



INSTITUT DE FRANCE
Académie des sciences

Comptes Rendus

Biologies


Jean Weissenbach and Bernard Dujon

Hijacking, arms race, GMOs and pesticides

Volume 344, issue 3 (2021), p. 203-207

<<https://doi.org/10.5802/crbio.58>>

© Académie des sciences, Paris and the authors, 2021.
Some rights reserved.

 This article is licensed under the
CREATIVE COMMONS ATTRIBUTION 4.0 INTERNATIONAL LICENSE.
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



*Les Comptes Rendus. Biologies sont membres du
Centre Mersenne pour l'édition scientifique ouverte*
www.centre-mersenne.org



News and Views / *C'est apparu dans la presse*

Hijacking, arms race, GMOs and pesticides

Détournement, course aux armements, OGM et pesticides

Jean Weissenbach^{®*}, ^a and Bernard Dujon[®] ^b

^a Génomique Métabolique, Genoscope, Institut François Jacob, CEA, CNRS, Univ Evry, Université Paris-Saclay, F91000 Evry, France

^b Sorbonne Université, Paris & Département “Genomes and Genetics”, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux, F75015 Paris, France

E-mails: Jean.Weissenbach@genoscope.cns.fr (J. Weissenbach), bernard.dujon@pasteur.fr (B. Dujon)

Keywords. Phenolic glycosides, Malonylation, Horizontal gene acquisition, RNA interference, Transgenesis, Culture damage control.

Mots-clés. Glycosides phénoliques, Malonylation, Acquisition horizontale de gène, Interférence ARN, Transgénése, Contrôle des dégâts aux cultures.

Manuscript received 21st June 2021, accepted 28th June 2021.

A recent discovery assembles a cocktail of present days Anthropocene evils so much popularized by green activists and the media. But in this case it is not a new ecological scourge caused by irresponsible humans, it is all-natural! Actors are known and the scenario, not totally unprecedented, demonstrates once more that Nature crosses interkingdom barriers with no regard to the precautionary principle. A bug causing damages to various cultures in tropical and subtropical areas and present in greenhouses of temperate areas, the whitefly *Bemisia tabaci*, has acquired a plant gene whose product specifically neutralizes plant defence toxins [1].

To fully appreciate the significance of this phenomenon, one should recall that plants have coexisted and coevolved with their predators—notably

herbivorous insects—for about 400 million years during which they have developed a plethora of secondary metabolites that exert a wide range of toxic effects on their aggressors. Among these secondary metabolites, phenolic glycosides are very widespread among plants and form a very large and chemically heterogeneous group. Flavonoid phenolic glycosides are one of the largest subgroups including more than 6000 molecules. The function of these secondary metabolites can be modulated by additional chemical changes, notably acylations, which may alter their solubility, stability, vacuolar uptake, transport, storage etc. Malonylation is one of these frequent acylations and is found in a wide range of plant species where its physiological significance remains to be defined [2].

At that stage, *Bemisia tabaci* (a member of the Aleyrodidae family among Hemiptera insects, known as whitefly) flies in. It was first described in tobacco

* Corresponding author.

cultures in Greece, but feeds on a wide range of plants (over 600 species) including many crops and is a notorious vector of viral plant diseases. Many of its natural hosts produce phenolic glycosides which seem harmless to the whitefly.

A bioinformatics analysis, performed by Xia and co-workers [1] has now shown that the *B. tabaci* genome harbours a processed copy of a *BtPMT1* gene, similar to many eukaryotic pseudogenes. *BtPMT1* encodes a glucoside malonyl transferase and is framed by two typical arthropod serine protease genes. The same gene organization is found in the genome of another representative of the *Bemisia tabaci* species complex. However, the *BtPMT1* gene was not found in the genome of another whitefly belonging to the genus *Trialeurodes* (*T. vaporariorum*) which is also part of the Aleyrodidae family. Sequences of a *BtPMT1* product could only be detected in plant and fungal protein databases. Sequence similarity searches and some other analyses indicate that the *BtPMT1* gene of *B. tabaci* has been horizontally acquired from plants [1].

The *BtPMT1* gene is actively expressed in the whitefly and its translation product catalyses the malonylation of several phenolic glycosides, notably flavonoid glycosides, conferring a very strong protection to *B. tabaci* against the host defence. This is an additional example showing that the modification of secondary metabolites by enzymatic transformation is a strategy of choice to inactivate plant toxins [3]. But the originality here is that the predator hijacked a gene of its prey to protect its predation. Xia *et al.* hypothesize that malonylation could promote solubilisation and export of the ingested phenolic glycosides and/or prevent liberation of the possibly more toxic aglycone part of the glycoside [1]. They also suggest that *BtPMT1* might act on a broader spectrum of glycoside compounds. A number of open questions remain about the mode of action of these flavonoid glucosides and deserve further investigations.

This is one of the first examples of a gene transferred from a plant to an animal. How and when *B. tabaci* became a genetically modified organism (GMO) is essentially a matter of speculation. Like in the many cases of horizontally acquired genes that have now been described from genome analysis, the molecular mechanism of gene transfer can only be tentatively deduced from its peculiarities in the recipient genome. Here, the processed structure

of *BtPMT1* strongly suggests that it resulted from retrotranscription of a mature mRNA from the original host plant. What could be the frequency of such events? Also retrotranscription is just one piece of the puzzle. The species that contributed the gene originally transferred is unknown. Since *BtPMT1* has only been found in the genome of *Bemisia tabaci* so far it is suggested that it has been acquired after its splitting from *Trialeurodes* that is estimated to some 86 Mya ago. A narrower dating based on analysis of more closely related species should be possible and, to better trace its origin, closer homologs of the plant *BtPMT1* may be found in a selection of the wide variety of *B. tabaci* host plants.

Amazingly the other known example of plant/insect HGT occurred also in the same group of whiteflies [4]. In this latter case the transferred gene is a ribosomal inactivating protein (RIP). The gene comprises one or two introns and is found in the related whitefly genus *Trialeurodes*. This indicates an earlier HGT event and suggests a different mode of gene transfer. In both instances gene duplications yielding one or a few copies of paralogs were observed as in many other HGT instances [5]. In the *BtPMT1/BtPMT2* gene duplication, some additional information on the age of the event and on the genomic location of the other copies could be of interest and, in particular, their possible distribution in other insect species in relationship with their plant host range.

Genome sequences from substantial parts of the tree of life have accumulated since the mid-nineties. It enabled scientists to observe an increasing number of examples of horizontal transfer of genetic material. Whereas the first examples of HGT in prokaryotes were expected, they came as surprises in eukaryotes. They should probably become more routine in the future when the still numerous and wide gaps in sequence data from the tree of life become progressively reduced.

Trials using *BtPMT1* RNAi (RNA interference) in the form of double stranded (ds) hairpin RNA to control infections by the *Bemisia* whitefly have shown very encouraging results. Transgenic tomato plants expressing ds*BtPMT1* were obtained after application on tomato leaves of a hairpin dsRNA containing *BtPMT1* sequences. Such transgenic plants become protected against *B. tabaci* as seen by notable reduction of *BtPMT1* expression in adult whiteflies

feeding on transgenic plants. Moreover nearly 100% mortality was observed among whiteflies feeding on transgenic tomatoes. No lethal effect could be seen in control experiments testing non-target insects feeding on the same transgenic tomato plants, indicating an outstanding specificity towards *Bemisia tabaci*. A pest control strategy based on RNAi has been proposed earlier [6, 7], a number of successful trials have been reported and the first commercially RNAi based transgenics should become available in the forthcoming years [8]. Control over *Bemisia tabaci*

French version

Une récente découverte assemble un cocktail des maux actuels de l'Anthropocène tant popularisés par les militants verts et les médias. Mais dans ce cas, il ne s'agit pas d'un nouveau fléau écologique causé par des humains irresponsables, tout est naturel! Les acteurs sont connus et le scénario, pas totalement inédit, démontre une fois de plus que la Nature franchit les barrières entre grands règnes du vivant au mépris du principe de précaution. Un insecte causant des dommages à diverses cultures dans les zones tropicales et subtropicales et présent dans les serres des zones tempérées, l'aleurode *Bemisia tabaci*, a acquis un gène végétal dont le produit neutralise spécifiquement des toxines de défense des plantes [1].

Pour bien comprendre l'importance de ce phénomène, il faut rappeler que les plantes ont coexisté et co-évolué avec leurs prédateurs — notamment les insectes herbivores — depuis environ 400 millions d'années au cours desquelles elles ont développé une pléthore de métabolites secondaires qui exercent une large gamme d'effets toxiques sur leurs agresseurs. Parmi ces métabolites secondaires, les glycosides phénoliques sont très répandus parmi les plantes et forment un groupe très vaste et chimiquement hétérogène. Les glycosides phénoliques flavonoïdes constituent l'un de ces plus grands sous-groupes comprenant plus de 6000 molécules. La fonction de ces métabolites secondaires peut être modulée par des changements chimiques supplémentaires, notamment des acylations qui peuvent modifier leur solubilité, leur stabilité, leur absorption vacuolaire, leur transport, leur stockage, etc. La malonylation est l'une de ces acylations fréquentes et se retrouve dans une large gamme d'espèces végétales où sa signification physiologique reste à définir [2].

aggression seemed easy to achieve, without earlier difficulties of dsRNA delivery that were reported in the case of plant-sap-feeding insects. Inactivating a gene which protects the pest against host defence may be part of the explanation. As the authors suggest, examples of similar genes acquired through HGT may be found in other pest genomes and used as targets in an RNAi based silencing strategy [1]. But more generally biological pest control will benefit from this type of knowledge advancement and gain in versatility, specificity, efficiency and safety.

C'est à ce stade qu'apparaît *Bemisia tabaci* (un membre de la famille des Aleyrodidae parmi les insectes hémiptères, connu sous le nom d'aleurode du tabac ou mouche blanche). Il a été décrit pour la première fois dans des cultures de tabac en Grèce, mais se nourrit d'une large gamme de plantes (plus de 600 espèces), y compris de nombreuses espèces cultivées, et est un vecteur notoire de maladies virales des plantes. Beaucoup de ses hôtes naturels produisent des glycosides phénoliques qui semblent inoffensifs pour l'aleurode.

Une analyse bio-informatique, réalisée par Xia et ses collaborateurs [1], a montré que le génome de *B. tabaci* contient une copie épissée d'un gène *BtP-MaT1*, ressemblant à de nombreux pseudogènes eucaryotes. *BtP-MaT1* encode une glucoside-malonyl transférase et est encadré par deux gènes de sérine protéase typiques des arthropodes. La même organisation génétique se retrouve dans le génome d'un autre représentant du complexe d'espèces *Bemisia tabaci*. Cependant, le gène *BtP-MaT1* n'a pas été retrouvé dans le génome d'un autre aleurode appartenant au genre *Trialeurodes* (*T. vaporarium*) qui fait également partie de la famille des Aleyrodidae. Les séquences de produits de *BtP-MaT1* n'ont pu être détectées que dans des bases de données de protéines végétales et fongiques. Des recherches de similarité de séquence et d'autres analyses indiquent que le gène *BtP-MaT1* de *B. tabaci* a été acquis horizontalement à partir de plantes [1].

Le gène *BtP-MaT1* est activement exprimé chez l'aleurode et son produit de traduction catalyse la malonylation de plusieurs glycosides phénoliques, notamment des glycosides flavonoïdes, conférant une très forte protection à *B. tabaci* contre la défense

de l'hôte. C'est un nouvel exemple montrant que la modification de métabolites secondaires par transformation enzymatique est une stratégie de choix pour inactiver les toxines végétales [3]. Mais l'originalité ici est que le prédateur a détourné un gène de sa proie pour assurer sa prédation. Xia *et al.* font l'hypothèse que la malonylation pourrait favoriser la solubilisation et l'exportation des glycosides phénoliques ingérés et/ou empêcher la libération de la partie aglycone du glycoside, probablement plus toxique [1]. Ils suggèrent également que *BtPMT1* pourrait agir sur un spectre plus large de composés glycosidiques. Un certain nombre de questions restent ouvertes sur le mode d'action de ces glucosides flavonoïdes et méritent des investigations supplémentaires.

Il s'agit de l'un des premiers exemples de transfert de gène d'une plante à un animal. Comment et quand *B. tabaci* est-il devenu un organisme génétiquement modifié (OGM), cela reste du domaine de la spéculation. Comme dans de nombreux cas de gènes acquis horizontalement décrits à partir de l'analyse de génomes, le mécanisme moléculaire du transfert de gènes ne peut qu'être déduit hypothétiquement de ses particularités dans le génome receveur. Ici, la structure épissée de *BtPMT1* suggère fortement qu'elle résulte de la rétrotranscription d'un ARNm mature provenant de la plante hôte d'origine. Quelle pourrait être la fréquence de tels événements? De plus, la rétrotranscription n'est qu'une pièce du puzzle. L'espèce d'origine du gène transféré est inconnue. Comme *BtPMT1* n'a été trouvé que dans le génome de *Bemisia tabaci*, jusqu'à présent il est suggéré qu'il a été acquis après sa séparation d'avec *Trialeurodes* qui est estimée à environ 86 Mya. Une datation plus fine s'appuyant sur l'analyse d'espèces plus proches devrait être possible et, pour mieux retracer son origine, des homologues plus proches du gène *BtPMT1* de *B. tabaci* pourraient être recherchés dans un échantillon choisi parmi ses plantes hôtes.

Il est surprenant de constater que l'autre exemple connu de transfert génétique horizontal (HGT) plante/insecte s'est également produit dans le même groupe d'aleurodes [4]. Dans ce dernier cas, le gène transféré est une protéine d'inactivation des ribosomes (RIP). Le gène comprend un ou deux introns et se trouve dans le genre d'aleurode *Trialeurodes*. Cela indique un événement HGT antérieur et suggère un mode différent de transfert de gènes. Dans

les deux cas, des duplications donnant naissance à une ou quelques copies de gènes paralogues ont été observées comme dans de nombreux autres cas de HGT [5]. Dans le cas de la duplication du gène *BtPMT1/BtPMT2*, des informations supplémentaires sur l'âge de l'événement et l'emplacement génomique des autres copies pourraient être intéressantes, en particulier, leur distribution possible dans d'autres espèces d'insectes en relation avec leur gamme d'hôtes végétaux.

Les séquences génomiques de parties importantes de l'arbre évolutif du vivant se sont accumulées depuis le milieu des années 90. Cela a permis aux scientifiques d'observer un nombre croissant d'exemples de transfert horizontal de matériel génétique. Alors que les premiers exemples de HGT chez les procaryotes étaient attendus, leur observation fut plus surprenante chez les eucaryotes. De tels exemples devraient probablement devenir plus courants à l'avenir, lorsque les lacunes encore nombreuses et importantes dans les données de séquences de l'arbre du vivant seront progressivement réduites.

Des essais utilisant l'interférence ARN (ARNi) sur *BtPMT1* sous forme d'ARN bicaténaire en épingle à cheveux ont donné des résultats très encourageants pour lutter contre les infestations par l'aleurode *Bemisia*. Des plants de tomates transgéniques exprimant *dsBtPMT1* ont été obtenus après application sur des feuilles de tomates d'un ARN en épingle à cheveux contenant des séquences de *BtPMT1*. Ces plantes transgéniques sont protégées contre *B. tabaci*, comme le montre la réduction notable de l'expression de *BtPMT1* chez les aleurodes adultes se nourrissant des plantes transgéniques. De plus, une mortalité de près de 100% a été observée chez les aleurodes se nourrissant de tomates transgéniques. Aucun effet létal n'a pu être observé dans les expériences de contrôle sur les insectes non ciblés se nourrissant des mêmes plants de tomates transgéniques, indiquant une spécificité exceptionnelle envers *B. tabaci*. Une stratégie de lutte contre les parasites s'appuyant sur l'interférence ARN a été proposée précédemment [6, 7], un certain nombre d'essais réussis ont été rapportés et les premières plantes transgéniques commerciales basées sur l'ARNi devraient être disponibles dans les années à venir [8]. Le contrôle de l'agression de *B. tabaci* a paru facile à réaliser, sans les difficultés de traitement par ARN

bicaténaire précédemment signalées dans le cas d'insectes se nourrissant de sève de plantes. L'inactivation d'un gène qui protège le ravageur contre la défense de l'hôte peut être une partie de l'explication. Comme le suggèrent les auteurs, des exemples de gènes similaires acquis par HGT pourraient être trouvés dans d'autres génomes de ravageurs et utilisés comme cibles dans une stratégie de protection basée sur l'ARNi [1]. Mais plus généralement, la lutte biologique contre les nuisibles bénéficiera de ce type d'avancée des connaissances et gagnera en polyvalence, spécificité, efficacité et sécurité.

References

- [1] J. Xia, Z. Guo, Z. Yang, H. Han, S. Wang, H. Xu, X. Yang, F. Yang, Q. Wu, W. Xie, X. Zhou, W. Dermauw, T. C. J. Turlings, Y. Zhang, "Whitefly hijacks a plant detoxification gene that neutralizes plant toxins", *Cell* **184** (2021), p. 1693-1705.
- [2] G. Taguchi, T. Ubukata, H. Nozue, Y. Kobayashi, M. Takahi, H. Yamamoto, N. Hayashida, "Malonylation is a key reaction in the metabolism of xenobiotic phenolic glucosides in Arabidopsis and tobacco", *Plant J.* **63** (2010), p. 1031-1041.
- [3] H. M. Heidel-Fischer, H. Vogel, "Molecular mechanisms of insect adaptation to plant secondary compounds", *Curr. Opin. Insect. Sci.* **8** (2015), p. 8-14.
- [4] W. J. Lapadula, P. L. Marcet, M. L. Mascotti, M. V. Sanchez-Puerta, M. Jury Ayub, "Whitefly genomes contain ribotoxin coding genes acquired from plants", *Sci. Rep.* **10** (2020), article no. 15503.
- [5] P. Xu, B. Lu, J. Liu, J. Chao, P. Donkersley, R. Holdbrook, Y. Lu, "Duplication and expression of horizontally transferred polygalacturonase genes is associated with host range expansion of mirid bugs", *BMC Evol. Biol.* **19** (2019), no. 1, article no. 12.
- [6] Y.-B. Mao, W.-J. Cai, J.-W. Wang, G.-J. Hong, X.-Y. Tao, L.-J. Wang, Y.-P. Huang, X.-Y. Chen, "Silencing a cotton bollworm P450 monooxygenase gene by plant-mediated RNAi impairs larval tolerance of gossypol", *Nat. Biotechnol.* **25** (2007), p. 1307-1313.
- [7] J. A. Baum, T. Bogaert, W. Clinton, G. R. Heck, P. Feldmann, O. Ilagan, S. Johnson, G. Plaetinck, T. Munyikwa, M. Pleau, T. Vaughn, J. Roberts, "Control of coleopteran insect pests through RNA interference", *Nat. Biotechnol.* **25** (2007), p. 1322-1326.
- [8] L. Shaffer, "Inner Workings: RNA-based pesticides aim to get around resistance problems", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **117** (2020), p. 32823-32826.