

## QUEL RÔLE JOUE LE FER DANS LA PATHOGÉNÈSE DES PLANTES ?

par Dominique Expert<sup>1</sup>

Les plantes constituent des habitats privilégiés pour une variété de micro-organismes car elles représentent une source importante de nutriments. Les plantes sont en particulier confrontées à des micro-organismes pathogènes, qui peuvent engendrer de nombreuses maladies et décimer des cultures lorsque les conditions de l'environnement sont permissives. Le développement de bactérioses engendrées par des espèces du genre *Erwinia* sur lesquelles nous travaillons au laboratoire, est par exemple sensible aux variations climatiques, comme des changements d'humidité et de température. Comprendre les mécanismes de pathogénie et d'immunité mis en oeuvre respectivement par le parasite et la plante hôte, aux niveaux physiologique et moléculaire, constitue une condition préalable à l'élaboration de nouvelles méthodes de phytoprotection. Une bactérie pathogène produit des facteurs de virulence lui permettant d'avoir accès aux nutriments et d'échapper aux défenses de l'hôte. Dans ce contexte, l'alimentation en fer représente un enjeu pour la bactérie, car cet élément est comme chez les autres organismes, un cofacteur essentiel de nombreuses réactions biochimiques et peu disponible dans les tissus biologiques. La connaissance des mécanismes d'acquisition du fer chez les bactéries pathogènes des vertébrés et des réponses de l'hôte visant la séquestration de ce métal lors de l'infection [9] nous a conduit à examiner cette question dans le cadre des études des interactions Plantes-*Erwinia*. Nos travaux ont pour objectifs de répondre aux interrogations suivantes : quels sont les mécanismes d'acquisition du fer mis en oeuvre par *E. chrysanthemi* lors de son cycle infectieux et, comment cette bactérie contrôle-t-elle son homéostasie du fer ? La disponibilité du fer chez la plante hôte est elle un signal perçu par la bactérie lui permettant de contrôler l'expression de ses facteurs de virulence ? Existe-t-il lors de l'infection, des réponses chez la plante permettant de carencer la bactérie en fer ?

Les sidérophores sont de petites molécules dont la taille peut atteindre environ 1200 daltons, produites par les micro-organismes et certaines graminées dans leur environnement, ayant une très forte affinité pour l'ion ferrique et dont la fonction est de rendre le fer assimilable par l'organisme qui le produit. En effet, le fer complexé au sidérophore est acheminé dans la cellule par un système de transport très spécifique. Le fer est ensuite rendu disponible pour les besoins cellulaires, à la suite d'une étape de réduction du complexe. Par des approches génétiques et biochimiques, nous avons identifié chez *E. chrysanthemi*, deux voies d'assimilation du fer mettant en jeu deux sidérophores de structure différente, la chrysobactine et l'achromobactine [2, 3]. Pour chacune de ces voies, les gènes impliqués dans la biosynthèse du sidérophore et du transport sont regroupés sur le chromosome, formant des groupes fonctionnels soumis à une régulation coordonnée en réponse à la limitation en fer. Nous avons construit des mutants d'insertion affectés dans l'expression de ces gènes, qui sont donc incapables de produire ou de transporter l'un ou/et l'autre de ces sidérophores. Ces mutants sont affectés de manière différentielle en ce qui concerne leur propriété à croître en condition limitante en fer. Leur virulence est également considérablement diminuée sur les plantes hôtes testées telles que le saintpaulia, la plante modèle *Arabidopsis* et l'endive. En effet, cette bactérie infecte les tissus foliaires en pénétrant par les stomates et colonise les espaces intercellulaires. Grâce à la production d'enzymes pectinolytiques (pectate lyases, pectine méthyle estérases...) elle dégrade les pectines, constituant

---

<sup>1</sup> Interactions Plantes-Pathogènes, UMR INRA / INA P-G / UPMC, 16 rue Claude Bernard, 75005 Paris (France)  
Courriel: [expert@inapg.fr](mailto:expert@inapg.fr)

majeur de la lamelle moyenne de la paroi cellulaire, ceci conduisant à la désorganisation des tissus infectés et à sa dissémination dans les parties aériennes de la plante [7]. Les mutants non producteurs de sidérophores sont incapables de réaliser la totalité de ce cycle infectieux, indiquant que le fer n'est pas disponible aux sites d'infection [3].

Nous avons montré que l'expression des gènes impliqués dans les deux voies d'assimilation du fer, chrysobactine et achromobactine, est soumise à une régulation négative qui fait intervenir le répresseur transcriptionnel Fur [5], caractérisé chez *E. coli* [1]. Ce répresseur agit également comme senseur de la concentration intracellulaire en fer, ce qui conduit à une levée de répression des gènes soumis à sa régulation lorsque les quantités de fer deviennent limitantes. Nous avons observé que plusieurs gènes codant des pectinases ayant un rôle prédominant dans le pouvoir pathogène sont également contrôlés par la carence en fer, par l'intermédiaire de ce répresseur [4]. L'expression des gènes impliqués dans la pectinolyse est par ailleurs soumise à la répression par le régulateur transcriptionnel KdgR qui, en présence de composés pectiques est inactif et permet l'induction de cette voie dans la plante [8]. L'inducteur pectique majeur est le KDG (2-céto-3-désoxygluconate), dernier intermédiaire catabolique de la voie de la pectinolyse. Source de carbone pour la bactérie, ce composé permet également la dérégulation des systèmes d'acquisition du fer, par un mécanisme faisant intervenir le répresseur Fur, de manière directe ou indirecte [4]. L'ensemble de ces données démontre l'existence d'un couplage métabolique, permettant une expression coordonnée des gènes du transport du fer et de la pectinolyse, deux facteurs importants de la pathogénie.

L'activité transcriptionnelle de gènes peut être étudiée en fusionnant leurs promoteurs à des séquences de gènes rapporteurs codant des enzymes dont l'activité est mesurée ou repérée *in situ*, comme la  $\beta$ -galactosidase et la  $\beta$ -glucuronidase. Nous avons montré que le promoteur d'un opéron de gènes impliqué dans le transport et la biosynthèse de la chrysobactine est actif chez la bactérie après inoculation dans la plante, dans les dix heures qui suivent l'infection [6]. Réciproquement, nous avons observé chez les plantes d'*Arabidopsis* infectées par *E. chrysanthemi* une augmentation de l'activité transcriptionnelle d'un gène codant une ferritine ainsi que l'accumulation de transcrits correspondants. Les ferritines étant des protéines de stockage/séquestration du fer (voir présentation de J-F Briat), il semble donc probable qu'il existe chez la plante des mécanismes de rétention du fer en réponse à l'infection.

En conclusion, l'ensemble de ces données indique qu'il existe une compétition pour le fer entre la plante et la bactérie, lors du processus infectieux. Chez la plante, une analyse précise des événements déclenchés par la bactérie, par l'intermédiaire de ses facteurs de virulence comme la production de sidérophores, permettra de mieux comprendre comment le fer est mobilisé lors de l'infection.

#### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Escolar L., Pérez-Martin P, de Lorenzo V., 1999. – Opening the iron box : transcriptional regulation of the Fur protein. *J. Bacteriol.* **181**, 6223-6229.
- (2) Expert D, Rauscher L, Franza T., 2004. – *Erwinia*, a plant pathogen. In, Iron Transport in Bacteria. J-H Crosa, AR Mey and SM Payne (Eds), ASM Press, Washington D.C., pp. 402-412.
- (3) Franza, T, Mahé, B, Expert, D. 2004. – *Erwinia chrysanthemi* requires a second iron transport route dependent of the siderophore achromobactin for extracellular growth and infection. *Mol. Microbiol.* sous presse.

- (4) Franza T., Michaud-Soret I, Piquerel I, Expert D., 2002. – Coupling of iron assimilation and pectinolysis in *Erwinia chrysanthemi* 3937. ***Mol. Plant-Microbe Interact.*** **15**, 1181-1191.
- (5) Franza T, Sauvage C, Expert D., 1999. – Iron regulation and pathogenicity in *Erwinia chrysanthemi* 3937: role of the Fur repressor protein. ***Mol. Plant-Microbe Interact.*** **12**, 119-128.
- (6) Masclaux C, Expert D., 1995. – Signalling potential of iron in plant-microbe interactions : the pathogenic switch of iron transport in *Erwinia chrysanthemi*, ***Plant. J.*** **7**, 121-128.
- (7) Murdoch L, Corbel J-C, Reis D, Bertheau Y, Vian B., 1999. – Differential cell wall degradation by *Erwinia chrysanthemi* in petiole of *Saintpaulia ionantha*. ***Protoplasma*** 210:59-74.
- (8) Nasser W, Reverchon S, Robert-Baudouy J., 1992. – Purification and functional characterization of the KdgR protein, a major repressor of pectinolysis genes of *Erwinia chrysanthemi*. ***Mol. Microbiol.*** **6**, 257-265.
- (9) Weinberg E.D., 2000. – Modulation of intramacrophage iron metabolism during microbial cell invasion. ***Microbes and Infection***, **2**, 85-89.