The specificity of nodule symbiosis of legumes in the context of the “arms race” between macro- and microsymbionts

Sulima A.S., Afonin A.M., Maslikova T.I., Zhukov V.A.

ARRIAM; Saint-Petersburg – Pushkin, Russia

E-mail: ASulima@arriam.ru

Key message. The specificity of nodule symbiosis of garden pea at different stages was studied. The *Sym2* gene responsible for the specific recognition of microsymbiont has been identified and described. The strain-specificity of symbiosis in two *Fix*-mutants was shown.

Keywords: pea, nodule symbiosis, specificity of symbiosis, *Sym2*, ineffective nodules

The nodule symbiosis of legumes (*Fabaceae*) and nitrogen-fixing bacteria from the rhizobia group is an illustration of highly specific endosymbiosis. Using garden pea as an example, it was shown how this specificity can manifest itself at different taxonomic levels and stages of symbiosis. The study of this problem can shed light on the evolution of plant-microbial systems in the context of domestication and help in creating effective complementary pairs of symbionts for agricultural usage.

Aim: to study the manifestations of specificity in symbiosis of pea with the bacterium *Rhizobium leguminosarum* at the stages of microsymbiont penetration, persistence in host tissues, and nitrogen fixation.

Methods: BAC library screening, TILLING, NGS sequencing (by the Illumina and Oxford Nanopore technologies), as well as classical methods of molecular genetics were used.

Results: we identified and thoroughly described the *Sym2* gene responsible for the manifestation of narrow symbiotic specificity in several pea cultivars from the Middle East (the so-called “Afghan” phenotype); *Sym2* was shown to possess two independently arising alleles leading to the “Afghan” phenotype; differences in the manifestation of the “Afghan” phenotype in individual pea variances were revealed; the presence of additional factors affecting the manifestation of the “Afghan” phenotype was confirmed. While studying the interaction between the laboratory strain *Rhizobium leguminosarum* RCAM1026 and *sym25*, *sym26* pea mutants forming inefficient nodules, the strain-specificity of symbiosis was discovered; natural bacterial isolates (3BR352, 1TK341) capable of suppressing the mutant phenotype of *sym25* and *sym26* were found; the search for the genetic determinants of this trait is underway.

The work was supported by the RSF grant № 17-76-30016 and the Government contract № 0664-2020-0022.

Специфичность клубенькового симбиоза бобовых в контексте «гонки вооружений» между макро-и микросимбионтами

Сулима А.С., Афонин А.М., Масликова Т.И., Жуков В.А.

ФГБНУ ВНИИСХМ; Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. Изучена специфичность клубенькового симбиоза гороха посевного на разных стадиях. Выявлен и описан ген *Sym2*, отвечающий за специфичное распознавание микросимбионта. Показана штамм-специфичность симбиоза у двух мутантов *Fix*-.

Ключевые слова: горох посевной, клубеньковый симбиоз, специфичность симбиоза, *Sym2*, неэффективные клубеньки

Клубеньковый симбиоз бобовых растений (*Fabaceae*) и азотфиксирующих бактерий из группы ризобий служит иллюстрацией высокоспецифичного эндосимбиоза. На примере гороха посевного показано, как данная специфичность может проявляться на разных таксономических уровнях и стадиях симбиоза. Изучение данной проблемы способно пролить свет на эволюцию растительно-микробных систем в контексте одомашнивания и помочь в создании эффективных комплементарных пар симбионтов для использования в сельском хозяйстве.

Цель: изучить проявления специфичности в симбиозе гороха посевного с бактерией *Rhizobium leguminosarum* на стадиях проникновения микросимбионта, персистенции в тканях хозяина и азотфиксации.

Методы: использовались методы скрининга ВАС-библиотек, TILLING, NGS-секвенирования (по технологиям Illumina, Oxford Nanopore), а также классические методы молекулярной генетики.

Результаты: выявлен и детально описан ген *Sym2*, отвечающий за проявление узкой симбиотической специфичности у форм гороха посевного из Передней Азии (т.н. «афганского» фенотипа); показано, что *Sym2* обладает двумя независимо возникшими аллелями, приводящими к «афганскому» фенотипу; выявлены отличия в проявлении «афганского» фенотипа у отдельных форм гороха; подтверждено наличие дополнительных факторов, влияющих на проявление «афганского» фенотипа. На примере взаимодействия с лабораторным штаммом *Rhizobium leguminosarum* RCAM1026 открыта штамм-специфичность симбиоза у мутантов по генам *Sym25* и *Sym26*, образующих неэффективные клубеньки; выявлены природные изоляты (3BR352, 1TK341), способные супрессировать мутантный фенотип *sym25* и *sym26*; ведётся поиск генетических детерминант данного свойства.

Работа выполнялась при поддержке гранта РФФИ 17-76-30016 и Госзадания № 0664-2019-0022.