



СИМБИОТИЧЕСКИЕ ГЕНЫ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ ПУТЁМ ТРАНСКРИПТОМНОГО АНАЛИЗА

¹Зорин Е.А., ^{1,2}Жуков В.А.

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Россия, г. Санкт-Петербург, Пушкин, 196608, ш. Подбельского, 3

²Санкт-Петербургский Государственный Университет, Россия, г. Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб., 7-9

E-mail: ezorin@arriam.ru

Резюме

Бобовые растения образуют симбиозы с клубеньковыми бактериями (КБ) и грибами арбускулярной микоризы (АМ). Формирование симбиозов повышает устойчивость растений к стрессам и способствует получению стабильного урожая даже в условиях глобального изменения климата. Изучение молекулярных основ симбиозов, образуемых бобовыми, необходимо для повышения эффективности данных симбиозов при их использовании в современном сельском хозяйстве. Ранее для модельных бобовых растений при помощи мутационного анализа были изучены отдельные регуляторные гены (т.н. Sym-гены), контролирующие некоторые этапы развития симбиозов. В настоящее время технологии высокопроизводительного секвенирования позволяют исследовать полный набор генов, кодирующих «молекулярную машину симбиоза» и необходимых для обеспечения метаболической интеграции симбионтов. Среди них выделяют гены, кодирующие нодулины (от англ. nodule – клубенёк), белки специфичные для бобово-ризобияльного симбиоза (БРС), и микоризины, специфичные для арбускулярно-микоризного (АМ) симбиоза. Продукты генов, экспрессия которых индуцируется при развитии как БРС, так и АМ, получили название симбиозины. Гены, кодирующие симбиозины, нодулины и микоризины исследованы на модельных бобовых *Medicago truncatula* Gaertn., *Lotus japonicus* (Regel.) K. Larsen и *Glycine max* (L.) Merr., в то время как симбиоз-специфичные гены немодельных бобовых, а также особенности их экспрессии, изучены к настоящему моменту недостаточно. Применение подходов транскриптомики (т.е. изучение всего набора экспрессирующихся генов - транскриптома) позволяет восполнить этот пробел в знаниях. В данной работе мы суммировали результаты исследований за последние годы в области экспрессии вышеуказанных групп генов у бобовых растений.

Ключевые слова: Бобовые растения, корневые симбиозы, секвенирование следующего поколения, экспрессия генов, транскриптомика

Цитирование: Зорин Е.А., Жуков В.А. Симбиотические гены бобовых растений, выявляемые путем транскриптомного анализа // *Biomics*. 2022. Т.14(3). С. 285-294. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-26

© Авторы

SYMBIOTIC GENES OF LEGUMES DETECTED BY TRANSCRIPTOMIC ANALYSIS

¹Zorin E. A., ^{1,2}Zhukov V. A.

¹All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology,
Russia, Saint Petersburg, Pushkin, 196608, Podbelsky chausse, 3

²Saint Petersburg State University, Russia, St.Petersburg, 199034, Universitetskaya emb. 7-9

E-mail: ezorin@arriam.ru

Resume

Legumes form symbioses with nodule bacteria (NB) and arbuscular mycorrhiza fungi (AM). The formation of symbioses increases the resistance of plants to stress and contributes to obtaining a stable harvest even in conditions of global climate change. The study of the molecular basis of symbioses formed by legumes is necessary to increase the effectiveness of these symbioses when they are used in modern agriculture. Previously, individual regulatory genes (so-called Sym genes) controlling some stages of symbiosis development were studied for model legumes using mutation analysis. Currently, high throughput sequencing technologies allow us to study a complete set of genes encoding the "molecular symbiosis machine" and necessary for ensuring the metabolic integration of symbionts. Among them, there are genes encoding nodulins (from the "nodule"), proteins specific for legume-rhizobial symbiosis (LRS), and mycorrhizins specific for arbuscular-mycorrhizal (AM) symbiosis. The products of genes whose expression is induced during the development of both LRS and AMS are called symbiosins. The genes encoding symbiosins, nodulins and mycorrhizins have been studied on the model legumes *Medicago truncatula* Gaertn., *Lotus japonicus* (Regel.) K. Larsen and *Glycine max* (L.) Merr., while the symbiosis-specific genes of non-model legumes, as well as the features of their expression, have not been sufficiently studied to date. The use of transcriptomics approaches (i.e., the study of the entire set of expressed genes, the so-called transcriptome) makes it possible to fill this knowledge gap. In this paper, we have summarized the results of research of the expression of the above groups of genes in legumes in recent years.

Key words: legumes, root symbiosis, next-generation sequencing, gene expression, transcriptomics

Citation: Zorin E. A., Zhukov V. A. Symbiotic genes of legumes detected by transcriptomic analysis. *Biomics*. 2022. V.14(3). P. 285-294. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-26 (In Russian)

© Authors

Введение

Большинство представителей высших растений являются прикреплёнными организмами, которые не способны перемещаться и за счёт этого избегать действия стрессовых факторов. В ходе эволюции растения приобрели способность вступать в симбиозы с микроорганизмами для повышения своего адаптивного потенциала. Так, более 80% наземных растений образуют арбускулярную микоризу – симбиоз с грибами, облегчающий поступление воды и труднорастворимых фосфатов в корни растений [Parniske, 2008]. Растения семейства Бобовые способны также вступать в симбиоз с клубеньковыми бактериями, фиксирующими атмосферный азот [Sprenst, 2001]. Благодаря этой способности бобовые растения являются необходимым компонентом природных и сельскохозяйственных экосистем [Tikhonovich, Provorov, 2003].

Изучение генетической системы, контролирующей развитие бобово-ризобияльного симбиоза со стороны растения, началось с исследований спонтанных, а затем и индуцированных мутантов. Гены растений, выявляемые в ходе экспериментального мутагенеза и последующего генетического анализа (т.н. «прямой генетики»), получили название Sym-генов (от англ. symbiosis) [Tikhonovich, Provorov, 2003]. Детальное описание фенотипа мутантов бобовых по sym-генам привело к пониманию того, что многие из генов, необходимых

для развития бобово-ризобияльного симбиоза (БРС), также контролируют развитие арбускулярной микоризы (АМ) – более древнего симбиоза [Parniske, 2008].

Вместе с тем, совершенствование методов молекулярной биологии сделало возможным изучение системы симбиотических генов бобовых растений при помощи подходов «обратной генетики» - анализа дифференциальной экспрессии генов, РНК-интерференции, TILLING и генетического редактирования. В результате стало очевидным, что в симбиозе принимают участие сотни генов, кодирующих «молекулярную машину симбиоза». Функции большинства из них дублируются (либо, напротив, жизненно необходимы), поэтому идентификация их при помощи экспериментального мутагенеза была невозможна. В данном обзоре мы рассмотрим гены, вовлечённые в развитие и функционирование симбиозов бобовых растений, идентифицированные методами «обратной генетики».

Гены нодулинов, микоризинов и симбиозинов

Изучение «молекулярной машины симбиоза» началось более сорока лет назад с идентификации «нодулинов» - белков, которые присутствуют в корнях сои (*Glycine max* (L.) Merr.), инокулированных клубеньковыми бактериями, но отсутствуют в неинокулированных корнях [Legocki, Verma, 1980]. Гены, соответствующие наиболее представленным в

клубеньках нодулиам, были клонированы, и было установлено, что нодулины выполняют структурную функцию (являются компонентами перибактероидной мембраны, которая окружает бактерии внутри клеток клубенька) или участвуют в биохимических реакциях ассимиляции азота [Verma et al., 1986]. Значительный успех был достигнут в изучении генов, кодирующих нодулины, в ходе анализа дифференциальной экспрессии генов путем вычитающей гибридизации (subtractive hybridization) [Kouchi, Hata, 1993]. Среди генов нодулинов были выделены группы «ранних» и «поздних» генов (early и late nodulin genes), в соответствии со стадией развития клубенька, на которой детектировалось присутствие соответствующих транскриптов [Verma et al., 1986; Nap, Bisseling, 1990a; 1990b].

Подобный подход – выделение полиаденилированной мРНК с последующей трансляцией *in vitro* и иммунопреципитацией с антителами к известным нодулинам – был применён для идентификации полипептидов, специфичных для микоризованных корней сои [Wyss et al., 1990]. В результате были идентифицированы пять полипептидов, которые (по аналогии с нодулинами) были названы «микоризинами» [Wyss et al., 1990]. В дальнейшем, для гена раннего нодулина *MtENOD11* была продемонстрирована экспрессия в клетках корня, содержащих арбускулы, что также даёт основание считать *MtENOD11* микоризином.

Развитие технологии микрочипов (microarrays) сделало возможным проведение количественного анализа экспрессии генов в отношении модельных бобовых. Для *M. truncatula* было выявлено несколько сотен генов, уровень экспрессии которых повышается в азотфиксирующих клубеньках и/или в микоризованных корнях, причём около ста генов активируются в случае развития как БРС, так и АМ [Krajinski, Frenzel, 2007; Küster et al., 2007]. По аналогии с генами нодулинов и микоризинов, было предложено называть гены, специфичные как для БРС, так и для АМ, генами симбиозинов [Küster et al., 2007]. Появление технологии Next Generation Sequencing открыло возможность широкомасштабного анализа уровня экспрессии генов с высокой точностью, в результате чего фокус исследований окончательно переключился с генов нодулинов и микоризинов (которые специфично экспрессируются только в одном или другом симбиозе и нигде больше) на гены, экспрессия которых индуцируется (up-regulated genes) в ходе развития того или другого симбиоза.

Таким образом, в строгом смысле термин «гены нодулинов» может относиться лишь к небольшому числу генов, экспрессия которых не детектируется ни в каких тканях, кроме

азотфиксирующих клубеньков (рис.). Аналогично, под генами микоризинов следует понимать гены с профилем экспрессии, строго ассоциированным с микоризованными корнями (например, специфичные для клеток, содержащих арбускулы). Интересно, что выявленные в первых исследованиях микоризины, распознаваемые антителами к нодулинам [Wyss et al., 1990], в строгом смысле слова не являются «микоризинами», а должны быть отнесены к «симбиозинам». Во избежание путаницы мы предлагаем называть гены с повышенным уровнем экспрессии в симбиотических тканях и органах «клубеньк-специфичными», «микориза-специфичными» и «симбиоз-специфичными», а термины «гены нодулинов», а также «гены микоризинов» и «гены симбиозинов» применять лишь в их строгом смысле.

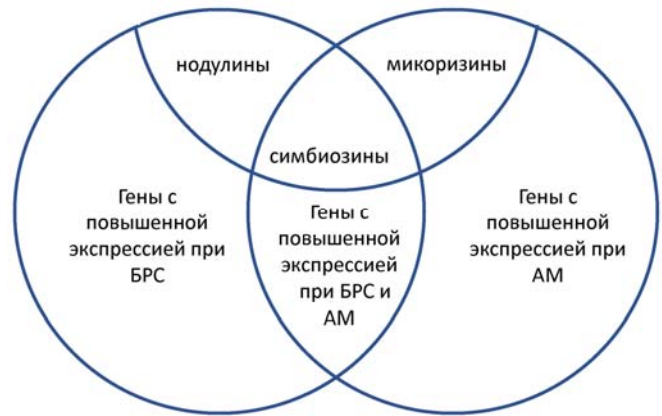


Рис. Разнообразие генов, индуцированных при БРС и АМ.
Fig. The diversity of genes induced in RLS and AM.

Анализ экспрессии клубеньк-специфичных генов бобовых растений

В последние два десятилетия развитие методов транскриптомики позволило облегчить поиск и анализ генов бобовых, вовлечённых в БРС. Ранние работы были выполнены в ходе анализа микрочипов, но в настоящее время подавляющее большинство подобных исследований выполняется посредством секвенирования мРНК клубеньков с последующим биоинформатическим анализом полученных данных.

В одной из первых работ в данной области [Høgslund et al., 2009] было показано, что в клубеньках разного возраста *L. japonicus* при сравнении с инокулированными корнями наблюдается дифференциальная экспрессия большого количества генов (1015 генов на сроке 1 день после инокуляции (д.п.и.) и 2930 на сроке 21 д.п.и.). Примечательно, что только 48 генов дифференциально экспрессируются одновременно в

клубеньках различного возраста (1, 3, 7, 21 д.п.и.). Эта группа генов включает нодулины, серпины, экспансины, пектинэстеразы и другие [Høgslund et al., 2009]. Вероятно, выявленные гены необходимы для процессов развития симбиотических мембран и роста инфекционных нитей, которые наблюдаются в ходе роста клубеньков на всех этапах их развития.

В последующем улучшение качества сборок геномов модельных бобовых и увеличение числа аннотированных генов в них привело к существенному повышению глубины анализа данных. Так, Boscarì и коллегам удалось выявить уже 10085 дифференциально экспрессирующихся в клубеньках *M. truncatula* генов относительно неинокулированных корней, причём экспрессия большей части из них, 8418 генов, была подавлена [Boscarì et al., 2013], что указывает на то, что повышение уровня экспрессии симбиоз-специфичных генов является необходимым, но не достаточным условием для нормального развития симбиотических органов. При этом результаты, полученные в данной работе, согласуются с опубликованными ранее результатами и расширяют имеющиеся знания об особенностях организации транскриптома азотфиксирующих клубеньков. В частности, было описано большое количество транскрипционных факторов, специфичных для клубеньков.

Сравнительные исследования экспрессии генов клубеньков *M. truncatula* и *L. japonicus* показали, что только для 53% дифференциально экспрессирующихся в клубеньках генов *L. japonicus* имеются ортологи в геноме *M. truncatula*, а наборы дифференциально экспрессирующихся генов исследуемых видов перекрываются на 1085 генов, что составляет 18% и 42% от общего числа дифференциально экспрессирующихся в клубеньках генов *M. truncatula* и *L. japonicus*, соответственно [Sańko-Sawczenko et al., 2019]. Несмотря на это, на более высоком уровне аннотации (биологический процесс и молекулярная функция), процессы, в которых принимают участие дифференциально экспрессирующиеся в клубеньках гены обоих видов, весьма сходны.

Уникальность транскриптомных профилей азотфиксирующих клубеньков

Сравнение профилей экспрессии генов в различных тканях и органах растений показывает, что клубеньки являются уникальными органами, транскриптомные профили которых значительно отличаются от других органов растения [Mergaert et al., 2020]. Так, на основании данных, накопленных за последнее десятилетие, можно судить о том, что группа генов нодулинов, экспрессия которых строго специфична для клубеньков *M. truncatula*,

насчитывает несколько сотен генов [Mergaert et al., 2020]. Значительную часть этих генов составляют гены, кодирующие клубеньк-специфичные цистеин богатые пептиды (пептиды NCR, nodule-specific cysteine-rich peptides) [Guefrachi et al., 2014]. NCR пептиды управляют дифференцировкой бактерий в симбиотическую форму (бактероиды) у некоторых бобовых растений, включая *M. truncatula*, горох (*Pisum sativum* L.), *Cicer arietinum* L. и др. [Mergaert et al., 2003; Montiel et al., 2017; Zorin et al., 2022]. Кроме генов, кодирующих пептиды NCR, среди клубеньк-специфичных генов также были выявлены хорошо изученные и необходимые для БРС гены (например, кодирующие леггемоглобин, С-подобную фосфолипазу DNF2, цистеин-богатую рецептор-подобную киназу SymCRK, метаболиты транспортёров и другие). Также к клубеньк-специфичным генам относятся представители генных семейств, кодирующих GRP (Glycine-Rich Peptide), функция которых пока неизвестна [Alunni et al., 2007], SNARP (Small Nodulin Acidic RNA-binding Protein) [Laporte et al., 2010], секреторные кальмодулин-подобные белки. Отдельные представители других генных семейств, кодирующих короткие пептиды, вовлечённые в систему контроля азотного статуса растения (пептиды CLE), также экспрессируются в клубеньках [Okamoto et al., 2009; Mortier et al., 2010].

Экспрессию клубеньк-специфичных генов можно наблюдать на самых ранних стадиях развития клубеньков, в течение первых нескольких суток после инокуляции. Транскриптомный анализ корней *M. truncatula* на ранних этапах клубенькообразования [Gao et al., 2022] показал, что в первые 12 часов после инокуляции в транскриптомном профиле корней *M. truncatula* не происходит значительных изменений, а спустя 24 часа и 48 часов после инокуляции уже детектируется повышение экспрессии пяти и шести генов, соответственно. По-настоящему яркий ответ наблюдается спустя 72 ч.п.и. и выражается в повышении экспрессии серии генов, кодирующих ранние нодулины, в том числе NCR пептиды [Gao et al., 2022]. Слабый ответ на инокуляцию в первые двое суток может быть вызван низкой долей ткани развивающегося клубенька в исследуемом образце корня. Эту проблему позволяет решить сочетание РНК-секвенирования с методом микродиссекции [Jardinaud et al., 2016].

Появление и активное использование методов секвенирования одиночных клеток [Hwang et al., 2018] позволило изучить особенности экспрессии генов в инфицированных и неинфицированных клетках клубенька [Libault, 2018]. Сравняя экспрессию генов между инфицированными и неинфицированными клетками клубенька *L. japonicus*, Wang и др. удалось выявить 939 генов,

дифференциально экспрессирующихся в инфицированных клетках, 55 из которых кодировали транскрипционные факторы, а 73 – различные транспортёры. В частности, авторами было показано, что гены, кодирующие леггемоглобин (*LjLbs*) и сульфатный транспортёр (*LjSST1*) работают, в основном, в инфицированных клетках, в то время как транспортёр аммония (*LjAMT1.1*) и транскрипционный фактор ERF (*LjERF1*) активно экспрессируются, наоборот, в зоне неинфицированных клеток [Wang et al., 2022].

Современные работы по выявлению генов, дифференциально экспрессирующихся в азотфиксирующих клубеньках бобовых растений, позволили также идентифицировать большое число разнообразных генов, продукты которых связаны с различными метаболическими путями, ответами на растительные гормоны, защитными реакциями растения на патогены, биосинтезом вторичных метаболитов. Значительная часть таких генов кодирует ABC-транспортёры и широкий спектр транскрипционных факторов. Важно отметить, что многие из этих генов не являются специфичными для клубенькообразования.

Анализ экспрессии генов, специфичных для арбускулярно-микоризного симбиоза

В ходе образования АМ клетки корня растения-хозяина претерпевают значительные структурные и функциональные изменения, в частности, при формировании арбускул – симбиотического интерфейса, через который происходит обмен веществами между грибом и растением. Процесс формирования АМ симбиоза строго регулируется обоими партнёрами на клеточном, молекулярном и генетическом уровнях [Ho-Plágaro García-Garrido, 2022]. Современные методы секвенирования мРНК и биоинформатического анализа полученных данных позволяют оценить степень изменения экспрессии генов растения при развитии АМ симбиоза.

Большинство подобных работ выполнены также на модельных бобовых растениях. Так, в работе Handa и коллег были оценены профили экспрессии генов в корнях *L.japonicus*, инокулированных АМ грибом *Rhizophagus irregularis*, при помощи секвенирования мРНК микоризованных корней [Handa et al., 2015]. В работе было показано, что во время развития арбускулярной микоризы у *L.japonicus* дифференциально экспрессируется 3641 ген, из которых для 80% экспрессия повышается. Гены с повышенной экспрессией кодируют секретлируемые белки, транспортеры, белки, участвующие в метаболизме липидов и аминокислот, рибосомы и гистоны, а также транскрипционные факторы [Handa

et al., 2015], которые могут быть вовлечены в передачу сигнала или регуляцию транскрипции во время симбиоза.

Дополнительное применение методов лазерной микродиссекции позволило изучить особенности экспрессии генов в отдельных типах клеток микоризованных корней. В работе Gaude и др. были изучены профили экспрессии генов в клетках микоризованных корней, содержащих и не содержащих арбускулы. В результате было показано, что наиболее заметные транскриптомные изменения наблюдались в клетках микоризных корней, не содержащих арбускулы, что указывает на резкое перепрограммирование этих клеток во время колонизации. При этом значительная часть генов дифференциально экспрессируется в обоих типах клеток. Эти гены связаны, как правило, с транспортными процессами, регуляцией транскрипции и метаболизмом липидов, что указывает на то, что перепрограммирование этих процессов имеет особое значение для АМ симбиоза [Gaude et al., 2012].

Транскриптомный анализ позволил установить, что часть генов, необходимых для микоризации, имеет профиль экспрессии, общий для разных видов растений. В частности, гены RAM1 и RAM2 важны для микоризации у *L.japonicus*, моркови (*Daucus carota* L.) и эустомы крупноцветковой *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. В то время, были выявлены гены, необходимые для микоризации только отдельных видов: SWEET1b-1, судя по всему, играет важную роль при микоризации только у *L.japonicus*, а RAD1, наоборот, демонстрирует повышение экспрессии лишь у *D.carota* и *E. grandiflorum* [Tominaga et al., 2021]. В другой работе показано, что у *Casuarina glauca* Sieber, риса *Oryza sativa* L. и *M.truncatula* 84 гена демонстрируют повышение экспрессии при микоризации [Tomas et al., 2012] и, таким образом, являются частью консервативной генетической программы, необходимой для микоризации. Среди них наиболее представлена группа протеаз, монооксигеназ, транспортёров и компонентов сигналинга [Tomas et al., 2012].

Гены микоризингов составляют относительно небольшую часть генов, дифференциально экспрессирующихся при микоризации. Например, у *G.max* 9.2% из всех дифференциально экспрессирующихся при БРС или АМ симбиозах являются специфичными только для АМ симбиоза. Эти гены кодируют цистеин-протеиназы (CP), кислые фосфатазы (PAP), мембранные транспортёры, белки сигнальной трансдукции и различные транскрипционные факторы [Sakamoto et al., 2019]. Примечательно, что для генов цистеин-протеиназ

показана специфичность экспрессии также в микоризованных корнях *L. japonicus* и *M. truncatula* [Gaude et al., 2012].

Анализ экспрессии генов симбиозиннов

Поскольку БРС возник на основе АМ симбиоза, ожидается, что большое количество генов, специфичных для одного из симбиозов, должно функционировать и при развитии второго симбиоза. В ходе проверки данного предположения с использованием технологии ДНК-микрочипов Manthey и др. удалось выявить 26 генов, повышающие уровень экспрессии и в АМ корнях, и в клубеньках *M. truncatula*. Эти гены относятся к различным функциональным классам, включая мембранный транспорт, биосинтез клеточной стенки, первичный метаболизм, защитные реакции и сигнальную трансдукцию [Manthey et al., 2004]. В другой подобной работе на *L. japonicus* было установлено, что к числу генов, кодирующих симбиозины, относятся гены, кодирующие компоненты фенилпропаноидного пути (хальконредуктазы, фенилаланин-аммоний лиазы), а также транскрипционные факторы WRKY, белки, содержащие BURP домен и белки теплового шока [Deguchi et al., 2007]. В более поздней работе Tomas и др. у *M. truncatula* удалось выявить компоненты консервативной генетической программы, участвующие в развитии арбускулярно-микоризного и бобово-ризобияльного симбиозов. Список этих консервативных генов представлен большим количеством цистеин-протеаз С1А, различными транспортёрами (в частности, транспортёра миолигопептидов), а также генами, продукты которых связаны с метаболизмом липидов, углерода и сигналингом [Tomas et al., 2012].

С применением более чувствительного метода РНК-секвенирования было показано, что у фасоли *Phaseolus vulgaris* L. 288 генов с повышенной экспрессией и 223 гена с пониженной являются общими для двух типов симбиозов. Примечательно, что продукты этих генов относятся, в первую очередь, к защитным реакциям растения на патогены, процессам, связанным с клеточной стенкой, метаболизмом азота и фосфора [Nanjareddy et al., 2017]. У другого объекта, сои *G. max*, общий ответ на взаимодействие с грибами АМ и клубеньковыми бактериями включает 34 гена с повышенной экспрессией и 37 с пониженной, однако их продукты относятся к тем же биологическим процессам (мембранный транспорт, защитные реакции на патогены, вторичный метаболизм, деградация и модификация клеточной стенки и сигнальная трансдукция) [Sakamoto et al., 2019].

Заключение

Сравнительный анализ экспрессии генов, дифференциально экспрессирующихся в ходе развития БРС и АМ, показывает значительное сходство процессов развития двух типов симбиозов. Вероятно, помимо уже идентифицированного общего сигнального симбиотического пути, существуют и другие консервативные генетические программы, которые на данный момент изучены недостаточно полно [Yokota, Hayashi, 2011]. Дальнейшее развитие методов РНК-секвенирования и анализа данных позволит исследовать данный вопрос более детально.

В программах развития как АМ, так и БРС можно выделить группу консервативных генов, свойственных различным видам растений, и группу переменных генов, выявляемых как участники генетической программы развития симбиозов только у отдельных видов. Для АМ симбиоза такими консервативными генами являются гены, кодирующие протеазы, фосфатные транспортёры, хитиназы и белки, вовлечённые в метаболизм липидов [Tomas et al., 2012]. Для БРС наблюдается невысокий уровень сходства в экспрессии генов, индуцированных в ходе клубенькообразования, у разных видов бобовых: у *L. japonicus* и *M. truncatula* удалось выявить лишь чуть более 50% общих генов, одинаково повышающих экспрессию в ответ на инокуляцию ризобиями. Этот факт может быть объяснён тем, что данные виды бобовых образуют клубеньки различных типов – детерминированные (*L. japonicus*) и недетерминированные (*M. truncatula*), значительно различающиеся по морфологии и метаболизму.

Интересно, что экспрессия некоторых генов, кодирующих нодулины, повышена в клубеньках, но подавлена в микоризованных корнях *G. max* [Sakamoto et al., 2019]. Данный факт является примером конкуренции между АМ и БРС на молекулярном уровне указывает на существование механизмов контроля растения над образующимися симбиозами, которые, возможно, повышают эффективность надвидовой многокомпонентной симбиотической системы. Молекулярные основы такого контроля требуют дальнейшего изучения.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-01136, РФФИ в рамках научного проекта № 20-16-00107 и гранта Санкт-Петербургского Государственного Университета № 93020341

This project was supported the Russian Foundation for Basic Research (RFBR) project 20-04-01136, RSF grant 20-16-00107 and by the grant from St Petersburg State University ID: 93020341

Литература

1. Alunni, B., Kevei, Z., Redondo-Nieto, M., Kondorosi, A., Mergaert, P., and Kondorosi, E. Genomic Organization and Evolutionary Insights on GRP and NCR Genes, Two Large Nodule-Specific Gene Families in *Medicago truncatula* // MPMI. 2007. V. 20. P. 1138–1148. doi: 10.1094/MPMI-20-9-1138
2. Boscari, A., Del Giudice, J., Ferrarini, A., Venturini, L., Zaffini, A.-L., Delledonne, M., et al. Expression dynamics of the *Medicago truncatula* transcriptome during the symbiotic interaction with *Sinorhizobium meliloti*: which role for nitric oxide? // Plant Physiol. 2013. V. 161. P. 425–439. doi: 10.1104/pp.112.208538
3. Deguchi, Y., Banba, M., Shimoda, Y., Chechetka, S. A., Suzuri, R., Okusako, Y., et al. Transcriptome Profiling of *Lotus japonicus* Roots During Arbuscular Mycorrhiza Development and Comparison with that of Nodulation // DNA Research. 2007. V. 14. P. 117–133. doi: 10.1093/dnares/dsm014
4. Gao, Y., Selee, B., Schnabel, E. L., Pohlman, W.L., Chavan, S.A., Frugoli, J.A., et al. Time Series Transcriptome Analysis in *Medicago truncatula* Shoot and Root Tissue During Early Nodulation // Front. Plant Sci. 2022. V. 13. P. 861639. doi: 10.3389/fpls.2022.861639
5. Gaude, N., Bortfeld, S., Duensing, N., Lohse, M., and Krajinski, F. Arbuscule-containing and non-colonized cortical cells of mycorrhizal roots undergo extensive and specific reprogramming during arbuscular mycorrhizal development: Arbuscule-containing and non-colonized cortical cells // The Plant Journal. 2012. V. 69. P. 510–528. doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04810.x
6. Guefrachi, I., Nagymihaly, M., Pislariu, C. I., Van de Velde, W., Ratet, P., Mars, M., et al. Extreme specificity of NCR gene expression in *Medicago truncatula* // BMC Genomics. 2014. V. 15. P. 712. doi: 10.1186/1471-2164-15-712
7. Handa, Y., Nishide, H., Takeda, N., Suzuki, Y., Kawaguchi, M., Saito, K. RNA-seq Transcriptome Profiling of an Arbuscular Mycorrhiza Provides Insights into Regulated and Coordinated Gene Expression in *Lotus japonicus* and *Rhizophagus irregularis* // Plant Cell Physiol. 2015. V. 56. P. 1490–1511. doi: 10.1093/pcp/pcv071
8. Høgslund, N., Radutoiu, S., Krusell, L., Voroshilova, V., Hannah, M. A., Goffard, N., et al. Dissection of symbiosis and organ development by integrated transcriptome analysis of *Lotus japonicus* mutant and wild-type plants // PLoS One. 2009. V. 4. e6556. doi: 10.1371/journal.pone.0006556
9. Ho-Plágaro, T., García-Garrido, J. M. Molecular Regulation of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis // Int J Mol Sci. 2022. V. 23. P. 5960. doi: 10.3390/ijms23115960
10. Hwang, B., Lee, J. H., Bang, D. Single-cell RNA sequencing technologies and bioinformatics pipelines // Exp Mol Med. 2018. V. 50. P. 1–14. doi: 10.1038/s12276-018-0071-8
11. Jardinaud, M.-F., Boivin, S., Rodde, N., Catrice, O., Kisiala, A., Lepage, A., et al. A Laser Dissection-RNAseq Analysis Highlights the Activation of Cytokinin Pathways by Nod Factors in the *Medicago truncatula* Root Epidermis // Plant Physiol. 2016. V. 171. P. 2256–2276. doi: 10.1104/pp.16.00711
12. Kouchi, H., Hata, S. Isolation and characterization of novel nodulin cDNAs representing genes expressed at early stages of soybean nodule development // Molec. Gen. Genet. 1993. V. 238. P. 106–119. doi: 10.1007/BF00279537
13. Krajinski, F., Frenzel, A. Towards the elucidation of AM-specific transcription in *Medicago truncatula* // Phytochemistry. 2007. V. 68. P. 75–81. doi: 10.1016/j.phytochem.2006.09.035
14. Küster, H., Vieweg, M. F., Manthey, K., Baier, M. C., Hohnjec, N., Perlick, A.M. Identification and expression regulation of symbiotically activated legume genes // Phytochemistry. 2007. V. 68. P. 8–18. doi: 10.1016/j.phytochem.2006.09.029
15. Laporte, P., Satiat-Jeunemaître, B., Velasco, I., Csorba, T., Van de Velde, W., Campalans, A., et al. A novel RNA-binding peptide regulates the establishment of the *Medicago truncatula* – *Sinorhizobium meliloti* nitrogen-fixing symbiosis: Small RNA-binding proteins in nodulation // The Plant Journal. 2010. V. 62. P. 24–38. doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.04121.x
16. Legocki, R.P., Verma, D.P.S. Identification of “nodule-specific” host proteins (nodulins) involved in the development of *Rhizobium*-Legume symbiosis // Cell. 1980. V. 20. P. 153–163. doi: 10.1016/0092-8674(80)90243-3
17. Libault, M. Transcriptional Reprogramming of Legume Genomes: Perspective and Challenges Associated With Single-Cell and Single Cell-Type Approaches During Nodule Development // Front. Plant Sci. 2018. V. 9. P. 1600. doi: 10.3389/fpls.2018.01600
18. Liu, J., Miller, S. S., Graham, M., Bucciarelli, B., Catalano, C. M., Sherrier, D. J., et al. Recruitment of Novel Calcium-Binding Proteins for Root Nodule Symbiosis in *Medicago truncatula* // Plant Physiology. 2006. V. 141. P. 167–177. doi: 10.1104/pp.106.076711
19. Manthey, K., Krajinski, F., Hohnjec, N., Firnhaber, C., Pühler, A., Perlick, A. M., et al. Transcriptome Profiling in Root Nodules and Arbuscular Mycorrhiza Identifies a Collection of Novel Genes Induced During *Medicago truncatula* Root Endosymbioses // MPMI. 2004. V. 17. P. 1063–1077. doi: 10.1094/MPMI.2004.17.10.1063

20. Mergaert, P., Kereszt, A., Kondorosi, E. Gene Expression in Nitrogen-Fixing Symbiotic Nodule Cells in *Medicago truncatula* and Other Nodulating Plants // *Plant Cell*. 2020. V. 32. P. 42–68. doi: 10.1105/tpc.19.00494
21. Mergaert, P., Nikovics, K., Kelemen, Z., Maunoury, N., Vaubert, D., Kondorosi, A., et al. A Novel Family in *Medicago truncatula* Consisting of More Than 300 Nodule-Specific Genes Coding for Small, Secreted Polypeptides with Conserved Cysteine Motifs // *Plant Physiology*. 2003. V. 132. P. 161–173. doi: 10.1104/pp.102.018192
22. Montiel, J., Downie, J. A., Farkas, A., Bihari, P., Herczeg, R., Bálint, B., et al. Morphotype of bacteroids in different legumes correlates with the number and type of symbiotic NCR peptides // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017. V. 114. P. 5041–5046. doi: 10.1073/pnas.1704217114
23. Mortier, V., Den Herder, G., Whitford, R., Van de Velde, W., Rombauts, S., D'haeseleer, K., et al. CLE Peptides Control *Medicago truncatula* Nodulation Locally and Systemically // *Plant Physiology*. 2010. V. 153. P. 222–237. doi: 10.1104/pp.110.153718
24. Nanjareddy, K., Arthikala, M.-K., Gómez, B.-M., Blanco, L., Lara, M. Differentially expressed genes in mycorrhized and nodulated roots of common bean are associated with defense, cell wall architecture, N metabolism, and P metabolism // *PLoS One*. 2017. V. 12. P. e0182328. doi: 10.1371/journal.pone.0182328
25. Nap, J.-P., Bisseling, T. Developmental Biology of a Plant-Prokaryote Symbiosis: The Legume Root Nodule // *Science*. 1990a. V. 250. P. 948–954. doi: 10.1126/science.250.4983.948
26. Nap, J.-P., Bisseling, T. The roots of nodulins // *Physiol Plant*. 1990b. V. 79. P. 407–414. doi: 10.1111/j.1399-3054.1990.tb06760.x
27. Okamoto, S., Ohnishi, E., Sato, S., Takahashi, H., Nakazono, M., Tabata, S., et al. Nod Factor/Nitrate-Induced CLE Genes that Drive HAR1-Mediated Systemic Regulation of Nodulation // *Plant and Cell Physiology*. 2009. V. 50. P. 67–77. doi: 10.1093/pcp/pen194
28. Parniske, M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses // *Nat Rev Microbiol*. 2008. V. 6. P. 763–775. doi: 10.1038/nrmicro1987
29. Sakamoto, K., Ogiwara, N., Kaji, T., Sugimoto, Y., Ueno, M., Sonoda, M., et al. Transcriptome analysis of soybean (*Glycine max*) root genes differentially expressed in rhizobial, arbuscular mycorrhizal, and dual symbiosis // *J Plant Res*. 2019. V. 132. P. 541–568. doi: 10.1007/s10265-019-01117-7
30. Sańko-Sawczenko, I., Łotocka, B., Mielecki, J., Rekosz-Burlaga, H., and Czarnocka, W. Transcriptomic Changes in *Medicago truncatula* and *Lotus japonicus* Root Nodules during Drought Stress // *Int J Mol Sci*. 2019. V. 20. P. E1204. doi: 10.3390/ijms20051204
31. Sprent, J. I. Nodulation in legumes // *Annals of Botany*. 2002. V. 89(6). P. 797–798. doi: 10.1093/aob/mcf128
32. Tikhonovich, I. A., Provorov, N. A. Simbiogenetics of microbe-plant interactions // *Ecological Genetics*. V. 1. P. 36–46. doi: 10.17816/ecogen1036-46
33. Tominaga, T., Miura, C., Sumigawa, Y., Hirose, Y., Yamaguchi, K., Shigenobu, S., et al. Conservation and Diversity in Gibberellin-Mediated Transcriptional Responses Among Host Plants Forming Distinct Arbuscular Mycorrhizal Morphotypes // *Front Plant Sci*. 2021. V. 12. P. 795695. doi: 10.3389/fpls.2021.795695
34. Tromas, A., Parizot, B., Diagne, N., Champion, A., Hocher, V., Cissoko, M., et al. Heart of Endosymbioses: Transcriptomics Reveals a Conserved Genetic Program among Arbuscular Mycorrhizal, Actinorhizal and Legume-Rhizobial Symbioses // *PLoS ONE*. 2012. V. 7. P. e44742. doi: 10.1371/journal.pone.0044742
35. Verma, D.P.S., Fortin, M.G., Stanley, J., Mauro, V.P., Purohit, S., and Morrison, N. Nodulins and nodulin genes of *Glycine max* // *Plant Mol Biol*. 1986. V. 7. P. 51–61. doi: 10.1007/BF00020131
36. Wang, L., Zhou, Y., Li, R., Liang, J., Tian, T., Ji, J., et al. Single cell-type transcriptome profiling reveals genes that promote nitrogen fixation in the infected and uninfected cells of legume nodules // *Plant Biotechnology Journal*. 2022. V. 20. P. 616–618. doi: 10.1111/pbi.13778
37. Wyss, P., Mellor, Robert B., and Wiemken, A. Vesicular-arbuscular mycorrhizas of wild-type soybean and non-nodulating mutants with *Glomus mosseae* contain symbiosis-specific polypeptides (mycorrhizins), immunologically cross-reactive with nodulins // *Planta*. 1990. V. 182. doi: 10.1007/BF00239978
38. Yokota, K., Hayashi, M. Function and evolution of nodulation genes in legumes // *Cell. Mol. Life Sci*. 2011. V. 68. P. 1341–1351. doi: 10.1007/s00018-011-0651-4
39. Zorin, E.A., Kliukova, M.S., Afonin, A.M., Gribchenko, E.S., Gordon, M.L., Sulima, A.S., et al. A variable gene family encoding nodule-specific cysteine-rich peptides in pea (*Pisum sativum* L.) // *Front. Plant Sci*. 2022. V. 13. P. 884726. doi: 10.3389/fpls.2022.884726

References

- Alunni, B., Kevei, Z., Redondo-Nieto, M., Kondorosi, A., Mergaert, P., and Kondorosi, E. Genomic Organization and Evolutionary Insights on GRP and NCR Genes, Two Large Nodule-Specific Gene Families in *Medicago truncatula*. *MPMI*. 2007. V. 20. P. 1138–1148. doi: 10.1094/MPMI-20-9-1138
- Boscari, A., Del Giudice, J., Ferrarini, A., Venturini, L., Zaffini, A.-L., Delledonne, M., et al.

- Expression dynamics of the *Medicago truncatula* transcriptome during the symbiotic interaction with *Sinorhizobium meliloti*: which role for nitric oxide? *Plant Physiol.* 2013. V. 161. P. 425–439. doi: 10.1104/pp.112.208538
3. Deguchi, Y., Banba, M., Shimoda, Y., Chechetka, S. A., Suzuri, R., Okusako, Y., et al. Transcriptome Profiling of *Lotus japonicus* Roots During Arbuscular Mycorrhiza Development and Comparison with that of Nodulation. *DNA Research.* 2007. V. 14. P. 117–133. doi: 10.1093/dnares/dsm014
 4. Gao, Y., Selee, B., Schnabel, E.L., Poehlman, W. L., Chavan, S.A., Frugoli, J.A., et al. Time Series Transcriptome Analysis in *Medicago truncatula* Shoot and Root Tissue During Early Nodulation. *Front. Plant Sci.* 2022. V. 13. P. 861639. doi: 10.3389/fpls.2022.861639
 5. Gaude, N., Bortfeld, S., Duensing, N., Lohse, M., Krajinski, F. Arbuscule-containing and non-colonized cortical cells of mycorrhizal roots undergo extensive and specific reprogramming during arbuscular mycorrhizal development: Arbuscule-containing and non-colonized cortical cells. *The Plant Journal.* 2012. V. 69. P. 510–528. doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04810.x
 6. Guefrachi, I., Nagymihaly, M., Pislariu, C.I., Van de Velde, W., Ratet, P., Mars, M., et al. Extreme specificity of NCR gene expression in *Medicago truncatula*. *BMC Genomics.* 2014. V. 15. P. 712. doi: 10.1186/1471-2164-15-712
 7. Handa, Y., Nishide, H., Takeda, N., Suzuki, Y., Kawaguchi, M., Saito, K. RNA-seq Transcriptome Profiling of an Arbuscular Mycorrhiza Provides Insights into Regulated and Coordinated Gene Expression in *Lotus japonicus* and *Rhizophagus irregularis*. *Plant Cell Physiol.* 2015. V. 56. P. 1490–1511. doi: 10.1093/pcp/pcv071
 8. Høglund, N., Radutoiu, S., Krusell, L., Voroshilova, V., Hannah, M. A., Goffard, N., et al. Dissection of symbiosis and organ development by integrated transcriptome analysis of *Lotus japonicus* mutant and wild-type plants. *PLoS One.* 2009. V. 4. e6556. doi: 10.1371/journal.pone.0006556
 9. Ho-Plágaro, T., García-Garrido, J.M. Molecular Regulation of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Int J Mol Sci.* 2022. V. 23. P. 5960. doi: 10.3390/ijms23115960
 10. Hwang, B., Lee, J.H., Bang, D. Single-cell RNA sequencing technologies and bioinformatics pipelines. *Exp Mol Med.* 2018. V. 50. P. 1–14. doi: 10.1038/s12276-018-0071-8
 11. Jardinaud, M.-F., Boivin, S., Rodde, N., Catrice, O., Kisiala, A., Lepage, A., et al. A Laser Dissection-RNAseq Analysis Highlights the Activation of Cytokinin Pathways by Nod Factors in the *Medicago truncatula* Root Epidermis. *Plant Physiol.* 2016. V. 171. P. 2256–2276. doi: 10.1104/pp.16.00711
 12. Kouchi, H., Hata, S. Isolation and characterization of novel nodulin cDNAs representing genes expressed at early stages of soybean nodule development. *Molec. Gen. Genet.* 1993. V. 238. P. 106–119. doi: 10.1007/BF00279537
 13. Krajinski, F., Frenzel, A. Towards the elucidation of AM-specific transcription in *Medicago truncatula*. *Phytochemistry.* 2007. V. 68. P. 75–81. doi: 10.1016/j.phytochem.2006.09.035
 14. Küster, H., Vieweg, M.F., Manthey, K., Baier, M.C., Hohnjec, N., and Perlick, A.M. Identification and expression regulation of symbiotically activated legume genes. *Phytochemistry.* 2007. V. 68. P. 8–18. doi: 10.1016/j.phytochem.2006.09.029
 15. Laporte, P., Satiat-Jeunemaître, B., Velasco, I., Csorba, T., Van de Velde, W., Campalans, A., et al. A novel RNA-binding peptide regulates the establishment of the *Medicago truncatula* – *Sinorhizobium meliloti* nitrogen-fixing symbiosis: Small RNA-binding proteins in nodulation. *The Plant Journal.* 2010. V. 62. P. 24–38. doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.04121.x
 16. Legocki, R.P., and Verma, D.P.S. Identification of “nodule-specific” host proteins (nodulins) involved in the development of *Rhizobium*-Legume symbiosis. *Cell.* 1980. V. 20. P. 153–163. doi: 10.1016/0092-8674(80)90243-3
 17. Libault, M. Transcriptional Reprogramming of Legume Genomes: Perspective and Challenges Associated With Single-Cell and Single Cell-Type Approaches During Nodule Development. *Front. Plant Sci.* 2018. V. 9. P. 1600. doi: 10.3389/fpls.2018.01600
 18. Liu, J., Miller, S. S., Graham, M., Bucciarelli, B., Catalano, C. M., Sherrier, D. J., et al. Recruitment of Novel Calcium-Binding Proteins for Root Nodule Symbiosis in *Medicago truncatula*. *Plant Physiology.* 2006. V. 141. P. 167–177. doi: 10.1104/pp.106.076711
 19. Manthey, K., Krajinski, F., Hohnjec, N., Firnhaber, C., Pühler, A., Perlick, A. M., et al. Transcriptome Profiling in Root Nodules and Arbuscular Mycorrhiza Identifies a Collection of Novel Genes Induced During *Medicago truncatula* Root Endosymbioses. *MPMI.* 2004. V. 17. P. 1063–1077. doi: 10.1094/MPMI.2004.17.10.1063
 20. Mergaert, P., Kereszt, A., Kondorosi, E. Gene Expression in Nitrogen-Fixing Symbiotic Nodule Cells in *Medicago truncatula* and Other Nodulating Plants. *Plant Cell.* 2020. V. 32. P. 42–68. doi: 10.1105/tpc.19.00494
 21. Mergaert, P., Nikovics, K., Kelemen, Z., Maunoury, N., Vaubert, D., Kondorosi, A., et al. A Novel Family in *Medicago truncatula* Consisting of More Than 300 Nodule-Specific Genes Coding for Small, Secreted Polypeptides with Conserved Cysteine Motifs. *Plant*

- Physiology*. 2003. V. 132. P. 161–173. doi: 10.1104/pp.102.018192
22. Montiel, J., Downie, J.A., Farkas, A., Bihari, P., Herczeg, R., Bálint, B., et al. Morphotype of bacteroids in different legumes correlates with the number and type of symbiotic NCR peptides. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017. V. 114. P. 5041–5046. doi: 10.1073/pnas.1704217114
23. Mortier, V., Den Herder, G., Whitford, R., Van de Velde, W., Rombauts, S., D'haeseleer, K., et al. CLE Peptides Control *Medicago truncatula* Nodulation Locally and Systemically. *Plant Physiology*. 2010. V. 153. P. 222–237. doi: 10.1104/pp.110.153718
24. Nanjareddy, K., Arthikala, M.-K., Gómez, B.-M., Blanco, L., Lara, M. Differentially expressed genes in mycorrhized and nodulated roots of common bean are associated with defense, cell wall architecture, N metabolism, and P metabolism. *PLoS One*. 2017. V. 12. P. e0182328. doi: 10.1371/journal.pone.0182328
25. Nap, J.-P., Bisseling, T. Developmental Biology of a Plant-Prokaryote Symbiosis: The Legume Root Nodule. *Science*. 1990a. V. 250. P. 948–954. doi: 10.1126/science.250.4983.948
26. Nap, J.-P., Bisseling, T. The roots of nodulins. *Physiol Plant*. 1990b. V. 79. P. 407–414. doi: 10.1111/j.1399-3054.1990.tb06760.x
27. Okamoto, S., Ohnishi, E., Sato, S., Takahashi, H., Nakazono, M., Tabata, S., et al. Nod Factor/Nitrate-Induced CLE Genes that Drive HAR1-Mediated Systemic Regulation of Nodulation. *Plant and Cell Physiology*. 2009. V. 50. P. 67–77. doi: 10.1093/pcp/pcn194
28. Parniske, M. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat Rev Microbiol*. 2008. V. 6. P. 763–775. doi: 10.1038/nrmicro1987
29. Sakamoto, K., Ogiwara, N., Kaji, T., Sugimoto, Y., Ueno, M., Sonoda, M., et al. Transcriptome analysis of soybean (*Glycine max*) root genes differentially expressed in rhizobial, arbuscular mycorrhizal, and dual symbiosis. *J Plant Res*. 2019. V. 132. P. 541–568. doi: 10.1007/s10265-019-01117-7
30. Sańko-Sawczenko, I., Łotocka, B., Mielecki, J., Rekosz-Burlaga, H., and Czarnocka, W. Transcriptomic Changes in *Medicago truncatula* and *Lotus japonicus* Root Nodules during Drought Stress. *Int J Mol Sci*. 2019. V. 20. P. E1204. doi: 10.3390/ijms20051204
31. Sprent, J. I. Nodulation in legumes. *Annals of Botany*. 2002. V. 89(6). P. 797–798. doi: 10.1093/aob/mcf128
32. Tikhonovich, I.A., Provorov, N.A. Simbiogenetics of microbe-plant interactions. *Ecological Genetics*. V. 1. P. 36–46. doi: 10.17816/ecogen1036-46
33. Tominaga, T., Miura, C., Sumigawa, Y., Hirose, Y., Yamaguchi, K., Shigenobu, S., et al. Conservation and Diversity in Gibberellin-Mediated Transcriptional Responses Among Host Plants Forming Distinct Arbuscular Mycorrhizal Morphotypes. *Front Plant Sci*. 2021. V. 12. P. 795695. doi: 10.3389/fpls.2021.795695
34. Tromas, A., Parizot, B., Diagne, N., Champion, A., Hocher, V., Cissoko, M., et al. Heart of Endosymbioses: Transcriptomics Reveals a Conserved Genetic Program among Arbuscular Mycorrhizal, Actinorhizal and Legume-Rhizobial Symbioses. *PLoS ONE*. 2012. V. 7.P. e44742. doi: 10.1371/journal.pone.0044742
35. Verma, D.P.S., Fortin, M.G., Stanley, J., Mauro, V.P., Purohit, S., Morrison, N. Nodulins and nodulin genes of *Glycine max*. *Plant Mol Biol*. 1986. V. 7. P. 51–61. doi: 10.1007/BF00020131
36. Wang, L., Zhou, Y., Li, R., Liang, J., Tian, T., Ji, J., et al. Single cell-type transcriptome profiling reveals genes that promote nitrogen fixation in the infected and uninfected cells of legume nodules. *Plant Biotechnology Journal*. 2022. V. 20. P. 616–618. doi: 10.1111/pbi.13778
37. Wyss, P., Mellor, Robert B., Wiemken, A. Vesicular-arbuscular mycorrhizas of wild-type soybean and non-nodulating mutants with *Glomus mosseae* contain symbiosis-specific polypeptides (mycorrhizins), immunologically cross-reactive with nodulins. *Planta*. 1990. V. 182. doi: 10.1007/BF00239978
38. Yokota, K., Hayashi, M. Function and evolution of nodulation genes in legumes. *Cell. Mol. Life Sci*. 2011. V. 68. P. 1341–1351. doi: 10.1007/s00018-011-0651-4
39. Zorin, E.A., Kliukova, M.S., Afonin, A.M., Gribchenko, E.S., Gordon, M.L., Sulima, A.S., et al. A variable gene family encoding nodule-specific cysteine-rich peptides in pea (*Pisum sativum* L.). *Front. Plant Sci*. 2022. V. 13. P. 884726. doi: 10.3389/fpls.2022.884726