, 140-A Lustdorfska doroha St., Odesa, 65114, Ukraine, *e-mail: natalia.volkova@cotecna.com*

[2]*Institute of Climate-Smart Agriculture of the NAAS of Ukraine, 24 Maiatska doroha St., Hlibodarske village, Odesa district, Odesa region, 67667, Ukraine*

[3]*Odesa State Agricultural Experimental Station of Institute of Climate-Smart Agriculture of the NAAS of Ukraine, 24 Maiatska doroha St., Hlibodarske village, Odesa district, Odesa region, 67667, Ukraine*

Purpose. To investigate the polymorphism of chickpea genotypes at microsatellite loci within the QTL-hotspot region of linkage group 4, associated with drought tolerance. **Methods.** DNA extraction and purification from seedlings using the CTAB method; polymerase chain reaction; horizontal gel electrophoresis; determination of amplification product sizes using the "GelAnalyzer" software; cluster analysis using the "MEGA12" software. **Results.** Of the 26 samples analyzed from the International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT) collection, one to eight alleles were identified at the following microsatellite (SSR) loci within the QTL-hotspot region of linkage group 4 in the chickpea genome: ICCM0249, NCPGR127, TAA170, NCPGR21, TA130 and STMS11. The distribution of SSR locus alleles in the samples under study was compared with that in chickpea samples from various breeding centers, including those in Ukraine. Genetic distances were calculated for the 26 ICRISAT samples and seven Ukrainian varieties. A dendrogram was constructed which grouped the samples into seven clusters; the Ukrainian chickpea varieties formed a separate cluster. **Conclusions.** The chickpea samples from the ICRISAT collection were found to be polymorphic at SSR loci ICCM0249, TAA170, and TAA130, with three, five, and eight alleles respectively, and monomorphic at three SSR loci: STMS11, NCPGR127, and NCPGR21. This distribution of polymorphic and monomorphic alleles corresponded to that observed in the Ukrainian chickpea varieties. Cluster analysis revealed that the Ukrainian varieties formed a distinct group, suggesting differences in genetic origin and breeding approaches compared to the ICRISAT collection.

Keywords: *chickpea; drought tolerance; polymorphism; microsatellite loci; PCR.*

Надійшла / Received 22.04.2025
Погоджено до друку / Accepted 13.06.2025