**The study of transcriptomes of symbiotic tissue of pea using
the third-generation sequencing technology Oxford Nanopore**
Gribchenko E.S., Afonin A.M., Kulaeva O.A., Zorin E.A., Shtark O.Yu., Zhukov V.A.
FSBSI ARRIAM, St. Petersburg, Russia
Email: gribemma@gmail.com

Key message. The transcriptome profiles the cv. Frisson mycorrhizal roots and inoculated nitrogen-fixing nodules were investigated using the Oxford Nanopore sequencing technology. A database of gene isoforms and their expression has been created.

Keywords: *Pisum sativum* L, legume-rhizobial symbiosis, arbuscular mycorrhiza, transcriptomics

Pea (*Pisum sativum* L.) is a popular pulse crop and an important model object of genetics. It is capable of forming triple symbiotic systems consisting of a plant, arbuscular mycorrhizal fungi, and nodule bacteria. With the spread of transcriptome and proteomic approaches to the study of mutualistic symbioses of peas, the need for a reference transcriptome arose. The knowledge about the sequences of genes expressed under various experimental conditions is needed to increase the resolution and accuracy of other methods. The third-generation sequencing technology from Oxford Nanopore produces sequences of entire full-length cDNA molecules, making it possible to determine the expression of genes with high accuracy and also to determine their isoforms and differential expression in tissues.

In our work, the transcriptomes of roots of plants of the Frisson variety 1) without treatment, 2) inoculated with arbuscular-mycorrhizal fungi *Rhizophagus irregularis* strain BEG144, 3) nitrogen-fixing nodules formed with the *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* strain RCAM1026. In total, more than 80,000 unique isoforms were obtained using this method, with more than 15% of them being unique for nodule transcriptomes, and 8% unique for mycorrhizal root transcriptomes. The remaining isoforms were found in all studied samples. Functional annotation showed a large number of protein-coding transcripts not previously described for *P. sativum*.

Creating a database of gene expression and their isoforms in various tissues will create a solid foundation for all further transcriptome studies of pea.

This work was supported by a grant from the RSF 17-76-30016.

**Изучение транскриптомов симбиотических тканей гороха посевного при помощи технологий секвенирования
третьего поколения Oxford Nanopore**

Грибченко Э.С., Афонин А.М., Кулаева О.А., Зорин Е.А., Штарк О.Ю., Жуков В.А.
ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. С использованием технологии секвенирования Oxford Nanopore изучен транскриптом корней гороха сорта Frisson при образовании арбускулярной микоризы и азотфиксирующих клубеньков. Создана база данных экспрессии генов и их изоформ.

Ключевые слова: Горох посевной, бобово-ризобийный симбиоз, арбускулярная микориза, транскриптомика

Горох (*Pisum sativum* L.) – широко распространенная сельскохозяйственная культура и важный модельный объект генетики. Он способен образовывать тройные симбиотические системы, состоящие из растения, грибов арбускулярной микоризы и клубеньковых бактерий. По мере распространения транскриптомных и протеомных подходов к изучению мутуалистических симбиозов гороха, для повышения разрешающей способности и точности других методов возникла необходимость в референсном транскриптоме, т.е. в знании последовательностей генов, экспрессирующихся в различных экспериментальных условиях. Использование технологий секвенирования третьего поколения Oxford Nanopore заключается в прочтении молекулы кДНК целиком, что позволяет с большой точностью определять экспрессию генов и также определять их изоформы и дифференциальную экспрессию в тканях.

В нашей работе были исследованы транскриптомы корней растений сорта Frisson при взаимодействии с арбускулярно-микоризными грибами вида *Rhizophagus irregularis* BEG144, азотфиксирующих клубеньков, образовавшихся при взаимодействии со штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* RCAM1026, и корней без обработки. Всего при помощи данного метода были получены более 80000 уникальных изоформ, при этом более 15% из них были уникальны для транскриптома клубеньков, и 8% были уникальны для транскриптома микоризованных корней. Остальные изоформы были найдены во всех исследуемых образцах. Функциональная аннотация показала большое число белок-кодирующих транскриптов, ранее не описанных для гороха посевного.

Создание базы данных экспрессии генов и их изоформ в различных тканях создаст прочный фундамент для всех дальнейших транскриптомных исследований гороха посевного.

Работа поддержана грантом РФ 17-76-30016.