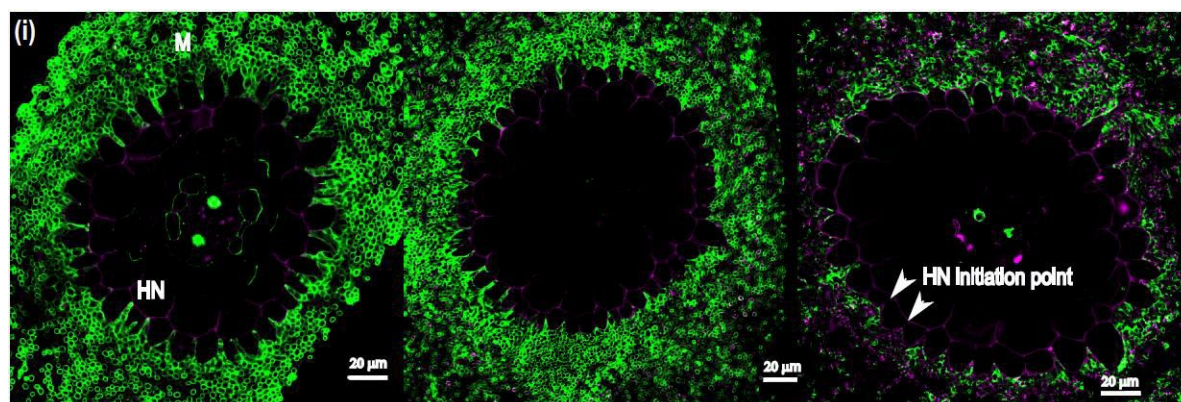


TERPECM



Monoterpenes affect ectomycorrhizal formation in a time-dependent manner. Representative confocal microscopy images of transversal sections of poplar roots at 21 days post inoculation (dpi) with *L. bicolor*, treated with a monoterpene mix including γ -terpinene, (-) limonene, (-) camphene, (-) α -pinene, and (-) β -pinene. Analysis of control (left), monoterpene mix added at 14 dpi (center) and at 7 dpi (right) treatments show that these monoterpenes impact the formation of hartig net (HN) when applied early in the interaction. Propidium iodide (magenta) stains the root cell wall, while AlexaFluor WGA-488 (green) stains the fungal cell wall. Bars: 20 μ m.

Décryptage du rôle des terpènes végétaux dans la modulation de la symbiose ectomycorhizienne

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

Partenaires Labex : Claire Veneault-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 now at Lehrstuhl für Pharmazeutische Biologie, Julius-von-Sachs-Institut für Biowissenschaften, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Julius-von-Sachs-Platz 2, Würzburg, 97082, Deutschland)

Action thématique concernée : WP1

Contexte —

Parmi les interactions bénéfiques entre les arbres et les microbes, l'association entre les champignons ectomycorhiziens (ECM) et les racines des arbres suscite l'intérêt en raison du rôle prépondérant de ces symbioses dans la santé des arbres et des écosystèmes forestiers. 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 du peuplier MYC2. Ici, nous nous concentrons sur le rôle des activateurs de transcription MYC2 de la plante hôte et des gènes sous son contrôle, tels que les synthèses de terpènes, dans le développement de la symbiose ECM.

Objectifs —

Dans ce projet, notre objectif était d'élucider la contribution des facteurs de transcription MYC2 du peuplier et des gènes contrôlés directement ou indirectement par MYC2 à l'établissement de la symbiose ECM avec *Laccaria bicolor*. Comme les résultats préliminaires ont indiqué l'importance du contrôle exercé par MYC2 sur les synthèses de terpènes, nous avons également cherché à étudier l'effet des terpènes exogènes sur la croissance fongique et la symbiose ECM. De plus, nous avons analysé les profils de terpène émis par le peuplier sauvage ou transgéniques présentant une formation altérée de la symbiose ECM.

Démarche —

Des peupliers transgéniques surexprimant ou réprimant les deux paralogues de MYC2 ont été produits, et leur capacité à établir une symbiose ectomycorhizienne a été évaluée. Nous avons associé ces analyses à la transcriptomique et au séquençage par purification d'affinité de l'ADN. Nous avons également tenté d'identifier les terpènes volatils racinaires en utilisant une unité de désorption thermique (TDU) couplée à une analyse GC-MS, ainsi qu'une extraction à l'hexane suivie d'une analyse GC-MS.

Résultats marquants —

- Les facteurs de transcription MYC2s du peuplier interviennent dans la croissance fongique dedans la plante, car sa surexpression inhibe la formation du réseau d'Hartig, tandis que son silencing entraîne une sur-colonisation fongique.
- L'inhibition de la croissance fongique *in planta* entraînée par la surexpression de MYC2 est associée à la sur-expression d'un groupe de gènes de défense présentant un enrichissement significatif de synthèses de terpènes.
- Certaines synthèses de monoterpènes, dont le γ -terpinène, le (-) limonène, le (-) camphène, le (-) α -pinène et le (-) β -pinène, sont capables d'inhiber la croissance fongique des champignons ECM et endophytes, ainsi que la croissance fongique dedans la plante de manière dépendante du temps. Malgré nos tentatives, aucun terpène volatil n'a pu être identifié dans les mutants surexprimant MYC2.
- MYC2.1 et MYC2.2 du peuplier contrôlent directement l'expression de plusieurs autres facteurs de transcription ainsi que des gènes de défense, y compris certaines synthèses de terpènes importantes, telles que *TPS16* ou *TPS4*.

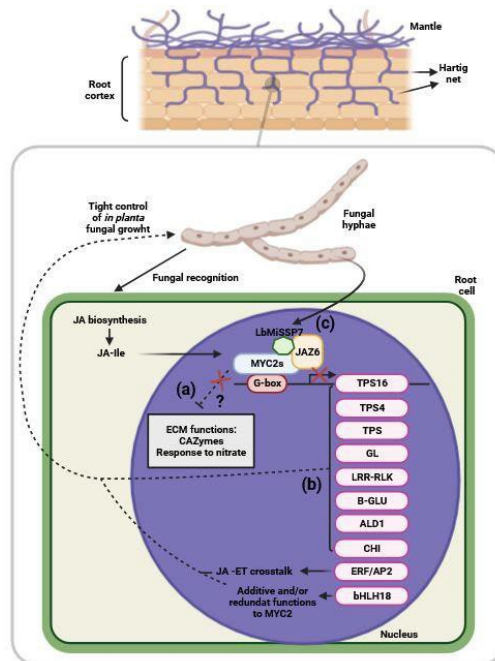


Figure 2. Proposed working model of action for *Populus* MYC2 transcription factors during ectomycorrhiza (ECM) development.

Principales conclusions incluant des points-clés de discussion —

Les résultats de ce projet soulignent le rôle significatif des facteurs de transcription MYC2 en tant que régulateurs de la symbiose ECM mutualiste dans le peuplier, et nous permettent d'étendre notre modèle précédemment proposé sur l'interaction entre *L. bicolor* et *Populus* sp. (Martin et al., 2016) (Fig. 2). Pour établir avec succès la symbiose ECM, l'effecteur fongique *LbMiSSP7* pénètre dans les cellules racinaires et migre vers le noyau.



En présence de JA-Ile, il se lie et stabilise le co-récepteur JA PtaJAZ6, empêchant sa dégradation et contrecarrant l'activité des PtaMYC2s décrite dans ce travail (Fig. 2a, Plett et al., 2011, 2014 ; Daguerre et al., 2020). En utilisant des peupliers transgéniques, nous avons montré que les deux paralogues de PtaMYC2 coordonnent la reprogrammation transcriptionnelle des cellules racinaires, aboutissant à un contrôle étroit de la croissance fongique *in planta*. D'un côté, ces facteurs de transcription activent directement l'expression d'autres facteurs de transcription et de gènes spécifiques liés à la défense, avec un rôle prédominant pour les synthèses de terpènes (Fig. 2b). D'un autre côté, ils induisent une régulation négative indirecte des fonctions ECM (c'est-à-dire le métabolisme de la paroi cellulaire et le transport de nitrate) par un mécanisme inconnu (Fig. 2c).

Perspectives —

Ces découvertes contribuent à notre compréhension fondamentale de la symbiose ECM et des interactions entre les plantes et les microbes. Ils ouvrent également de nouvelles questions de recherche sur la manière dont les défenses racinaires arbitrent entre maintenir la stabilité des interactions mutualistes souterraines et une bonne résistance aux maladies.

Valorisation —

Les résultats de ce projet ont été publiés dans *New Phytologist* (Marqués-Gálvez et al., 2024), ainsi que lors de plusieurs présentations orales à la réunion MoDiP (Dialogue moléculaire dans les interactions biotiques des plantes) en 2022 et à la journée « doctorants-post-doctorants » LABEX ARBRE en 2022. Ces résultats ont également été soumis pour présentation orale ou poster à l'ICOM12 (Conférence internationale sur les mycorhizes), qui se tiendra à Manchester en août 2024.

Effet levier du projet —

L'obtention du projet TERPECM a facilité une collaboration avec un groupe de l'Institut Max Planck d'écologie chimique à Jena (Allemagne), le recrutement d'un chercheur postdoctoral pour une durée de 6 mois (Gaurav Pandharikar), ainsi que l'obtention de projets externes supplémentaires, incluant un poste de chercheur à l'Université de Murcie (Espagne) pour Jose Eduardo Marqués-Gálvez.