Regulation of development of arbuscular-mycorrhizal symbiosis by alternative splicing in garden pea (*Pisum sativum* L.)

Zorin E.A., Kulaeva O.A., Shtark O. Y., Zhukov V.A.

All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint-Petersburg, Russia

E-mail: kjokkjok8@gmail.com

Key message. 836 differentially expressed genes were detected in the roots of *P. sativum* in response to inoculation with AM fungus. 126 genes showing differential splicing were also detected.

Keywords: symbiosis, transcriptomics, alternative splicing, *P. sativum*

The process of establishing and maintaining the symbiotic relationships between the legume and the arbuscular mycorrhiza (AM) fungi or nodule bacteria involves hundreds of genes, the expression of which is regulated by various mechanisms. Among them are alternative splicing and suppression of gene expression by miRNAs. Currently, the role of these regulatory mechanisms of gene expression in symbiosis, especially those formed by pea and soil microorganisms, is studied insufficiently.

The aim of this work is to study the regulation of gene expression in the mycorrhized roots of *P. sativum* mediated by the events of alternative splicing.

In the framework of the work, transcriptomes of the roots of pea inoculated with arbuscular mycorrhiza fungus and control in three biological replicates were sequenced using Illumina technology. Then bioinformatic processing was performed.

Transcripts were reconstructed and quantified using the Cufflinks pipeline. All calculations were carried out in the R programming environment.

Statistical analysis of the quantification of reconstructed transcripts revealed 836 differentially expressed genes, among which 398 are regulated positively and 438 negatively in samples of inoculated roots compared to controls. Among them are genes having cation binding sites, hydrolase and peroxidase activity. 126 genes demonstrating differential splicing are associated with DNA metabolism and hydrolase activity. Among them, alternatively spliced transcripts with a retained intron predominate.

The reported study was funded by RFBR, project number 19-31-27001.

Регуляция развития арбускулярно-микоризного симбиоза за счет альтернативного сплайсинга у гороха посевного (*Pisum sativum* L.)

Зорин Е.А., Кулаева О.А., Штарк О.Ю., Жуков В.А.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. В корнях *P. sativum* выявлено 836 дифференциально экспрессирующихся генов в ответ на инокуляцию грибом АМ. Так же выявлено 126 генов, демонстрирующих дифференциальный сплайсинг.

Ключевые слова: симбиоз, транскриптомика, альтернативный сплайсинг, *P. sativum*.

В процесс становления и поддержания симбиотических отношений между бобовым растением и грибами арбускулярной микоризы (АМ) или клубеньковыми бактериями вовлечены сотни генов, экспрессия которых регулируется при помощи различных механизмов. Такими механизмами являются, в частности, альтернативный сплайсинг и подавление экспрессии генов за счет регуляторных микроРНК. В настоящий момент роль указанных способов регуляции экспрессии генов в симбиозах, особенно формируемых горохом посевным и почвенными микроорганизмами, изучена крайне слабо.

Целью работы является исследование регуляции экспрессии генов в микоризованных корнях растений гороха посевного, опосредованной событиями альтернативного сплайсинга.

В рамках работы были секвенированы транскриптомы корней гороха посевного, инокулированных грибом арбускулярной микоризы, и контроля в трёх биологических повторностях по технологии Illumina с последующей биоинформатической обработкой. Реконструирование транскриптов и квантификация осуществлялась с помощью пайплайна Cufflinks. Все вычисления проводились в среде программирования R.

Статистический анализ квантификации реконструированных транскриптов позволил выявить 836 дифференциально экспрессирующихся генов, среди которых 398 регулируются положительно и 438 негативно в образцах инокулированных корней в сравнении с контрольными. Среди них представлены гены, имеющие сайты связывания катионов, гидролазной и пероксидазной активностью. 126 генов, демонстрирующих дифференциальный сплайсинг связаны с метаболизмом ДНК и гидролазной активностью. Среди них преобладают альтернативно сплайсируемые транскрипты с удержанным интроном.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-31-27001