Comparative analysis of nucleotide polymorphism of chromosomal and symbiotic genes in symbionts of eastern and medical goat's rue from a population of the North Caucasus

Karasev E.P., Andronov E.E., Chizevskaya E.P., Provorov N.A.

ARRIAM, St. Petersburg, Pushkin, Russia

Email: evgenii1991.karasev@gmail.com

Key message. The analysis of the nucleotide polymorphism in two goatfish rhizobia biovars showed that the diversity of all gene groups corresponds to the diversity of the host plant, and the general polymorphism of chromosomal genes is higher than the symbiotic gene polymorphism in both biovars.

Keywords: nodule bacteria, eastern goatskin, medical goatskin, *Neorhizobium galegae*, nucleotide polymorphism

Goat's rue rhizobia microsymbionts (*Neorhizobium galegae*) are very interesting and convenient model for studying evolutionary processes that occur during the initial stages of speciation. In nature, there are 2 types of goatskin: eastern goatskin (*Galega orientalis*) and medical goatskin (*Galega officinalis*). In accordance, 2 biotypes are distinguished in microsymbionts: *N. galegae* bv. *orientalis* and *N. galegae* bv. *officinalis*. We studied the population of the North Caucasus, which is the center of the eastern goat's rue, while the second species began to populate this region relatively recently. Accordingly, the genetic diversity of the first goat's rue species is significantly higher than the second one. In this work, a comparative analysis of the nucleotide polymorphism of rhizobia, symbionts of each species of goat's rue was undertaken. For this purpose, genome sequencing of 14 strains of *N. galegae* (6 *orientalis* and 8 *officinalis*) and a comparative analysis were performed.

It was shown that nucleotide polymorphism in goat's rue rhizobia in the Caucasus clearly correlates with the genetic diversity of the host plant: a more diverse macrosymbiont (*G. orientalis*) corresponds to a more diverse microsymbiont (*N. galegae* bv. *orientalis*). The second feature, revealed during the comparative analysis, is related to the comparison of the nucleotide polymorphism of chromosomal and symbiotic genes in each of the rhizobia biovars: the polymorphism of *sym*-genes is much lower than the "non-symbiotic" genes, which may be the result of stabilizing selection according to the signs of symbiosis associated with intensive reproduction of bacteria in nodules. Divergence bv. *orientalis* and bv. *officinalis* is more pronounced for *nif* / *fix* genes than for *nod* genes and "non-symbiotic" genes, indicating the key role of host-specific N₂ fixation in the evolution of *N. galegae*.

In general, the analysis indicates that the host plant seems to be one of the main factors in the rhizobia's evolution.

Сравнительный анализ нуклеотидного полиморфизма хромосомных и симбиотических генов у симбионтов козлятника восточного и лекарственного из популяции Северного Кавказа.

Карасев Е.С., Андронов Е.Е., Чижевская Е.П., Проворов Н.А.

ВНИИСХМ, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

Аннотация: Анализ нуклеотидного полиморфизма генов у двух биоваров ризобий козлятника показал, что разнообразие во всех группах генов соответствует разнообразию растения-хозяина, а общий полиморфизм хромосомных генов выше, чем симбиотических в обоих биоварах.

Ключевые слова: клубеньковые бактерии, козлятник восточный, козлятник лекарственный, *Neorhizobium galegae*, нуклеотидный полиморфизм

Ризобии-микросимбионты козлятника (*Neorhizobium galegae*) являются очень интересной и удобной моделью для изучения эволюционных процессов, происходящих при начальных этапах видообразования. В природе встречается 2 вида козлятника: козлятник восточный (*Galega orientalis*) и козлятник лекарственный (*Galega officinalis*). В соответствии с этим у микросимбионтов выделяется 2 биотипа: *N. galegae* bv. *orientalis* и *N. galegae* bv. *officinalis*. Мы исследовали популяцию Северного Кавказа, являющегося генцентром козлятника восточного, в то время как второй вид начал заселение этого региона относительно недавно. Соответственно, генетическое разнообразие первого вида козлятника существенно выше, чем второго. В настоящей работе был предпринят сравнительный анализ нуклеотидного полиморфизма ризобий, симбионтов каждого из видов козлятника. С этой целью было выполнено полногеномное секвенирование 14 штаммов *N. galegae* (6 *orientalis* и 8 *officinalis*) и проведен сравнительный анализ.

Было показано, что нуклеотидный полиморфизм у ризобий козлятника на Кавказе четко коррелирует с генетическим разнообразием растения-хозяина: более разнообразному макросимбионту (*G. orientalis*) соответствует более разнообразный микросимбионт (*N. galegae* bv. *orientalis*). Вторая особенность, выявленная в ходе сравнительного анализа, связана с сопоставлением нуклеотидного полиморфизма хромосомных и симбиотических генов у каждого из биоваров ризобий: полиморфизм *sym*-генов гораздо ниже, чем "несимбиотических" генов, что может быть результатом стабилизирующего отбора по признакам симбиоза, связанного с интенсивным размножением бактерий в клубеньках. Дивергенция bv. *orientalis* и bv. *officinalis* по *nif*/*fix*-генам выражена сильнее, чем по *nod*-генам и по "несимбиотическим" генам, указывая на ключевую роль хозяин-специфичной N₂-фиксации в эволюции *N. galegae*.

В целом, проведенный анализ свидетельствует о том, что растение-хозяин является одним из основных факторов эволюции ризобий.

Исследование проводилось при финансировании гранта РФФИ 19-16-00081.