

## Déchiffrage du rôle des terpènes végétaux dans la modulation de la symbiose ectomycorhizienne

Responsable scientifique : Jose Eduardo MARQUES GALVEZ, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM) 1136

Partenaires Labex : Claire VENAULT-FOURREY (Research director UMR IAM), Gaurav PANDHARIKAR (Postdoctoral researcher hired for the project, UMR IAM)

Collaborations : Nathalie LACKUS (Max Planck Institute for Chemical Ecology, Jena, Germany)

Action thématique concernée : WP1

### **Contexte** —

Parmi les interactions bénéfiques entre les arbres et les micro-organismes, l'association entre les champignons ectomycorhiziens (ECM) et les racines des arbres est prédominante dans les écosystèmes forestiers tempérés et boréaux, avec un rôle central dans la santé des arbres. Le rôle de l'acide jasmonique dans l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne a été bien établi au cours des dernières décennies. Les champignons ECM sécrètent des effecteurs fongiques capables d'inactiver la voie de signalisation de l'acide jasmonique en désactivant l'action des facteurs de transcription de peuplier MYC2. Les résultats récents de notre groupe de recherche ont montré le contrôle direct de ces facteurs de transcription sur différents gènes du système immunitaire des plantes, y compris les gènes codant pour des terpènes synthases (Marqués-Gálvez et al., 2022). Dans ce projet, nous nous concentrons sur le rôle des terpènes végétaux dans la formation de la symbiose ECM.

### **Objectifs** —

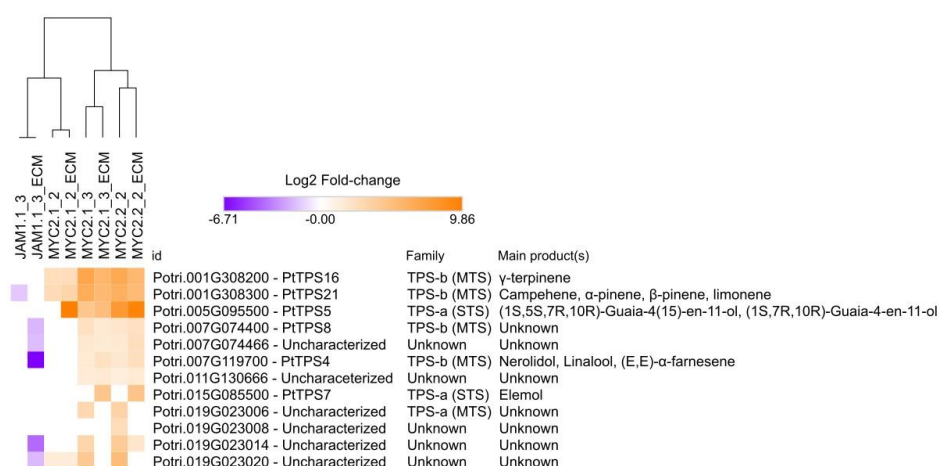
Le principal objectif de ce projet est d'élucider les rôles des terpènes émises par les racines dans le dialogue moléculaire entre les racines et les champignons ECM. Plus spécifiquement, nous proposons d'étudier les différences de « terpénome » entre les lignées de peupliers sauvages et transgéniques présentant une altération dans l'établissement de la symbiose ectomycorhizienne et dans la voie de signalisation médiée par les jasmonates (JA). Ainsi, nous mettrons en évidence des terpènes spécifiques régulés par la voie de signalisation JA et pouvant jouer un rôle dans la communication moléculaire entre les arbres et les champignons ECM.

## Démarche —

Dans ce projet, qui débutera en mars 2023, nous tenterons de mesurer le profil d'émission de composés volatils (dont les terpènes) des racines de peuplier transgénique surexprimant le facteur de transcription MYC2 et de le comparer à celui des peupliers témoins contrôles. Les lignées surexprimant MYC2 ont déjà montré une altération de la colonisation fongique *in planta* accompagnée de la surexpression de 12 gènes codant des terpènes synthèses. Nous cherchons donc à identifier le profil spécifique de terpènes lié à ce phénotype « altération de la symbiose ECM ». Les terpènes volatils produits par les différents génotypes de peuplier seront captés à l'aide de tubes en PDMS placés dans les boîtes de Pétri et analysés en chromatographie en phase gazeuse couplée à de la spectrométrie de masse (GC-MS) pour les identifier.

## Résultats marquants

- Le projet débutera en mars 2023, lorsqu'un chercheur postdoctoral rejoindra notre équipe pour effectuer l'expérience décrite précédemment. Par conséquent, aucun résultat principal n'a encore été obtenu
- Comme résultat préliminaire, la Fig. 1 montre le schéma d'expression des gènes codant des terpènes synthèses dans les lignées de surexpression de MYC2. Basé sur une revue de la littérature, les terpènes produits par ces enzymes est également indiqué.



**Figure 1. Terpene synthase expression profile in MYC2 overexpression lines, their family affiliation and their hypothetical products according to *in silico* analyses and literature review.** Heatmaps depicts the log<sub>2</sub> foldchange of poplar terpene synthase genes in MYC2 or JAM1 overexpression lines compared to empty vector controls. TPS = Terpene synthase; MTS = Monoterpene synthase; STS = sesquiterpene synthase.

## Principales conclusions incluant des points-clés de discussion —

À notre connaissance, jusqu'à 21 gènes de terpène synthèses (TPS) ont été caractérisés chez le peuplier *P. trichocarpa* (Danner et al., 2011; Irmisch et al., 2015; Lackus et al., 2018, 2021). La production de monoterpène volatils tels que l'α-pinène, le β-pinène, le camphène, le limonène ou le γ-terpinène a été démontré. De plus, nous avons précédemment démontré que l'application exogène de certains d'entre eux peut entraîner l'arrêt de la croissance fongique et l'altération de la formation de l'ECM (Marqués-Gálvez et al., 2020). Le génome de *P. tremula x alba*, qui est l'espèce végétal utilisée dans cette expérience, contient un total de 76 gènes TPS prédits (38 haplotype *tremula* et 38 haplotype *alba*) qui partagent un degré élevé de similarité avec les gènes de *P. trichocarpa*. Une attention particulière devra être accordée à l'étude du profil volatil des lignées MYC2OE de *P. tremula x alba*, ce qui peut nous permettre de découvrir quels sont les synthèses de terpènes spécifiques qui participent à ce processus. Une caractérisation hétérologue supplémentaire dans *E. coli*, la levure ou les feuilles de *Nicotiana benthamiana* de certains de ces gènes peut être nécessaire pour confirmer la production de terpènes spécifiques, car des études antérieures ont montré qu'une seule différence d'acide aminé peut conduire à différents produits (Irmisch et al., 2015; Lackus et al., 2018).

## Perspectives —

Cette étude pourrait aboutir à identifier des terpènes impliqués dans la communication entre champignons ECM et arbre hôte, et peut-être plus généralement dans la communication arbre-microorganismes du sol. Les gènes candidats identifiés pourront être caractérisés plus finement *in planta*. Les futures recherches se concentreront sur la manière dont les terpènes émis par les racines contrôlent les interactions mutualistes souterraines, mais aussi l'établissement plus général d'un microbiote rhizosphérique bénéfique.

### Valorisation —

Le projet démarrant en mars 2023, aucun résultat marquant n'a encore été diffusé dans des conférences, des congrès ou des articles de recherche. Des résultats préliminaires ont été présentés lors de la réunion MoDiP (Dialogue moléculaire dans les interactions biotiques des plantes) 2022 et de la journée postdoctorale du LABEX ARBRE 2022. Nous avons discuté de la configuration expérimentale et des résultats préliminaires *in silico* lors de réunions de groupe et avec des collaborateurs de l'Institut Max Planck de Jena en Allemagne.

### Effet levier du projet —

L'obtention du projet TERPECM a facilité une collaboration avec un groupe de l'Institut Max Planck d'écologie chimique de Jena (Allemagne), l'embauche d'un chercheur postdoctoral pendant 6 mois, ainsi que l'obtention de projets externes supplémentaires, y compris la récente obtention d'un poste de chercheur à l'Université de Murcia (Espagne) par José Eduardo Marqués-Gálvez.

### References

- Danner H, Boeckler GA, Irmisch S, Yuan JS, Chen F, Gershenzon J, ..., Köllner TG (2011). Four terpene synthases produce major compounds of the gypsy moth feeding-induced volatile blend of *Populus trichocarpa*. *Phytochemistry*, 72(9), 897-908.
- Irmisch S, Jiang Y, Chen F, Gershenzon J, Köllner TG (2014). Terpene synthases and their contribution to herbivore-induced volatile emission in western balsam poplar (*Populus trichocarpa*). *BMC Plant Biology*, 14(1), 1-16.
- Lackus ND, Lackner S, Gershenzon J, Unsicker SB, Köllner TG (2018). The occurrence and formation of monoterpenes in herbivore-damaged poplar roots. *Scientific Reports*, 8(1), 1-13.
- Lackus ND, Morawetz J, Xu H, Gershenzon J, Dickschat JS, Köllner TG (2021). The Sesquiterpene Synthase PtTPS5 Produces (1 S, 5 S, 7 R, 10 R)-Guaia-4 (15)-en-11-ol and (1 S, 7 R, 10 R)-Guaia-4-en-11-ol in Oomycete-Infected Poplar Roots. *Molecules*, 26(3), 555.
- Marqués-Gálvez JE, Basso V, Kohler A, ..., Veneault-Fourrey C (2022). The establishment of *Populus x Laccaria bicolor* ectomycorrhiza requires the inactivation of MYC2 coordinated defense response with a key role for root terpene synthases. *bioRxiv*, 2022-09.