



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

قسم : البيولوجيا و علم البيئة النباتية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : *Biotechnologie et Génomique Végétale*

Intitulé :

Identification des gènes associés à la sénescence foliaire chez le blé

Présenté et soutenu par : *BOURAGHDA manel*

Le : 09/07/2020

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : YKHEF N. (Professeur - UFM Constantine).

Encadrant : BOUSBAA R. (MCA - UFM Constantine).

Examinatrice : MOUELLEF A. (MCB.- UFM Constantine).

*Année universitaire
2019 – 2020*

Dédicace

A mes très chers parents source de vie, d'amour et d'affection

*Maman quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurer pointe de te remercier comme il te faut.
ton affection me couvre, ta bienveillance me guide , tes prières me sauve , et ta présence à
mes coté à été toujours une source de force pour affronter les obstacles de la vie . que dieu
vous donne santé, et tous le bonheur du monde*

*Mon très cher papa merci et mille merci pour tes sacrifices, tu as été toujours à mes cotés
pour me soutenir et m'encourager, tu es ma force et mon pilier dans la vie*

*A ma grande mère maternelle adorée, merci pour tout l'amour que vous m'avez donné, je te
souhaite une bonne santé*

A mes frères maamar , salim et abd el karim et mes sœurs Abla et zineb

A mes beaux frères Ali et soufian et mes belles sœurs hayat et hassna

*A mes petits choux, source de bonheur et de joie Ayoub , balssem , joury ,abd el mouiz , abd
el rahman et la petite de la famille yassmin*

A mes tantines et mes tontons, mes cousins et cousines merci pour tous vos encouragements

A ma grande famille

A mes collègues et ami(e)s

Remerciements

J'adresse mes plus vifs remerciements à mon encadrant M^{me} BOUSBAA RATIBA pour sa prise en charge, ses conseils, sa disponibilité ainsi que sa patience lors de la réalisation de ce mémoire.

Je tiens également à remercier, le Pr. YKHLEF NADIA , de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury,

Mes sincères remerciements pour M^{elle} MOUELLEF ADRA pour pouvoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements vont aussi pour Mr DJEKOUN .A, Mr KELLOU K., Mr TEMAGOULT M. Mr BENBELKACEM A. et toute l'équipe pédagogique ainsi que l'ensemble de l'équipe de laboratoire génétique , biochimie , et biotechnologie végétale (GBBV)

Je remercie également toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Liste des abréviations :

ABA :	l'acide abscissique	PAO :	Pheophorbide A Oxygénase
AJ :	Acide jasmonique	PAS :	structure pré-autophagosomique
AMF :	champignons mycorhiziens arbusculaires	PSI :	photosysteme I
ARC :	changements liés à l'âge	PSII :	photosysteme I
AS :	Acide salicylique	RCB :	corps contenant du Rubisco
ATG :	les gènes associés à l'autophagie	RE :	réticulum endoplasmique
AUX :	auxine	ROS :	espèces réactives d'oxygène
CAT :	catalase	SAG :	senescence associated gens
CK :	cytokinine	SDG :	senescence down regulated gene
DEG :	gènes exprimés différemment	UPR :	réponse des protéines dépliées
FT :	facteur de transcription	WGCNA :	weighted correlation network analysis
GA :	gibbérellines	Z :	zeatin ,
GFP :	green fluorecent protein	ZR :	zeatin riboside (ZR),
MCP :	mort cellulaire programmé		

Liste des figures

Figure 1: les principaux facteurs internes et externe qui régulent le développement de la feuille (Guiboileau <i>et al.</i> , 2010):.....	04
Figure 2: Le réseau des gènes associés à la sénescence EIN3 (Schippers, J. H et al., 2015)	10
Figure 3: Un modèle provisoire de régulation de la sénescence des feuilles par l'intégration des signaux environnementaux et de développement (Rubina J. et al ., 2013).....	14
Figure 4: La "voie pheophorbidea (PAO)" de dégradation de la chlorophylle dans les feuilles sénescentes (Hortenseiter et Feller , 2002)..	16
Figure 5: la voie ubiquitine protéasome (Etienne, 2001).	18
Figure 6 : Principales phases et principaux acteurs de la dégradation des lipides pendant la sénescence foliair (Troncoso-Ponce <i>et al.</i> , 2013)..	19
Figure 7: Schéma de l'expression différentielle des gènes SAGs et SDGs durant le développement de la feuille(Gan et Amasino, 1997).	22
Figure 8: les réseaux transcriptionnels contrôlant la sénescence développementale chez les plantes. (schispper , 2015)	23
Figure 9: Réseaux transcriptionnels contrôlant l'apparition de la sénescence en réponse à l'environnement (schipper ,2015)	25
Figure 10: le Phénotype ' stay-green' par rapport au processus de recyclage et de transport des nutriments .(Bengoa Luoni, S <i>et al.</i> , 2019).....	36
Figure 11: Expression relative des gènes liés à la sénescence, à la biosynthèse de la CK, au transport de l'azote et à la synthèse des acides aminés.(Wenqiang Wanga et al., 2019)	42
Figure 12: Le diagramme des mécanismes potentiels de la MEL sur l'amélioration du rendement des grains de blé, basé sur les études actuelles et précédentes (Jun Ye et al., 2020).	46
Figure 13 : Les étapes morphologiques de la microautophagie et de la macroautophagie chez les plantes .Richard S. Marshall et Richard D. Vierstra , 2018).....	49
Figure 14: Représentation schématique de l'autophagie chez Arabidopsis (Yang, X. et Bassham, D. C, 2015).	51

Figure 15: Représentation schématique de l'autophagie spécifique aux organelles. (Xiaochen Yang et Diane C. Bassham , 2015)	57
Figure 16: Un modèle putatif des mécanismes de la mitophagie dans les plantes. (Martyna Broda <i>et al.</i> , 2018).....	59
Figure 17: schéma représentatif du Chlorophagie. (Richard S. Marshall et Richard D. Vierstra , 2018).....	61
Figure 18: Modèle hypothétique de la dégradation autophagique des protéines du stroma dans les feuilles sénescents. (Liliana Avila-Ospina et al., 2014).....	62

Liste des tableaux

Tableau 1 : les gènes candidats divisés sur quarts modules (Yongli Luo et al., 2019)..... 31

Tableau 2: Résumé des facteurs de transcriptions impliqués dans la sénescence des feuilles chez le blé (Bengo Luoni, S., 2019).L'expression et les annotations fonctionnelles sont répertoriées. Les orthologues putatives ont été obtenues via BLASTp à partir de la base de données NCBI. 39

Tableau 3: Comparaison des complexes d'autophagie de la levure et d'Arabidopsis (Yoshimoto, 2012)..... 55

Liste des annexes

Annexe 1 : Les gènes candidats correspondant aux MTA (Associations significatives de traits marqueurs) identifiés dans cette étude comme étant associés à la capacité des racines de blé à établir une symbiose mycorhizienne à arbuscules, et les QTL liés à ce caractère, provenant de la littérature, sont cartographiés dans les mêmes régions chromosomiques. (De Vita, P et al., 2018)

ANNEXE 2 : caractéristiques de quelques ATG gènes putatifs chez le blé (Wenjie Yuea *et al.*, 2018)

Annexe 3 : Liste des inhibiteurs et des activateurs les plus utilisés dans l'étude de l'autophagie chez les plantes (Richard S. Marshall et Ricard D Viersta, 2018)

Annexe 4 : conservation of mitophagy compenet in plant with yeast and animals (Maryta Broda et al., 2018)

Résumé :

Le vieillissement, aussi appelé sénescence, a une fonction biologique chez les plantes. Cette fonction de la sénescence foliaire est de permettre le recyclage des nutriments et leur export des feuilles en sénescence dont la plante va bientôt se séparer, vers les organes en formation et demandeurs en énergie et nutriments. Ce recyclage nutritionnel au niveau de la plante entière est appelé remobilisation et les études menées jusqu'à présent sur le sujet concernent essentiellement la remobilisation de l'azote, qui avec le carbone est l'une des sources d'autotrophie chez les plantes. Le processus de remobilisation de l'azote est un mécanisme d'économie nutritionnelle qui est essentiel à l'adaptation des plantes à leur environnement.

Dans ce modeste mémoire, nous donnons un aperçu complet des facteurs internes et externes et des mécanismes qui contrôlent la sénescence foliaire ainsi on démontre le réseau moléculaire de la sénescence foliaire en présentant quelques gènes associés à la sénescence qui sont impliqués dans la régulation de ce processus. En plus, on présente quelques études qui suggèrent une analyse des hormones et de gènes candidats qui sont potentiellement impliqués dans la régulation de la sénescence foliaire chez le blé sous condition de stress abiotique. On évoque également l'effet de retardement de la sénescence sur le rendement, en fournissant quelques gènes et facteurs de transcription chez le blé qui sont liés à ce caractère. Ainsi, on propose des méthodes pour le retardement de la sénescence foliaire. Et en fin, on présente une petite synthèse sur le processus de l'autophagie chez les plantes. Toute en expliquant son mécanisme, complexe de régulation, et son rôle d'adaptation chez les plantes face aux contraintes environnementales.

Mots clés : la sénescence , foliaire, gènes , retardement de la sénescence , autophagie, blé

Abstract:

Aging, also called 'senescence', has a biological function in plants. This function of foliar senescence is to allow the recycling of nutrients and their export from the senescing leaves, from which the plant will soon separate, to the organs in formation and demanding energy and nutrients. This nutrient recycling at the level of the whole plant is called remobilization and the studies carried out so far on the subject essentially concern the remobilization of nitrogen, which together with carbon is one of the sources of autotrophy in plants. The process of nitrogen remobilization is a nutrient saving mechanism that is essential for the adaptation of plants to their environment.

In this modest paper, we give a complete overview of the internal and external factors and mechanisms that control leaf senescence and demonstrate the molecular network of leaf senescence by presenting some genes associated with senescence that are involved in the regulation of this process. In addition, some studies are presented that suggest an analysis of hormones and candidate genes potentially involved in the regulation of leaf senescence in wheat under abiotic stress conditions. The interest of delaying senescence on yield is also discussed, providing some genes and transcription factors in wheat related to this trait. Thus, methods for delaying leaf senescence are proposed.

Finally, a short synthesis on the autophagy process in plants is presented. While explaining its mechanism, a complex of regulation, and its adaptive role in plants in the face of environmental constraints.

Keywords: leaf, senescence, genes, delaying the Senescence, autophagy, wheat

المخلص :

الشيخوخة لها وظيفة بيولوجية في النباتات. هذه الوظيفة من الشيخوخة الورقية هو السماح لإعادة تدوير المواد الغذائية وتصديرها من الاوراق التي تعاني الشيخوخة الورقية والتي سوف تنفصل قريبا عن النبات، إلى الأجهزة في تشكيل وتطالب الطاقة والمواد المغذية وتسمى إعادة تدوير المغذيات هذه على مستوى النبات بأكمله إعادة التعبئة. والدراسات التي أجريت حتى الآن حول هذا الموضوع تتعلق أساسا بإعادة تعبئة النيتروجين، والتي هي جنبا إلى جنب مع الكربون واحدة من مصادر التغذية الذاتية للنبات . و عليه فان عملية إعادة تعبئة النيتروجين هي آلية توفير المغذيات التي هي ضرورية لتكثيف النباتات مع بيئتها.

في هذه الورقة المتواضعة، نقدم لمحة كاملة عن العوامل والآليات الداخلية والخارجية التي تتحكم في شيخوخة الأوراق مع عرض الشبكة الجزئية المتحكمة بها من خلال تقديم بعض الجينات المرتبطة بالشيخوخة التي تشارك في تنظيم هذه العملية. وبالإضافة إلى ذلك، يتم تقديم بعض الدراسات التي تشير إلى تحليل الهرمونات والجينات المرشحة التي يحتمل أن تشارك في تنظيم شيخوخة الأوراق في القمح في ظل ظروف الإجهاد غير الحيوية. كما تتم مناقشة الاهتمام بتأخير الشيخوخة على العائد. ، وتوفير بعض الجينات وعوامل النسخ في القمح المتعلقة بهذه الصفة. وهكذا ، يتم اقتراح طرق لتأخير الشيخوخة الورقية. و اخيرا ، يتم تقديم توليفة قصيرة على عملية البلعمة عند النباتات مع شرح آليتها ، ودورها التكيفي عند النباتات في مواجهة القيود البيئية

الكلمات المفتاحية : ورقه , الشيخوخة, الجينات, تأخير, القمح

Table des matières

Introduction générale	01
-----------------------------	----

Chapitre 01 : Aspect morphologique, biochimique et moléculaire de la sénescence foliaire

1. Définition de la sénescence	03
2. Les signaux de régulation.....	05
2.1. La sénescence foliaire en tant qu'une mort cellulaire programmée.....	05
2.2. Le développement reproductif.....	06
2.3. Les Sucres.....	06
2.4. Les stress.....	07
2.5. Les hormones induisant la sénescence foliaire	09
2.5.1. L'éthylène	09
2.5.2. Acide abscissique	11
2.5.3. Acide jasmonique.....	12
2.5.4. Acide salicylique	12
3. Les manifestations de la sénescence foliaire au niveau cellulaire :.....	15
3.1. La dégradation de la chlorophylle.....	15
3.2. La dégradation des protéines	16
3.3. La dégradation des lipides	18
3.4. Le recyclage des nutriments.....	19
4. Les manifestations de la sénescence au niveau des organites	19
4.1. Au niveau du chloroplaste.....	19
4.2. Au niveau de peroxyosome	20
4.3. Au niveau de la mitochondrie	20
5. Les manifestations de la sénescence au niveau moléculaire	20
5.1. Expression génétique et régulation durant la sénescence foliaire.....	21
5.1.1. Régulation de la transcription de gènes au cours de la sénescence développementale.....	22
5.1.2. Sénescence induite par l'environnement	24

Chapitre 02 : Quelques gènes impliqués dans la régulation de la sénescence chez le blé en condition de stress abiotique

1. La sénescence induite par le stress et le rendement des cultures	27
2. Quelques hormones végétales et des gènes candidats qui sont impliqués dans la régulation de la sénescence de la feuille étendard chez le blé en réponse au stress hydrique.....	28
2.1. L'analyse du contenu des hormones sous traitement du déficit hydrique	29

2.2. Analyse moléculaire.....	30
-------------------------------	----

Chapitre 03 : Retardement de la sénescence foliaire pour un meilleur rendement

1. Le trait stay -green des cultures.....	35
2. Les principaux facteurs de transcriptions qui peuvent réguler la sénescence foliaire chez le blé.....	37
3. L'implication de la cytokinine et du métabolisme de l'azote dans le retardement de la sénescence de la feuille étendard chez un mutant de blé (tasg1)	40
4. Les champignons mycorhiziens arbusculaires (AMF) protègent l'appareil photosynthétique du blé en cas de déficit hydrique	43
5. Le pré-trempe des semences à la mélatonine améliore le rendement du blé en retardant la sénescence des feuilles et en favorisant le développement des racines....	45

Chapitre 04 : Autophagie, mécanisme, régulation et son rôle dans l'adaptation chez les plantes

1. Les caractéristiques cytologiques de l'autophagie.....	48
2. Machinerie et mécanisme d'autophagie	50
2.1. description du mécanisme	50
2.2. Les Complexes régulateurs	52
2.2.1. Le ATG 1,13 protéine kinase	52
2.2.2. Le complexe de PtdIns3K et le ATG9	53
2.2.3. Les deux systèmes de conjugaison ubiquitine	53
3. Méthodes cytologiques et moléculaires pour l'étude de flux autophagique.....	56
4. Nouvelles découvertes dans les fonctions d'autophagie	57
4.1. Dégradation spécifique des organelles par autophagie	57
4.1.1. La mitophagie	58
4.1.2. La Reticulophagie.....	59
4.1.3. La Chlorophagie	60
4.1.4. La Pexophagie	62
4.2. Rôle de l'autophagie dans la défense immunitaire : Xénophagie	63
4.3. Conclusion sur le rôle de l'autophagie dans l'adaptation des plantes et la gestion des stress abiotiques	64

Conclusion	66
-------------------------	----

Références bibliographiques	67
--	----

Les annexes	78
--------------------------	----

Introduction générale

Introduction générale :

La sénescence foliaire est un mécanisme qui intervient au niveau de la plante entière pour réduire des effets de stress. Chez les végétaux et dès que les conditions de croissance deviennent moins favorables, avec l'installation des stress, la plante reconvertit une partie de la chlorophylle a en chlorophylle b (La chlorophylle b est une forme de chlorophylle de couleur jaune qui absorbe essentiellement la lumière bleue et qui est davantage soluble en milieu aqueux de la chlorophylle a en raison de son groupe carbonyle). Elle prend de ce fait une couleur moins foncée, (vert clair) permettant de réfléchir la luminosité reçue et par conséquence de réduire la température foliaire et la transpiration (Reynolds *et al.*, 2005).

Dans les cultures céréalières, il existe une relation étroite entre la sénescence des feuilles et le processus d'induction de la maturation des graines. Bien que la sénescence précoce peut causer une perte très importante en termes de rendement. Pour cela l'augmentation du rendement a été démontrée par des phénotypes 'stay green' dans différentes cultures. (Gregersen. P.L *et al.*, 2013). La sénescence des feuilles influence directement la qualité et le rendement d'une culture, et peut donc être manipulée pour améliorer la qualité de la culture et augmenter le rendement (Guo. Y et Gan.S.S , 2012)

L'autophagie un autre processus très important se manifeste chez les plantes en générale, elle présente une voie de dégradation cellulaire majeure chez les eucaryotes. L'autophagie est impliquée dans plusieurs aspects de la vie du végétale, notamment le développement des plantes, la résistance au stress, la remobilisation des nutriments au cours de la sénescence. L'autophagie est capable d'exécuter une dégradation massive dans des conditions environnementales sévères mais elle peut être simultanément très sélective dans le ciblage de certains compartiments et complexes de protéines pour réguler les processus cellulaires clés. (Michaeli .S *et al.*, 2016).

Trois types d'autophagie distincts ont été identifiés : la microautophagie (Mijaljica *et al.*, 2011), la macroautophagie (Yang et Klionsky, 2009) et la mégautophagie (Hatsugai.N *et al.* , 2004 ; Sargent .G *et al.* , 2016). Chez les plantes la macroautophagie a été étudiée de manière plus approfondie et ses mécanismes fondamentaux ont été bien décrits. (Lv *et al.*, 2014).

Ce manuscrit il se présente en quatre chapitres, il aborde principalement le processus de la sénescence foliaire en présentant des explications pour ses différents aspects morphologique, biochimique et moléculaire ainsi, une identification de quelques gènes impliqués principalement dans la régulation de se processus. En outre, il mit l'accent sur le

processus de l'autophagie en présentant son mécanisme, sa régulation et son rôle dans l'adaptation chez les plantes.

- Le premier chapitre s'intitule aspect morphologique, biochimique et moléculaire de la sénescence foliaire. Il présente une description des différents signaux de régulation comme l'âge, le développement reproductif, l'effet du sucre, les différents stress biotiques et abiotiques, les principales hormones comme l'acide abscissique (ABA), l'acide salicylique (AS), l'acide jasmonique (AJ), l'éthylène, l'auxine (AUX) et les cytokinines (CK). Ainsi, les manifestations de la sénescence au niveau cellulaire et au niveau des organites qui s'illustrent principalement dans la dégradation de la chlorophylle, des protéines, des lipides et du recyclage du nutriment. Ensuite, on aborde l'expression génétique et la régulation de la sénescence foliaire dans le cas de la sénescence développementale et la sénescence induite par l'environnement.
- Le deuxième chapitre repose principalement sur l'identification de quelques gènes impliqués dans la régulation de la sénescence foliaire chez le blé sous conditions de stress abiotique.
- Le troisième chapitre aborde l'importance des phénotypes 'stay green' pour un meilleur rendement. Ainsi, une présentation de quelques facteurs de transcription qui peuvent réguler la sénescence foliaire chez le blé et présentation de quelques méthodes utilisées dans le retardement de la sénescence foliaire afin d'avoir un meilleur rendement.
- Le quatrième chapitre présente le mécanisme de l'autophagie, les complexes de régulation, les nouvelles découvertes dans la fonction d'autophagie et son rôle dans l'adaptation des plantes en condition de stress biotique et abiotique.

Chapitre 01 :

***Aspect morphologique, biochimique et
moléculaire de la sénescence foliaire***

1. Définition de la sénescence

La sénescence ou senescere en latin correspond au processus naturel de vieillissement, il est le dernier stade de développement d'un organisme (Breez *et al.* , 2011). Autrement dit elle désigne les différentes étapes qui précèdent la mort d'un organe.

Chez les plantes il existe deux types de sénescence : la sénescence mitotique et la sénescence postmitotique. La sénescence mitotique également appelée sénescence proliférative, se produit lorsque les cellules germinales des méristèmes perdent leur capacité à subir la division cellulaire mitotique. Contrairement à la sénescence réplivative dans la levure et les cellules humaines en culture, la sénescence mitotique dans les plantes n'est pas contrôlée par le raccourcissement des télomères. La sénescence postmitotique, un processus dégénératif actif, se produit dans des organes tels que les feuilles et les pétales de fleurs. Des progrès substantiels ont été réalisés dans la compréhension des mécanismes moléculaires de la sénescence postmitotique (spécialement la sénescence foliaire). La sénescence des feuilles est une forme de mort cellulaire programmée qui peut être régulée par un ensemble de facteurs endogènes et de signaux environnementaux. (Susheng Gan,2003)

Les premières traces génétiques associées à la sénescence chez les végétaux sont retrouvées chez les algues unicellulaires, mais les premiers organismes à posséder l'ensemble des fonctions de sénescence retrouvées chez les plantes dites supérieures. (Thomas *et al.* ,2009)

Les processus liés à la sénescence ont été fortement sélectionnés pendant l'évolution et apportent un avantage sélectif essentiel pour les plantes. En effet, la sénescence permet le recyclage des nutriments et diminue la dépendance aux ressources extérieures, ce qui confère un avantage évolutif et adaptatif important. Les plantes pérennes et annuelles adoptent des stratégies de sénescence différentes pour assurer leur survie (Roach ,1993).

Chez les plantes annuelles, les processus de recyclage sont majoritairement dirigés vers les organes reproducteurs, les organes végétatifs étant renouvelés chaque année, alors que les plantes pérennes doivent constamment allouer une partie des ressources au maintien et au développement des parties végétatives qui leur serviront pour l'année suivante.

La sénescence est un processus qui peut être déclenché par des facteurs endogènes et exogènes, elle résulte d'une succession d'événements biochimiques et physiologiques coordonnés au niveau cellulaire et tissulaire qui conduisent à la mort de la plante ou un organe de la plante (figure 01). Différents types de sénescence sont distingués : florale, foliaire,

associées aux fruits. Dans le cadre de ce chapitre l'analyse bibliographique sera centrée sur la sénescence foliaire qui présente l'état ultime de développement de la feuille.

La sénescence foliaire est un type de la sénescence postmitotique qui présente la phase finale de développement foliaire. Les feuilles s'engagent dans un processus de dégradation massive de leurs macromolécules tel que les protéines, les glucides, les lipides et les acides aminés. Les éléments issus de ces dégradations comme le carbone, l'azote et phosphore sont ensuite redistribués vers les organes en croissance (jeune feuilles, graines) ce phénomène est qualifié de remobilisation des nutriments.

Sur le plan macroscopique, les signes visibles de la sénescence sont principalement le jaunissement des feuilles qui est du à la dégradation des chlorophylles et aboutit au dessèchement complet et au final a l'abscission de la feuille. De profondes modifications sont observées au niveau cellulaire, tissulaire, métabolique et génétique. (Deslos, 2008)

La sénescence naturelle des feuilles se produit de manière coordonnée au niveau de toute la feuille, généralement à partir du bout ou des bords de la feuille vers la base de la feuille. Cependant, lorsque le stress environnemental inégal est ciblé localement, la région stressée de la feuille subit une sénescence plus précoce que les autres parties de la feuille.

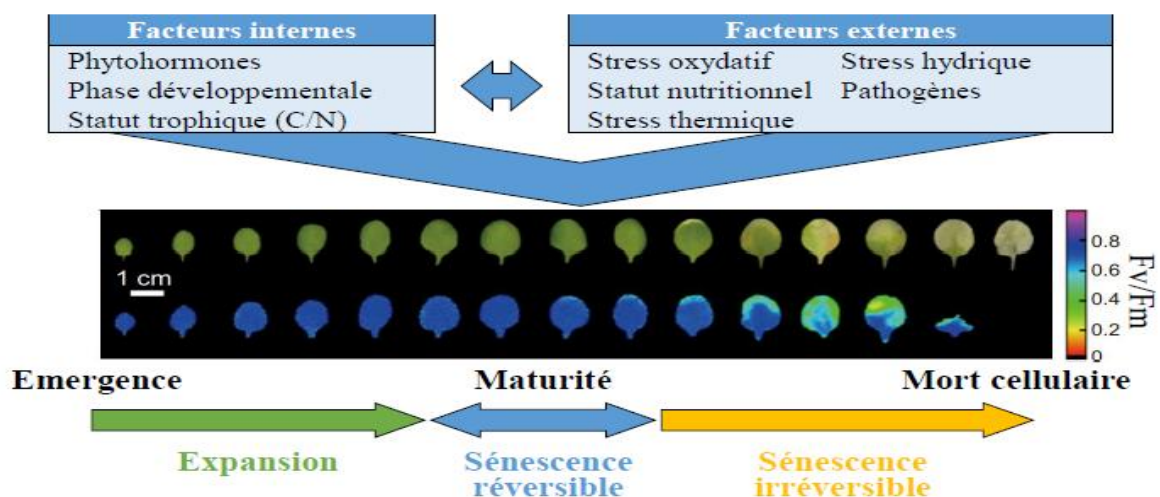


Figure 1: les principaux facteurs internes et externe qui régulent le développement de la feuille (Guiboileau *et al.*, 2010): la phase d'expansion se traduit par la croissance de la feuille .Elle est suivie par la phase de la maturité qui est associé a une efficacité maximale des photosystemes (Fv/Fm) et à des phénomènes de sénescence réversible. La phase de la sénescence est caractérisée par une succession de processus de dégradation qui conduisent à la mort cellulaire.

2. Les signaux de régulation

La sénescence foliaire est essentiellement régie par l'âge de développement. Cependant, elle est également influencée par divers signaux internes et environnementaux qui sont intégrés dans les informations sur l'âge : la sénescence des feuilles est une réponse intégrée des cellules des feuilles à l'information sur l'âge et à d'autres signaux internes et environnementaux. Plusieurs facteurs internes et externes peuvent induire la sénescence. Parmi ces facteurs internes l'âge, le niveau d'hormones, les régulateurs de croissance ainsi que la croissance reproductive. Les facteurs externes sont principalement les facteurs environnementaux soient les stress abiotiques tel que la sécheresse ou les stress biotiques comme les infections pathogènes.

2.1. La sénescence foliaire en tant qu'une mort cellulaire programmée

La sénescence est le processus de détérioration dépendant de l'âge au niveau des cellules, des tissus, des organes ou des organismes, qui conduit à la mort ou à la fin de la vie (Nooden LD, 1988).

La sénescence des feuilles est une sénescence au niveau des organes, mais elle est souvent intimement associée à la mort des cellules ou des organismes. La sénescence des feuilles implique la mort cellulaire qui est contrôlée par l'âge en vertu de l'influence des autres facteurs endogènes et environnementaux. La mort cellulaire programmée (MCP) est un processus cellulaire d'autodestruction est contrôlée par de nombreux programmes génétiques actifs (Cao. J *et al.* , 2003). La mort cellulaire qui se produit lors de la sénescence des feuilles est donc un type de MCP.

Les organes foliaires sont composés de différents types de cellules. La mort cellulaire à la sénescence des feuilles commence à partir des cellules du mésophylle, puis passe à d'autres types de cellules. Il semble également que la mort cellulaire ne se produise pas de manière cohérente mais commence par des plaques locales de cellules à maturation précoce et se propage ensuite dans toute la zone de la feuille. La MCP à la sénescence des feuilles présente certaines caractéristiques qui la distinguent des autres MCP (Van Doorn WG et Woltering EJ, 2004). Tout d'abord, la sénescence des feuilles implique une mort cellulaire au niveau de l'organe qui finit par englober la feuille entière, alors que d'autres MCP impliquent une mort cellulaire plutôt localisée ou se produise dans des tissus et des types de cellules limités. Deuxièmement, le taux de mort cellulaire pendant la sénescence des feuilles est plus lent que

celui des autres MCP. Troisièmement, en termes de fonction biologique, la MCP de la sénescence des feuilles sert principalement à la remobilisation des nutriments de la feuille vers d'autres organes, y compris les graines en développement.

L'utilisation optimale des nutriments accumulés pendant la période de photosynthèse est essentielle pour la bonne santé des plantes et est affectée de manière critique par le contrôle du processus de sénescence. À cet égard, la lente dégénérescence des cellules pendant la sénescence des feuilles est en partie destinée à assurer une remobilisation efficace des nutriments qui sont générés par l'hydrolyse macromoléculaire pendant la sénescence. De nombreux événements moléculaires au cours de la sénescence des feuilles peuvent être facilement compris du point de vue de cette activité de remobilisation altruiste. (Lim, P. O *et al.*, 2007)

2.2. Le développement reproductif

Le développement reproductif peut déclencher la sénescence des feuilles chez de nombreuses plantes surtout dans les plantes monocarpiques comme l'orge, le blé et le riz. Les plantes monocarpiques ont un seul développement reproductif durant leur vie (Craftsbrandner et Egli,1987). L'enlèvement des fleurs ou des fruits prolonge la longévité des feuilles chez de nombreuses espèces végétales monocarpiques. Selon Pic *et al.*, (2002) le retrait des fleurs peut retarder l'apparition de la sénescence ainsi que le ralentissement de la progression de la sénescence. Cependant, toutes les expériences impliquant l'enlèvement de fleurs et/ou de fruits ne montrent pas un retardement observable de la sénescence. Autre expérience montre que l'élimination des épis dans les plants de maïs peut entraîner soit sénescence foliaire rapide soit une sénescence foliaire retardée, et ceci est lié principalement au génotype.

2.3. Les Sucres

On sait que les sucres agissent comme des molécules de signalisation à différents stades du développement des plantes (Rolland *et al.*, 2002). Bien que l'expression de plusieurs gènes associés à la sénescence (SAG) sont induits par la privation de sucre.

Il a été démontré que le gène SAG12 de la cystéine protéase est induit (Parrott *et al.*, 2007) ou réprimé (Noh et Amasino, 1999) par les sucres pendant la sénescence, mais le comportement de certains gènes, qui peuvent réagir après le début de la sénescence, ne permet pas nécessairement de savoir si la sénescence est induite par le sucre ou autre facteur . La comparaison des changements globaux du transcriptome (Wingler et Roitsch, 2008) est un

meilleur moyen de vérifier si la sénescence est régulée essentiellement l'accumulation de sucre (Fujiki *et al.*, 2001). Comme mentionné précédemment, une réduction du taux de sucre résultant d'un déclin de la photosynthèse n'est probablement pas un facteur majeur d'induction de la sénescence.

Le rôle de l'accumulation de sucre pendant la sénescence des feuilles a été évalué de manière critique par Van Doorn (2008). Cet auteur a souligné que l'on sait peu de choses sur les concentrations de sucre et la régulation de la sénescence dans les différents tissus et cellules. Bien que nous soyons d'accord avec le point de vue selon lequel les sucres ne sont pas toujours la cause directe de la sénescence des feuilles, des données suffisantes soutiennent l'idée que la signalisation du sucre joue un rôle dans la régulation de la sénescence dans un réseau complexe avec une variété d'autres signaux, par exemple, résultant d'un stress biotique ou abiotique (Wingler et Roitsch, 2008).

2.4. Les stress

Au cours de sa vie les céréales sont exposées à diverses conditions environnementales qui peuvent induire prématurément le programme de sénescence. La principale réponse à ce stress est une croissance perturbée. Parmi ces facteurs on cite d'abord, le stress salin. Le stress salin nuit à la plante de deux façons : l'apparition du stress osmotique entraîne une réduction de la turgescence des cellules et inhibe la croissance des feuilles, et l'accumulation d'ions sodium est toxique (Munns et Tester, 2008).

Deux cultivars de blé d'hiver qui se distinguent par leur capacité à faire face au stress salin présentent des schémas d'induction de sénescence opposés. Plus précisément, le cultivar sensible au sel, la durée de sa croissance reproductive et de sa croissance totale est réduite de manière linéaire sous diverses concentrations de sel, le cultivar tolérant au sel n'est pas affecté. (Zheng *et al.*, 2008).

La surexpression de SAG29 (SWEET15), un transporteur du liquide foliaire, provoque une sénescence précoce et une sensibilité accrue au stress salin (Seo *et al.*, 2011). Notamment, bien que les transcriptions SAG29 s'accumulent fortement pendant la sénescence, une protéine de fusion est à peine détectable dans les feuilles en cours de sénescence (Chen *et al.*, 2015)

Deuxièmement, Le stress hydrique représente une menace majeure pour la productivité des cultures dans le monde entier (Cramer *et al.*, 2011). Tout comme la salinité du sol, la

privation d'eau entraîne un stress osmotique, qui nuit à la croissance des plantes. Pendant la phase de sénescence reproductive, les cultures céréalières présentent une remobilisation des réserves de carbone, qui permet la translocation des assimilats issus lors de la pré-anthèse dans des feuilles et des tiges vers le grain en développement (Gregersen *et al.*, 2013). Dans des conditions idéales (c'est-à-dire une disponibilité en eau suffisante), la contribution des réserves de carbone stockées dans les tiges de blé au poids final des grains est inférieure à celle des plantes soumises à un stress hydrique (Schnyder, 1993). La sénescence induite par la sécheresse pourrait compenser la phase plus courte de remplissage des grains et l'activité photosynthétique plus faible observée sous stress (Yang *et al.*, 2002). Le manque d'eau chez le riz provoque une augmentation rapide du niveau de l'acide abscissique (ABA) dans les feuilles étendards, tandis que les niveaux de cytokinine (CK) diminuent progressivement (Yang *et al.*, 2002).

Troisièmement, l'effet de la lumière (ou de son absence) sur l'induction de la sénescence est multiple, car cet effet dépend largement de l'intensité et du type de lumière. En principe, les intensités lumineuses supérieures ou inférieures au niveau optimal peuvent provoquer une sénescence prématurée (Lers, 2007). Le facteur de transcription SUBMERGENCE1A (SUB1A), un régulateur clé de la submersion chez le riz, augmente la tolérance à la sénescence induite par l'obscurité (Fukao *et al.*, 2012). La caractéristique de la perte des réserves de chlorophylle et de carbone dans les tissus photosynthétiques lors de la privation de lumière est beaucoup moins importante chez les plantes à surexpression SUB1A que chez le type sauvage. Par conséquent, la récupération de l'activité photosynthétique après l'incubation dans l'obscurité est accrue chez ces plantes (Fukao *et al.*, 2012).

Le rôle protecteur de SUB1 contre la sénescence induite par l'obscurité est obtenu par la répression d'une voie de réponse à l'éthylène. Il est intéressant de noter que chez le riz, l'éthylène favorise la croissance pour permettre aux plantes d'échapper à la submersion, qui, à son tour, est réprimée par SUB1A. Par conséquent, la tolérance accrue à l'obscurité fournie par SUB1A pourrait (en partie) représenter une stratégie d'économie d'énergie.

Les facteurs environnementaux ne se limitent pas uniquement au stress abiotique mais aussi au stress biotique. Les agents pathogènes et les herbivores affectent fortement la production des cultures et peuvent menacer la survie des plantes. Leurs attaques provoquent des réactions rapides ou prolongées dans la plante sous la forme de réponses de défense ou de syndromes de maladie, qui, de diverses manières, peuvent conduire à l'accélération de la sénescence

(Gregersen *et al.*, 2013). Le programme transcriptionnel qui opère sur le stress biotique chevauche largement celui de la sénescence développementale (Guo et Gan, 2012).

2.5. Les hormones induisant la sénescence foliaire

Les voies de signalisation hormonale servent souvent de médiateur des réponses environnementales ou développementales des plantes. Pour la sénescence des feuilles, une interaction particulièrement intime de plusieurs de ces voies hormonales est impliquée avec la sénescence contrôlée par l'âge. Ce serait un moyen pour les plantes d'assurer un contrôle adéquat de la sénescence des feuilles et des réponses aux signaux endogènes et/ou environnementaux. Les hormones peuvent donc potentiellement affecter la sénescence des feuilles pendant les trois stades de développement des feuilles (Guo et Gan , 2005).

Les hormones les plus essentielles dans l'induction de la sénescence sont : l'éthylène, acide abscissique , acide salicylique, l'acide jasmonique .

2.5.1. L'éthylène :

L'éthylène est connu depuis longtemps comme une hormone majeure pour accélérer la sénescence des feuilles ainsi que le mûrissement des fruits et la sénescence des fleurs (Abeles FB *et al.*, 1988). Il est un important régulateur positif de la sénescence des feuilles, son mécanisme d'action génétique et moléculaire a été bien révélé.

La capacité de l'éthylène à accélérer la sénescence des feuilles dépend de la maturité des feuilles. L'apport d'éthylène aux feuilles matures provoque un début précoce de la sénescence foliaire, alors que son exposition aux jeunes feuilles ne le fait pas (Grbic et Bleecker 1995 ; Jing *et al.*, 2002). Cette réponse différentielle de l'éthylène dans les vieilles et les jeunes feuilles suggère le besoin de changements liés à l'âge dans les feuilles complètement développées afin que l'éthylène modifie le moment de la sénescence. En outre, il a été constaté que l'éthylène affecte le moment des changements liés à l'âge (Jing *et al.*, 2005), ce qui suggère que cette hormone peut affecter le début de la sénescence de différentes manières .La condition préalable des changements liés à l'âge pour déterminer le moment de la sénescence liée à l'éthylène a également suggérée par des études plus récentes. La mutation des gènes de signalisation ou de biosynthèse de l'éthylène affecte le moment de la sénescence (Graham *et al.*, 2012 ; Bennett *et al.*, 2014). Par exemple, les mutants insensibles à l'éthylène (ethylene receptor1-1) et insensible à l'éthylène2 (ein2) présentent une sénescence retardée (Grbic et Bleecker, 1995 ; Alonso *et al.*, 1999), tandis que la surexpression du gène du facteur

de transcription EIN3 provoque une sénescence précoce des feuilles (Li *et al.*, 2013). Considérant le rôle de l'éthylène dans la sénescence, ils ont comparé la liste des cibles avec les gènes connus pour être induits pendant la sénescence (Guo *et al.*, 2004 ; Buchanan-Wollaston *et al.*, 2005), trouvant que 269 SAGs sont parmi les cibles EIN3 rapportées (Figure 02), que nous appelons SAGs EIN3BOUND (EB-SAGs). Comme l'éthylène induit la sénescence chez de nombreuses espèces végétales, ils ont examiné si le réseau transcriptionnel en aval de l'EIN3 est conservé. À cette fin, des recherches bidirectionnelles BLAST avec les EB-SAGs d'*Arabidopsis* ont été effectués sur le génome du riz (*Oryza sativa*) en utilisant la base de données Phytozome (Goodstein *et al.*, 2012). Il est intéressant de noter que nous avons trouvé des homologues du riz pour 159 Arabidopsis EB-SAGs, et dans plus de 90% des cas, au moins un site de liaison du noyau EIN3 (TACAT) a été trouvé dans les régions promotrices en amont. Ces données suggèrent que l'éthylène contrôle des processus similaires pendant la sénescence chez *Arabidopsis* et le riz. L'analyse de l'ontologie génétique (Proost *et al.*, 2009) a en outre révélé un enrichissement pour les termes liés à l'activité catalytique, à la transcription et au transport ce qui est conforme aux rapports précédents démontrant que l'éthylène est nécessaire à la remobilisation des nutriments pendant la sénescence (Jung *et al.*, 2009).



Figure 2: Le réseau des gènes associés à la sénescence EIN3 (Schippers, J. H et al., 2015) Parmi les cibles directes de l'EIN3 figurent 269 SAG (vert), dont 76 sont induits par l'éthylène pendant l'établissement des semis (bleu foncé).

2.5.2. Acide abscissique

Les feuilles sénescentes sont caractérisées par une augmentation des niveaux d'acide abscissique (ABA) (Breeze *et al.*, 2011), qui favorise la dégradation du chloroplaste et entraîne une impressionnante multicoloration des feuilles lors du démasquage des caroténoïdes. L'ABA joue un double rôle en réprimant les gènes de biosynthèse des chloroplastes et en induisant des gènes qui favorisent la dégradation de la chlorophylle pendant la sénescence. Il existe un contraste avec le rôle joué par l'ABA au cours du

développement précoce de la plante, où il a un effet positif sur le développement du chloroplaste ; ainsi qu'avec son rôle dans les feuilles matures, où il induit un ensemble de gènes très différent de ceux qui sont induits au cours du développement de la sénescence des feuilles dans les tissus les plus anciens (Guo et Gan, 2012).

L'ABA est considéré comme un activateur plutôt que comme un facteur déclenchant de la sénescence des feuilles. Le niveau d'ABA augmente dans les feuilles en sénescence, et l'ABA appliqué de manière exogène induit rapidement le syndrome de sénescence et l'expression de plusieurs SAG (Weaver *et al.*, 1998), qui sont compatibles avec ses effets sur la sénescence des feuilles. Au cours de la sénescence foliaire les gènes associés à la synthèse et à la signalisation de l'ABA sont surexprimés et le niveau d'ABA endogène augmente (Weaver *et al.*, 1998 ; van der Graaff *et al.*, 2006). En outre, en cas de stress environnemental, comme la sécheresse, la forte concentration en sel et les conditions de température extrêmes qui provoquent souvent la sénescence des feuilles, les niveaux d'ABA sont élevés d'une manière significative. (Guo et Gan 2005).

Une étude a montré que la SAG113, une protéine phosphatase de la famille des PP2C, est exprimée dans les feuilles en sénescence et induite par l'ABA lorsque les niveaux d'ABA endogène augmentent pendant la progression de la sénescence des feuilles (Zhang *et al.*, 2012). L'AtNAP, un facteur de transcription de la famille NAC, et ses homologues chez le riz et les haricots rouges jouent également un rôle important dans la sénescence des feuilles (Guo et Gan 2006). Le SAG113 est une cible directe de l'AtNAP, et une chaîne réglementaire ABA-AtNAP-SAG113 PP2C a été récemment déchiffrée. Ce nœud réglementaire contrôle les mouvements stomataux et la perte en eau spécifiquement dans les feuilles sénescences *d'Arabidopsis*. (Zhang et Gan 2012).

2.5.3. Acide jasmonique

Le jasmonate de méthyle (MeJA) et son précurseur AJ ont d'abord été identifiés comme des substances bioactives qui favorisent la sénescence des feuilles d'avoine détachées (Ueda et Kato, 1980). Il a été démontré que les niveaux de AJ dans les feuilles sénescences sont quatre fois plus élevés que ceux des autres chez *Arabidopsis*, et les gènes codant les enzymes qui catalysent la plupart des réactions de la biosynthèse de AJ sont activées de façon différentielle pendant la sénescence des feuilles (He *et al.*, 2002). Il induit également

l'expression de nombreuses enzymes clés qui sont impliquées dans la dégradation de la chlorophylle (Ueda et Kato, 1980). Une analyse transcriptionnelle a été réalisée pour déterminer les gènes liés à JA associés à la sénescence ; il a été constaté que 11 des 19 gènes de biosynthèse de l'AJ et 6 des 11 gènes de réponse à l'AJ étaient soit surexprimés, soit souexpressés pendant la sénescence des feuilles (van der Graaff *et al.*, 2006). Selon une autre étude, la surexpression du gène OsDOS retarde la sénescence des feuilles et l'ARN interférant (ARNi) l'accélère, tandis que l'implication de la voie AJ a également été signalée (Kong *et al.*, 2006)

2.5.4. Acide salicylique

L'AS est l'hormone impliquée dans la réponse aux agents pathogènes et la mort cellulaire à médiation pathogène. L'acide salicylique (AS) a d'abord été lié aux protéines de la pathogénèse et à la formation d'une résistance systémique acquise (Ryals *et al.*, 1996). L'AS est impliqué à la résistance contre les ROS (Mur *et al.*, 2000).

En plus de ces hormones qui sont essentiellement intégrées dans le processus de la sénescence foliaire, on trouve d'autres qui ont un effet sur le retardement de la sénescence foliaire comme principalement l'auxin et la cytokinine .

- Les cytokinines (CK) ont de nombreuses fonctions essentielles dans les plantes, comme le contrôle de la prolifération cellulaire, la formation et la ramification des pousses. Les cytokinines sont également connues depuis de nombreuses décennies comme des hormones retardatrices de sénescence. Cela est basé sur le fait que le niveau de cytokinine endogène diminue pendant la sénescence des feuilles et que l'application exogène ou l'augmentation endogène du contenu en cytokinine à l'aide du promoteur SAG12 retarde la sénescence (Walters *et al.*, 2008). Conformément aux données de l'étude physiologique selon laquelle le niveau de cytokinine diminue pendant la sénescence des feuilles, l'analyse moléculaire à l'échelle génomique a révélé que les gènes impliqués dans la synthèse des cytokinines, une cytokinine synthase et les gènes de l'adénosine phosphate isopentényl transférase (IPT), sont souexpressés et un gène de dégradation des cytokinines, la cytokinine oxydase, est surexprimé dans les feuilles en phase de sénescence (Lim, P. O *et al.*, 2007).
- Le rôle de l'auxine (AUX) pendant la sénescence des feuilles a été difficile à identifier, notamment en raison de son implication dans divers aspects du développement des

plantes. Cependant, des éléments indiquent que l'auxine est également impliquée dans le processus de sénescence. Il est observé que le niveau d'auxine augmente au cours de la sénescence des feuilles. L'implication de l'auxine dans la régulation de la sénescence des feuilles est suggérée par la présence de gènes qui sont sensibles à l'auxine et codent pour les FACTEURS DE RÉPONSE AUXIN (ARF) ou les protéines AUXIN/INDOLE ACETICACID (IAA). Cependant, au niveau des transcrits, beaucoup de ces gènes ne sont pas seulement régulés par l'auxine mais aussi par d'autres phytohormones (Audran-Delalande *et al.*, 2012). L'auxine est généralement considérée comme un composé retardant de la sénescence, dont les niveaux augmentent de façon transitoire (sous forme d'IAA) pendant la progression de la sénescence (Quirino *et al.*, 1999). Le traitement à l'auxine réprime efficacement le SAG12 dans les feuilles en sénescence (Noh et Amasino, 1999), ce qui implique que l'auxine fonctionne dans le maintien de la viabilité cellulaire pendant la sénescence (Schippers *et al.*, 2007). Le mécanisme moléculaire qui explique l'effet répressif de l'auxine sur l'expression de SAG12 a récemment été démontré dans le mutant *wrky57*, qui présente un début de sénescence précoce (Jiang *et al.*, 2014). WRKY57 est induit par l'auxine et agit comme un répresseur direct de SAG12. Il est intéressant de noter que l'effet de WRKY57 sur l'expression de SAG12 est antagonisé par son interaction avec IAA29 (Jiang *et al.*, 2014).

Pour récapituler la sénescence est un processus très complexe qui fait interagir plusieurs facteurs internes et externes. La figure 3 explique schématiquement le rôle de l'âge et des hormones dans le processus de la sénescence foliaire.

La figure (3A) illustre un modèle construit autour de deux principales propositions : premièrement, la sénescence dépend de manière critique le développement, c'est-à-dire que la sénescence ne peut être induite avant qu'un certain stade de développement ne soit atteint. Le développement coïncide avec les changements cellulaires et nous appelons ici ces changements des changements liés à l'âge (ARC). Nous définie un ARC comme tout changement irréversible qui dépend strictement de l'âge et donc du développement. Dans les feuilles, la fin de la division cellulaire et la fin de l'expansion des feuilles sont des exemples d'ARC. Toutes les ARC ne sont pas facilement visibles, et tout changement physique, chimique et biochimique qui se produit à la suite d'une régulation différentielle des processus de développement peut être considéré comme une ARC. De plus, comme les ARC sont irréversibles, on peut considérer qu'elles s'accumulent, plutôt que transitoire (Figure .3A). Les

ARC sont donc des événements tangibles qui décrivent de manière cumulative le processus de vieillissement. Deuxièmement, une proposition qui supporte que la sénescence est induite seulement lorsqu'elle atteint un certain stade de développement. (Figure .3B)

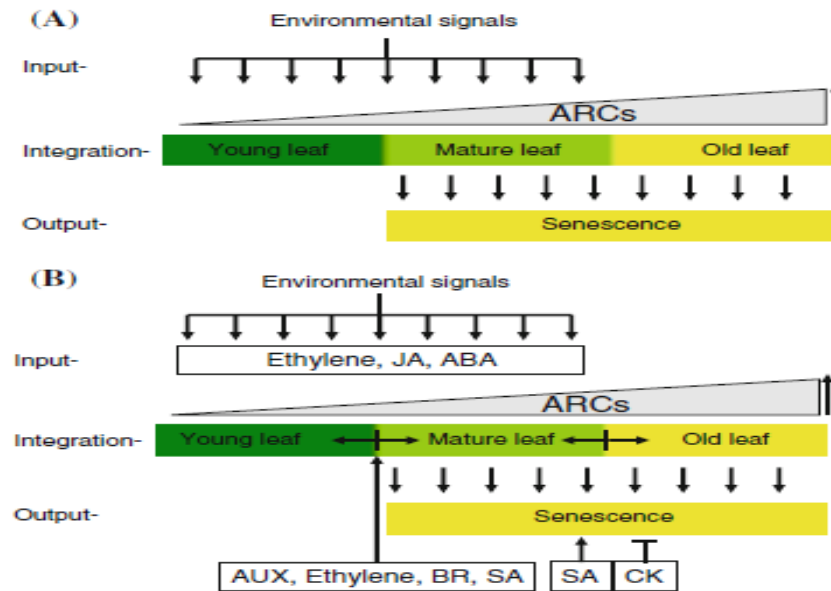


Figure 3: Un modèle provisoire de régulation de la sénescence des feuilles par l'intégration des signaux environnementaux et de développement (Rubina J. et al., 2013). (A). Les changements liés à l'âge (ARC) ont lieu et s'accumulent tout au long du développement de la plante (triangle rectangle). L'environnement et les ARC représentent des signaux d'entrée. Ces signaux sont intégrés et, en fonction de l'occurrence de certains ARC, la sortie (sénescence) est induite. Par conséquent, les signaux environnementaux ne peuvent pas induire la sénescence des jeunes feuilles malgré des conditions environnementales défavorables, en raison de l'absence d'ARC. À mesure que la feuille mûrit grâce aux ARC, elle devient capable de répondre aux signaux induisant la sénescence. Dans les vieilles feuilles, des ARC supplémentaires se sont produites, et la sénescence est induite indépendamment des signaux environnementaux. (B).Le rôle des hormones dans la canalisation de l'entrée (signaux environnementaux et ARC) et de la sortie (sénescence). Le modèle souligne que les différentes hormones ont des rôles divers tout au long du développement des feuilles. L'éthylène, l'AJ, l'ABA et l'AS régulent la sénescence des feuilles en répondant aux signaux environnementaux, mais leur production dépend du développement, ou des ARC. Aux et BR, mais aussi l'éthylène, peuvent modifier le programme de développement de la plante pour changer le moment de l'apparition des ARC (indiqué par les doubles flèches). En revanche, AS et CK régulent la sénescence en modifiant le processus de sénescence.

3. Les manifestations de la sénescence foliaire au niveau cellulaire

Au niveau cellulaire le phénomène de la sénescence se manifeste d'une manière coordonnée. La première phase : est la phase d'initiation de la sénescence, elle est modulée par plusieurs facteurs internes et externes qui sont déjà abordés précédemment dans ce chapitre. La deuxième phase : la dégradation de chlorophylle constitue le premier symptôme visuel de la sénescence. Les chloroplastes et les peroxysomes subissent des modifications structurelles et fonctionnelles importantes. Ainsi que les membranes thylakoidiennes apparaît à des stades prématuré. Pour les enveloppes plastidiales se désintègrent plus tardivement. Il est important de noter que la dégradation des chlorophylle entraîne une augmentation des

espèces réactives d'oxygène (ROS) capable de provoquer d'importantes altérations métaboliques. La réponse des cellules face au ROS dépend de leurs concentration, une faible teneur permet la mise en place d'un mécanisme de résistance alors que de forte teneur entraîne un stress oxydatif (Mittler *et al.*, 2004). Ces ROS sont responsables de nombreux dommages au niveau moléculaire qui peuvent affecter considérablement le mécanisme cellulaire.

3.1. La dégradation de la chlorophylle : est exécutée par la voie de la Pheophorbide A Oxygénase (PAO) (Figure.5) (Hortensteiner et Krautler 2011 ; Hortensteiner 2012). Ces gènes de dégradation des protéines sont en tête de liste des niveaux d'expression des SAG et des comportements cellulaires de certaines protéines caractérisées. Par exemple, RD21, une protéase associée à la sénescence, reste dans la vacuole sous forme d'agrégats inactifs et devient active pendant la sénescence par le clivage de son domaine granuline C-terminal. En outre, la formation de vacuoles associées à la sénescence (SAV), qui contiennent des enzymes protéolytiques telles que la SAG12, a été observée (Martinez *et al.*, 2008).

Les cellules végétales perdent environ deux tiers de leurs protéines solubles pendant la sénescence (Inada *et al.*, 1998). Jusqu'à 70 % des protéines foliaires se trouvent dans les chloroplastes. Comment les protéines chloroplastiques sont dégradées et mobilisées est l'une des recherches se concentre sur la sénescence des feuilles.

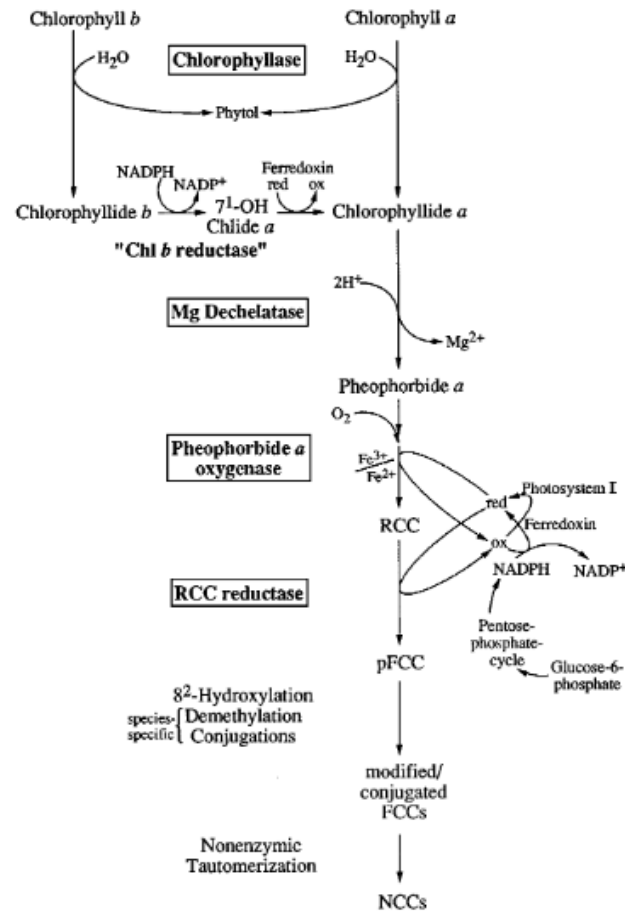


Figure 4: La "voie pheophorbidea (PAO)" de dégradation de la chlorophylle dans les feuilles sénescentes (Hortenseiter et Feller , 2002)..RCC : red chlorophyl catabolite (catabolite de la chlorophylle a émettant une longueur d'onde rouge).pFCC : primary fluorescent chlorophyll catabolite (catabolite primaire fluorescent de la chlorophylle a).FCC : fluorescent chlorophyll catabolite (catabolite fluorescent de la chlorophylle) NCC : non fluorescent chlorophyll catabolite (catabolite non fluorescent de la chlorophylle)

3.2.La dégradation des protéines : se fait par l'action des protéases et par le système ubiquitine-protéasome. Le protéasome peut être trouvé dans le noyau et le cytosol, les protéases se localisent dans de multiples compartiments cellulaires, y compris la vacuole, le chloroplaste et la mitochondrie, ainsi que la voie de sécrétion régulatrice unique. Au moins une partie des protéases associées à la sénescence se localisent dans les vacuoles associées à la sénescence pour dégrader les protéines dérivées des chloroplastes. Les enzymes de dégradation de protéines localisés au niveau de chloroplastes telles que la protéase Clp et les familles de protéases FtsH. Plusieurs d'autres gènes de la famille Clp ont été isolés auparavant en tant que SAG ont un rôle majeur dans la dégradation des protéines chloroplastiques (Carrion *et al.*, 2013).

Les protéases vacuolaires peuvent jouer un rôle important dans la dégradation des protéines chloroplastiques, au moins aux derniers stades lytiques après la rupture de la

membrane. Aux premiers stades de la sénescence des feuilles, lorsque les membranes chloroplastiques sont encore intactes, la dégradation des protéines chloroplastiques par les protéases vacuolaires peut se faire par l'association de chloroplastes avec la vacuole centrale, qui est soutenue par des études microscopiques sur les feuilles de haricot vert en phase de sénescence. (Guo et Gan , 2005).

La dégradation des protéines par l'ubiquitine se produit tout au long du cycle de vie de la feuille. Les gènes codant pour les sous-unités protéasomiques présentent une expression relativement stable tout au long du développement de la feuille ,ce qui suggère que la capacité de dégradation des protéines par le protéasome 26S est constante au cours du vieillissement. De nombreux gènes associés à cette voie sont induits par la sénescence, ce qui indique que la protéolyse dépendante de l'ubiquitine peut être un aspect important de la dégradation des protéines non chloroplastiques pendant la sénescence des feuilles (Park *et al.*, 1998).

Ces données ne sont pas surprenant, puisque la dégradation ciblée par le protéasome est régulée par la reconnaissance et l'ubiquitination de substrats hautement spécifique impliquant environ 1 500 E3ligases. la voie du protéasome ubiquitine-26S est importante pour la dégradation ciblée des protéines à la fois pendant le développement normal et en réponse à des facteurs environnementaux (Sullivan *et al.*, 2003). Elle est essentielle à l'élimination des protéines cytoplasmiques anormales et au renouvellement rapide des protéines à courte durée de vie. Dans cette voie, la fixation covalente des ubiquitines de 76 acides aminés est utilisée comme signal pour cibler des protéines spécifiques en vue de leur dégradation par le protéasome 26S (Smalle et Vierstra, 2004). Trois enzymes : l'enzyme activant l'ubiquitine (E1), l'enzyme conjuguant l'ubiquitine (E2) et l'ubiquitine-protéine ligase (E3) sont impliquées. Les E1, codées par un seul gène ou une petite famille de gènes apparentés, peuvent initier cette voie. Tous les E1s forment des liaisons thiolester avec la glycine C-terminale de l'ubiquitine par l'intermédiaire d'un résidu de cystéine (Cys) qui en résulte. E2 accepte l'ubiquitine d'un E1 par une liaison thioester via un domaine UBC conservé avec un groupe cystéinyl sulfhydryle (Kraft *et al.*, 2005). Enfin, l'ubiquitine est attachée à la protéine cible par reconnaissance E3. Dans tous les composants de la voie ubiquitine/protéasome 26S, environ 90 % des gènes codent pour des éléments des ligases de l'ubiquitine E3. Il a été proposé que le grand nombre d'E3 détermine la spécificité du substrat. Une fois que le substrat protéique est assemblé par une chaîne

de polyubiquitine, il suffit à la dégradation par un complexe de plusieurs sous-unités, le protéasome 26S (Zhang et Xie, 2007)

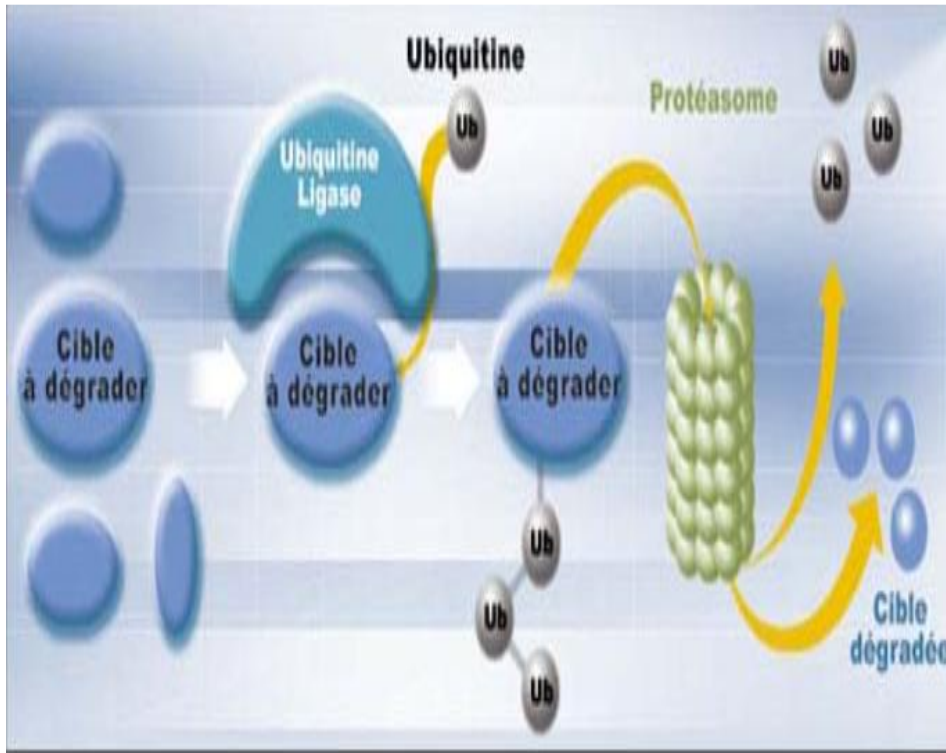


Figure 5: la voie ubiquitine protéasome (Etienne, 2001). L'ubiquitination est la formation d'une chaîne d'ubiquitine sur la protéine (« cible à dégrader » sur le schéma) destinée à être dégradée par le protéasome. Les ligases sont les enzymes qui réalisent la liaison entre l'ubiquitine et la protéine cible. Les protéines cibles ainsi ubiquitinées sont reconnues par le protéasome. Une fois la protéine cible dégradée, les chaînes d'ubiquitine sont ensuite clivées et peuvent à nouveau se lier à d'autres cibles

3.3. La dégradation des lipides : Pendant la sénescence, on observe un déclin de l'intégrité structurelle et fonctionnelle des membranes cellulaires en raison d'un catabolisme accru des lipides membranaires (figure06). (Thompson *et al.*, 1998). Les enzymes dégradant les

lipides comprennent la phospholipase D, la phosphatase de l'acide phosphatidique

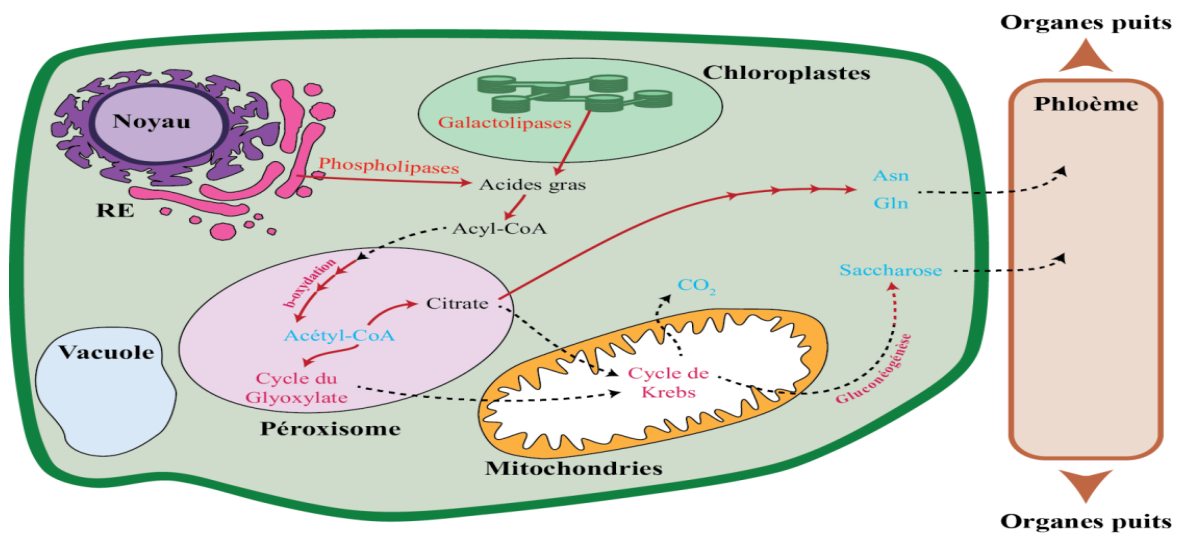


Figure 6 : Principales phases et principaux acteurs de la dégradation des lipides pendant la sénescence foliaire (Troncoso-Ponce *et al.*, 2013). Les galactolipases et phospholipases libèrent des acides gras à partir des glycolipides et phospholipides dans les chloroplastes, le réticulum endoplasmique (RE) ou à partir des autres membranes. Après activation en Acyl-CoA, la b-oxydation dans le péroxysome permet la production de l'intermédiaire principal : l'Acétyl-CoA. Il y a ensuite trois voies cataboliques possibles (1) via le cycle de Krebs par le Citrate, (2) via le cycle du Glyoxylate qui conduit potentiellement à la production de saccharose exportable et (3) la conversion en Glutamine et Asparagine à partir du citrate qui peuvent être exportés vers le phloème. Les réactions enzymatiques sont représentées par des flèches rouges et le transport ou la diffusion par des flèches noires.

3.4. Le recyclage des nutriments : Les nutriments libérés par les processus de dégradation que nous venons de mentionner sont transférés vers des régions en croissance active, comme les jeunes feuilles, les bourgeons, les fruits et graines en développement. Chez *Arabidopsis*, les niveaux de C, Cr, Cu, Fe, K, Mo, N, P, S et Zn diminuent de plus de 40 % pendant la sénescence des feuilles, mais le nutriment le plus recyclé est l'azote (90%) (Himmelblau et Amasino, 2001).

4. Les manifestations de la sénescence au niveau des organites

4.1. Au niveau du chloroplaste : Le premier organite touché est le chloroplaste. Désigné par le terme gérontoplaste, les chloroplastes sénescents sont caractérisés par un nombre restreint de thylakoïdes (Zavaleta-Mancera *et al.*, 1999). D'un point de vue physiologique, une réduction de la capacité photosynthétique se traduisant par une baisse de fonctionnement du transport d'électrons des photosystèmes I et II (PSI, PSII) a été observée avant même que les pigments chlorophylliens soient dégradés (Stressman *et al.*, 2002). Ce déclin de la capacité de transfert des électrons entraîne une réduction de la

production de NADPH, H⁺ et d'ATP au cours de la phase lumineuse de la photosynthèse. Par conséquent, ces événements provoquent une diminution de l'assimilation de CO₂ observée chez *Arabidopsis* au début de la sénescence foliaire (Stressman *et al.*, 2002). Ainsi, l'énergie lumineuse n'est plus utilisée par les feuilles sénescentes pour la photosynthèse mais est restituée à la plante sous forme d'excès d'énergie d'excitation. Cet excès énergétique conduit à la formation de ROS dans le chloroplaste.

4.2. Au niveau de peroxyosome : La transition fonctionnelle du peroxyosome en glyoxysome est une étape importante de la sénescence caractérisée par une augmentation du niveau d'expression de l'activité des enzymes impliquées dans le cycle glyoxylate. L'implication de ce cycle a été mise en évidence par l'induction de deux gènes codant chacun une enzyme de cette voie : la malate synthase et l'isocitrate lyase, au cours de la sénescence de feuilles d'orge, de riz, de betterave et de courge (De Bellis *et al.*, 1990). Le cycle glyoxylate transforme ensuite l'acétyl-CoA en citrate, oxaloacétate et succinate. Le succinate est ensuite acheminé vers la mitochondrie et alimente le cycle de Krebs permettant ainsi la production de malate.

Le malate est ensuite véhiculé vers le cytosol, via des « navettes malate », pour la production de phosphoénolpyruvate (PEP), point de départ de la gluconéogénèse pour la formation des glucides.

4.3. Au niveau de la mitochondrie : essentielles pour la production de l'énergie requise pour le fonctionnement du métabolisme énergétique au cours de la sénescence, sont naturellement les derniers organites affectés (Yoshida, 2003). Les mitochondries sont fonctionnelles jusqu'à des stades tardifs de la sénescence. Le maintien des capacités respiratoires est important dans le processus de sénescence foliaire et la production d'ATP nécessite un fort approvisionnement en métabolites tels que le glucose et les acides gras.

5. Les manifestations de la sénescence au niveau moléculaire

Le processus de sénescence foliaire est associé à de profondes modifications de l'expression des gènes du génome nucléaire. Le noyau, requis pour la transcription des gènes nécessaires à l'exécution de la sénescence (par exemple ceux codant des protéases, des RNases, des glutamines synthétases...), est un des derniers constituants cellulaires à être dégradé. Les ARN sont rapidement dégradés alors que l'ADN nucléaire reste intact.

5.1.Expression génétique et régulation durant la sénescence foliaire

La sénescence des feuilles est une partie intégrante du développement de la plante et constitue le dernier stade de développement. Le moment de la sénescence des feuilles est donc contrôlé par l'âge de développement. Toutefois, le processus de sénescence, y compris le taux de sénescence est influencé par divers facteurs environnementaux et internes. Il est évident que de multiples voies correspondant à divers facteurs internes et externes doivent exister et être interconnectées pour former un réseau complexe de voies de régulation de la sénescence. La sénescence des feuilles s'accompagne d'une augmentation de l'expression des gènes. Toutefois un système de classification sur l'expression différentielle des gènes au cours de la sénescence a été élaboré (Buchanan –Wollaston , 1997). Parmi ces groupes il existe les SDG (senescence down regulated gene) , tels que les gènes liés à la photosynthèse et à la synthèse des protéines ; qui se caractérisent par une diminution de l'expression au fur et à mesure que la sénescence progresse . Parallèlement d'autres gènes nommés SAG (senescence associated genes). (Figure 09) Ces gènes sont induit au cours de la sénescence, sont répartis en deux classe :

- Les SAG classe 1 regroupent les gènes qui sont exprimés au cours de la sénescence.
- Les SAG classe 2 réunissent les gènes dont les transcrits sont détectables dès les premiers stades (expression constitutive) et augmentent lors de la sénescence (Gan et Amissino, 1997).

La majorité des SAG codent pour des hydrolases tel que RNase , DNase , protéases . (SAG12 code pour protéase à cystéine), (SAG 101 code pour phospholipase). D'autres codent pour des facteurs de transcriptions impliquées dans la cascade de signalisation de la mise en place de la sénescence (WRKY6). Elles sont aussi impliquées dans le transport des nutriments. L'identification et l'analyse des SAG, en particulier les études à l'échelle du génome sur l'expression des gènes pendant la sénescence des feuilles, permettent de déchiffrer les mécanismes moléculaires de la perception des signaux, de l'exécution et de la régulation du processus de sénescence des feuilles.

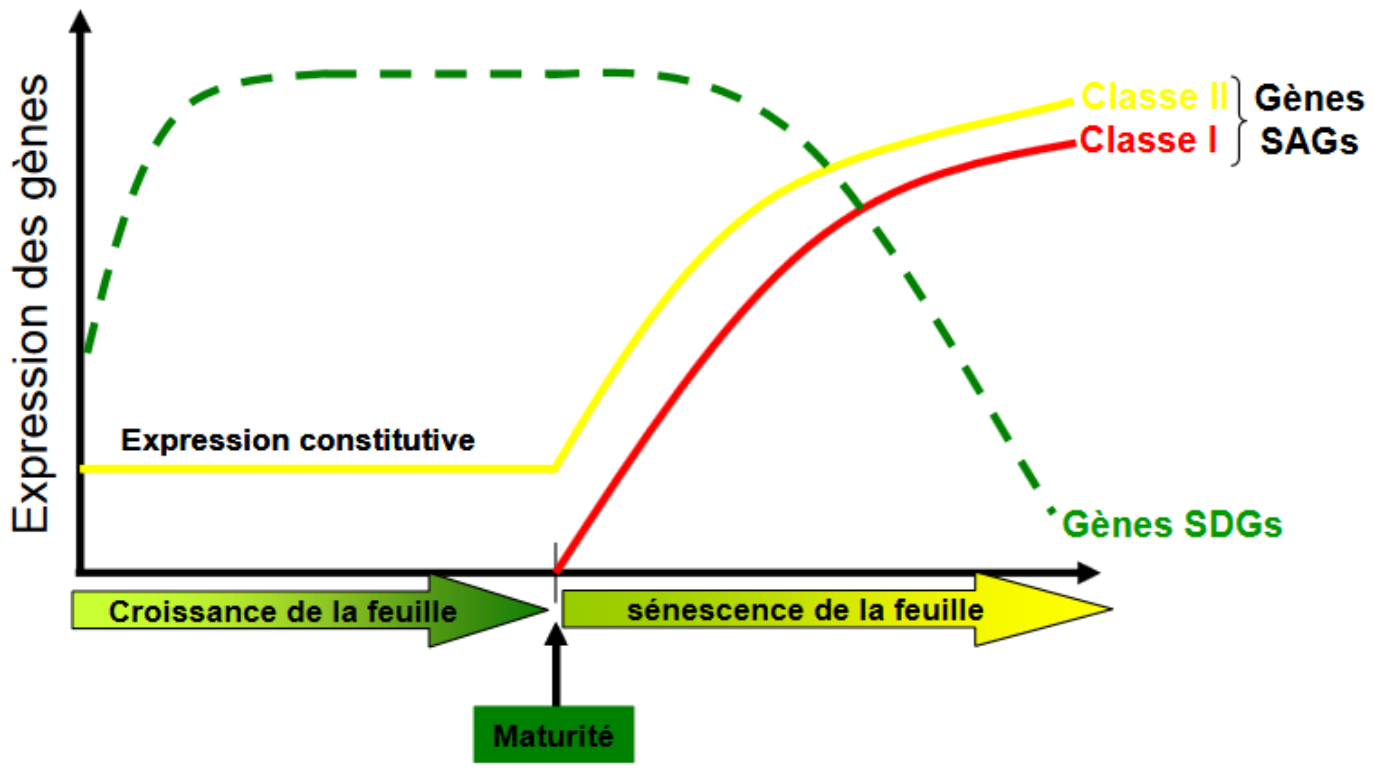


Figure 7: Schéma de l'expression différentielle des gènes SAGs et SDGs durant le développement de la feuille (Gan et Amasino, 1997).SDGs : Senescence Down-regulated Genes. SAGs : Senescence Associated Genes. Les SAGs se décomposent en deux classes : classe I et classeII

5.1.1. Régulation de la transcription de gènes au cours de la sénescence développementale

L'étude des facteurs de transcription qui contrôlent l'apparition de la sénescence a permis d'identifier des réseaux de gènes associés à la sénescence. Dans plusieurs cas, les réseaux transcriptionnels découverts peuvent expliquer l'engagement croissant de la feuille pour subir la sénescence. (figure08)

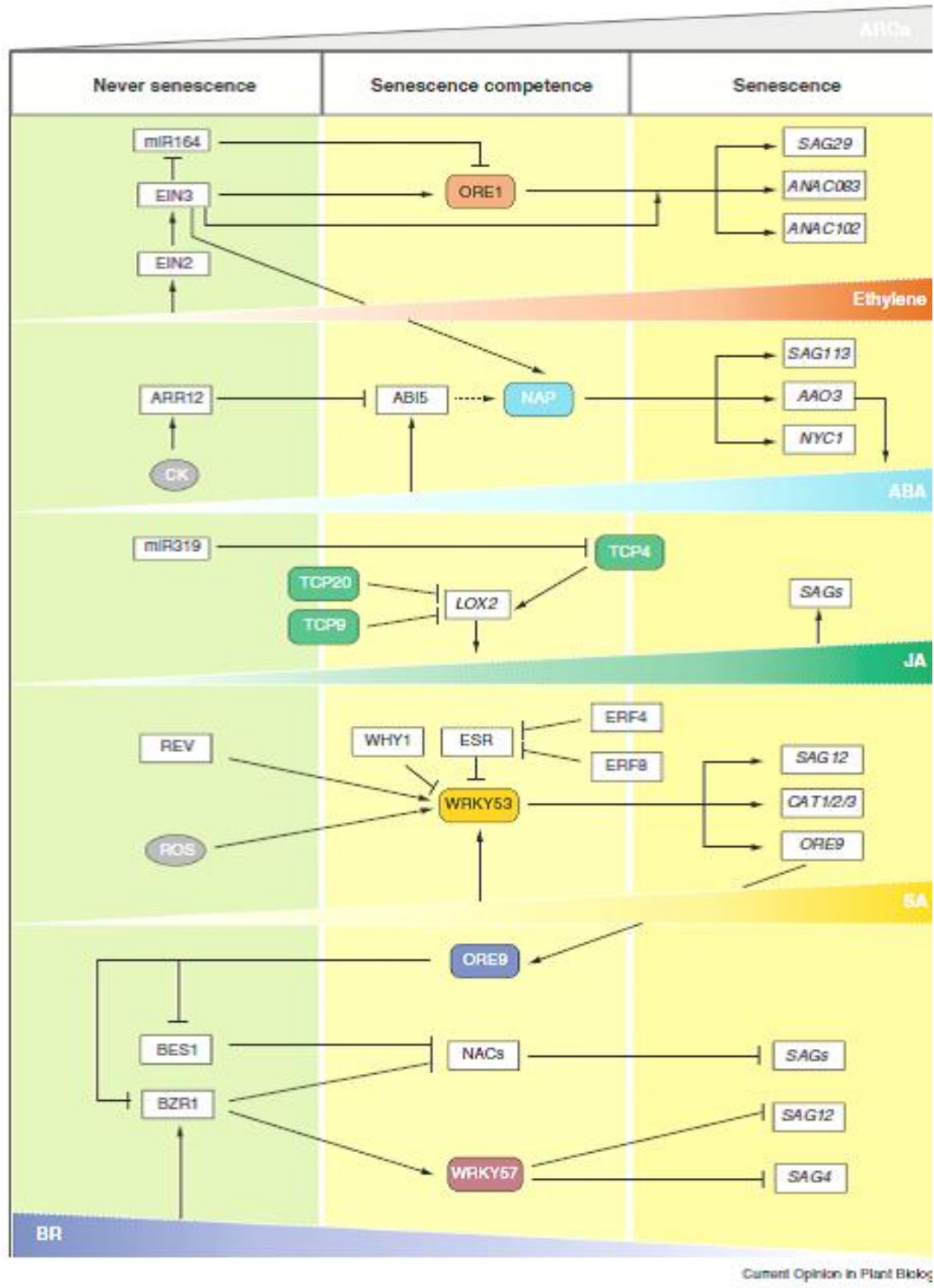


Figure 8: les réseaux transcriptionnels contrôlant la sénescence développementale chez les plantes. (schispper , 2015)

Le développement des feuilles commence par la phase de non-sénescence (vert), suivie d'une phase de compétence de sénescence (vert clair), puis passe à la phase de sénescence permanente (jaune). Cette progression du vieillissement des feuilles implique une accumulation constante de changements liés à l'âge (ARC), et une augmentation du niveau

des hormones qui favorisent la sénescence ou une diminution de celles qui la retardent. Une diminution progressive des niveaux de miR164 entraîne l'activation de l'ORE1 (orange) en fonction de l'éthylène. Pour qu'à la fin, l'EIN3 et l'ORE1 forment une boucle de feed-forward qui déclenche le début de la sénescence. (Li Z et al., 2013)

Le rôle de l'ABA (bleu clair) dans la régulation de la couleur des feuilles au cours de la sénescence est établi par l'action du NAP. Au cours des premiers stades du développement des feuilles, les niveaux du régulateur en amont du NAP, ABI5, sont réprimés par l'action de la cytokinine. Le déclin progressif de la cytokinine et l'augmentation des niveaux d'ABA entraînent l'activation du NAP qui stimule non seulement la biosynthèse de l'ABA mais aussi la dégradation de la chlorophylle.

La biosynthèse de l'ABA (vert) est réprimée pendant les premiers stades du développement des feuilles par les facteurs de transcription TCP de classe I (TCP9 et TCP20) et miR319.

Avec l'âge, l'action de miR319 est réduite et les facteurs de transcription TCP de classe II (TCP4) exercent un contrôle positif sur la biosynthèse JA, provoquant l'induction de la sénescence. WRKY53 représente un régulateur central de SA (jaune) et de ROS, dont l'activité est limitée par l'ESR et régulée positivement par la REV.

L'augmentation de l'activité des ERF4 et ERF8 en fonction de l'âge entraîne la répression de l'ESR et la libération de l'activité de WRKY53 pour provoquer l'apparition de la sénescence.

L'une des cibles directes de WRKY53, ORE9, code une protéine F-box qui réprime l'activité de BR (bleu) pendant les derniers stades de développement des feuilles en ciblant BZR1 et BES1 pour la dégradation.

BZR1 et BES1 sont connus pour réprimer directement l'activité de plusieurs gènes NAC liés à la sénescence. En outre, BZR1 active le répresseur transcriptionnel WRKY57, qui bloque l'expression de SAG4 et SAG12 (Schipper, 2015).

5.1.2. Sénescence induite par l'environnement

Les changements transcriptionnels pendant la sénescence développementale se chevauchent largement avec celles observées pendant la sénescence induite par les signaux environnementaux. Néanmoins, les profils initiaux d'expression génétique de la sénescence induite et la sénescence développementale diffèrent sensiblement, ce qui indique que la réponse primaire de la plante au stress est la conservation de la feuille, et ce uniquement sous conditions de stress, la sénescence est induite. Ici, plusieurs exemples de réseaux transcriptionnels liés à l'environnement les travaux contrôlant la sénescence pendant le stress abiotique sont résumés. (Figure 09)

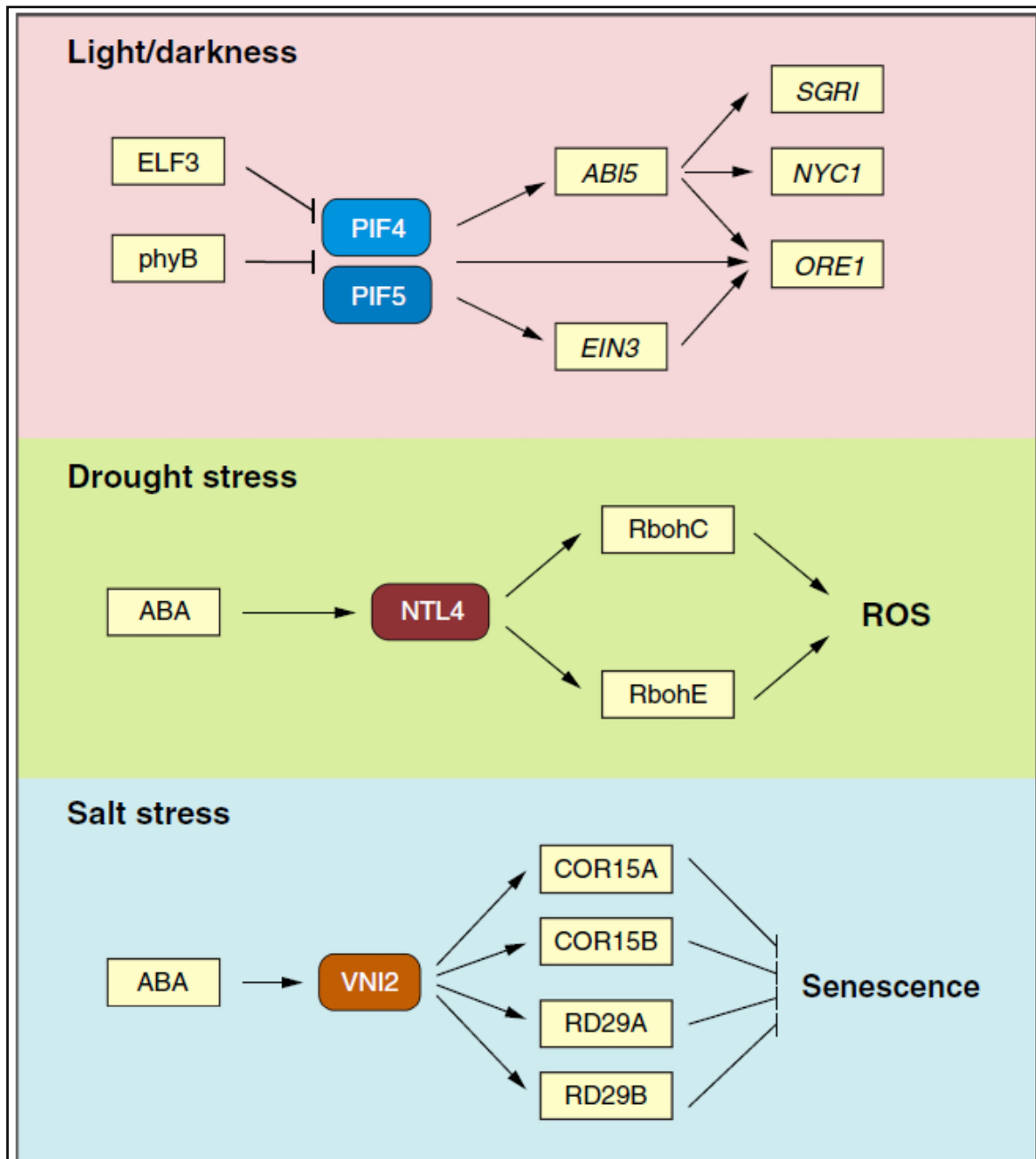


Figure 9: Réseaux transcriptionnels contrôlant l'apparition de la sénescence en réponse à l'environnement (schipper ,2015)

La privation de lumière (violet) entraîne la stabilisation de la PIF4 et PIF5, qui, sous l'effet de la lumière, sont ciblés pour être dégradés par le phyB. En outre, au niveau transcriptionnel, les deux gènes PIF sont réprimés par le facteur de transcription de l'horloge du soir ELF3. L'obscurité prolongée entraîne une cascade de feed-forward contrôlée par le PIF qui active l'expression ABI5, EIN3 et ORE1, entraînant un début de sénescence robuste.

Pendant un stress de sécheresse (en vert), le facteur de transcription NTL4 de NAC est activé à la fois à le niveau transcriptionnel ainsi que le niveau post-traductionnel. Par la suite,

Chapitre 01 : Aspects morphologique, biochimique et moléculaire de la sénescence foliaire

NTL4 induit l'expression de RbohC et RbohE, ce qui provoque une accumulation de ROS et apparition ultérieure de la sénescence et de la mort cellulaire.

En fonction de la salinité (bleu), le VNI2 est activé de manière dépendante de l'ABA pour protéger les feuilles de la précieuse sénescence. Pour cela, le VNI2 favorise l'expression des COR15A/B et RD29A/B, en apportant une tolérance au stress salin (schipper ,2015).

Chapitre 02 :

***Quelques gènes impliqués dans la
régulation de la sénescence chez le blé
en condition de stress abiotique***

1. La sénescence induite par le stress et le rendement des cultures

Les stress abiotiques entraînent des pertes de 20 à 70 % de la production agricole mondiale (Datta, 2004). La sécheresse, la chaleur, le froid, la carence en nutriments, l'excès de sel ou de métaux toxiques sont des facteurs environnementaux majeurs qui limitent la productivité des plantes et affectent la qualité des aliments dans l'agriculture (Zhu, 2016). Dans les conditions de terrain, les cultures sont exposées à une combinaison de stress se produisant simultanément (Mittler, 2006). Le changement climatique et le réchauffement de la planète augmenteront probablement la fréquence des phénomènes météorologiques extrêmes (Porter et Semenov, 2005), ce qui entraînera des conditions de stress supplémentaires et des dommages plus graves. Cette tendance est également soulignée dans les modèles de changement climatique par rapport aux modèles de production végétale, et on estime que ces changements entraîneront une réduction du rendement des principales cultures telles que le maïs, le blé et le riz (Mickelbart *et al.*, 2015), ce qui représente un nouveau défi pour l'amélioration des cultures et la biotechnologie végétale pour le développement de nouvelles variétés de cultures ayant une tolérance accrue au stress abiotique.

Les facteurs environnementaux affectent plusieurs mécanismes des plantes aux niveaux moléculaire, morphologique et physio-biochimique (Wang *et al.*, 2003). Ces facteurs affectent le rendement et la productivité en altérant l'homéostasie métabolique des plantes (Albacete *et al.*, 2014). Le stress abiotique induit une sénescence et un jaunissement prématurés des feuilles en raison de la dégradation de la chlorophylle et d'autres composants chloroplastiques, entraînant une réduction de l'activité photosynthétique.

Plusieurs groupes de facteurs de transcription (FT), dont NAC, WRKY, MYB, AP2/EREBP et bZIP, ont un rôle important dans la régulation de la sénescence induite par l'âge chez de nombreuses espèces végétales telles que l'*Arabidopsis* (Woo *et al.*, 2013) et le blé (Gregersen et Holm, 2007). Il est intéressant de noter qu'il a été démontré que les mêmes groupes de FT sont également impliqués dans la tolérance au stress des plantes. Par exemple, la surexpression de ANAC092/AtNAC2/ORE1 cause une sénescence induite par la salinité, alors que la sénescence est retardée dans les plantes *anac092* qui ont subi un knockdown.

De plus, l'analyse du réseau de régulation du gène ANAC092 sous stress a révélé que d'autres facteurs NAC FT associées à la sénescence (*senNAC*) sont également impliquées dans la sénescence induite par le stress. Il a été démontré que les effets de la surexpression d'ANAC092 sont associés à la signalisation médiée par H₂O₂ (Balazadeh *et al.*, 2010)

2. Quelques hormones végétales et des gènes candidats qui sont impliqués dans la régulation de la sénescence de la feuille étandard chez le blé en réponse au stress hydrique

Le blé (*Triticum aestivum L.*) est l'une des principales cultures du monde. Le stress hydrique est son principal facteur environnemental limitant et affecte gravement la production mondiale de blé (Anjum *et al.*, 2011 ; Rivero *et al.*, 2007) .

Le stress hydrique se produit fréquemment pendant la phase de remplissage du grain du blé, ce qui accélère le processus de sénescence des feuilles chez les cultivars de blé. En conséquence, les grains restent incomplètement remplis, ce qui entraîne finalement des pertes de rendement agricole dans le monde entier (Abid *et al.*, 2017 ; Gregersen *et al.*, 2013 ; Yang et Zhang, 2006).

Des études antérieures indiquent que l'effet du stress lié au déficit en eau sur la croissance et le développement des cultures est un processus compliqué. En conséquence, les plantes disposent d'une série de mécanismes pour atténuer les effets négatifs du stress lié au déficit en eau. La réaction des cultures au stress lié au déficit en eau a des effets morphologiques, physiologiques et biochimiques ainsi que moléculaires, y compris les changements dans la croissance et le développement, les adaptations morphologiques, la photosynthèse, l'activité enzymatique antioxydante, substances d'ajustement osmotique, des hormones endogènes et des gènes induits par la sécheresse (Zhu, 2016).

Les chercheurs ont découvert que le stress hydrique est défavorable à la croissance et au développement des cultures en raison de la diminution de la division et l'élongation cellulaire (Lawlor et Cornic , 2002), qui a finalement réduit la biomasse et l'indice de récolte des cultures (Kumar *et al.*, 2017). En outre, l'équilibre entre la production et le piégeage des ROS (en particulier l'O₂ - et H₂O₂) dans les chloroplastes, les mitochondries, les peroxysomes et dans les cellules des cultures est perturbée par la sécheresse, ce qui provoque des lésions des membranes, ainsi la dégradation des protéines induit un stress oxydatif (Zlatev et Lidon, 2012). Les enzymes antioxydantes telles que SOD, POD, CAT et APX jouent un rôle essentiel dans la suppression des ROS excessifs induite par le stress hydrique (Ahanger et Agarwal, 2017).

Le stress hydrique accélère la sénescence des feuilles, tandis que le retardement de la sénescence induit une tolérance extrême à la sécheresse chez les plantes à fleurs (Rivero *et al.*, 2007). Ce processus compliqué coordonne évidemment les phases de début de processus et

d'achèvement de la sénescence des feuilles qui sont étroitement liés à une reprogrammation extensive des gènes (Jan *et al.*, 2018 ; Koyama, 2014). Les feuilles étendards sont des organes photosynthétiques majeurs lors du remplissage des grains du blé, ce qui apporte une contribution majeure (41%-43%) au rendement (Blake *et al.*, 2007 ; Sharma *et al.*, 2003).

Yongli Luo *et al.*, (2019) ont effectué une analyse des changements d'indicateurs physiologiques, biochimiques et moléculaires dans les feuilles étendards de deux variétés de blé (Fu287 sensible et Shannong20 tolérante) soumises à un stress de déficit hydrique au stade du remplissage du grain. Une vue d'ensemble des mécanismes physiologiques et moléculaires régulant la réponse de la sénescence des feuilles à la sécheresse ouvre la voie à la manipulation du blé en recherchant des mesures de culture et de contrôle chimique appropriées pour améliorer sa résistance à la sécheresse.

2.1.L'analyse du contenu des hormones sous traitement du déficit hydrique

Les résultats du (Yongli Luo *et al.*, 2019) montrent l'évolution d'une variété de phytohormones sous différents traitements de l'eau. Avec l'augmentation de la gravité du stress hydrique, les teneurs en AS, AJ et ABA et le rapport entre GA 3 et ZR ont été améliorés. Par rapport aux traitements qui ont un apport en eau très suffisant, la teneur en AS a été augmentée de 27,42 %, 72,57 % et 144,86 % dans les traitements à déficit d'eau moyen, à déficit d'eau modéré et à déficit d'eau grave, respectivement. En outre, le contenu AJ a été augmenté de 73,26 %, 146,11 % et 303,01 %, tandis que le contenu ABA a été amélioré de 34,51 %, 79,32 % et 104,71 %, respectivement. Les résultats montrent également que les teneurs en Z, ZR et GA3 et les ratios d' AS à AJ et d'ABA à AJ ont été réduits sous le stress du déficit hydrique. Par rapport aux traitements non déficitaires en eau, la teneur en Z a diminué de 14,40%, 36,08% et 53,64% et le contenu ZR a été réduite de 46,26 %, 71,16 % et 83,89 %, respectivement.

En outre, le contenu du GA3 a également été réduit de 25,00 %, 45,92 % et 67,01 %, respectivement. Les résultats indiquent que AJ était le plus sensible au stress de la sécheresse, et Z était le moins sensible.

Les Analyses des changements des phytohormones endogènes dans différents périodes après l'exécution de l'anthèse. La teneur en hormones endogènes a d'abord augmenté, puis a progressivement diminué avec le processus de croissance. Le contenu de tous les hormones étaient les plus faibles à 30 jours après l'anthèse. Le contenu de SA, JA, ABA et Z étaient plus élevés, à 15-20 jours après l'anthèse, tandis que les contenus de ZR et GA3 étaient plus élevés, entre 10 et 15 jours après l'anthèse. Les résultats suggèrent que les

réponses de différentes hormones au processus de sénescence des feuilles de blé diffèrent. Le contenu de AS, AJ, Z, ZR et GA3 dans le génotype SN20 résistant à la sécheresse étaient plus élevés que ceux de la le génotype F287 du blé sensible à la sécheresse, tandis que le contenu de l'ABA dans le SN20 était plus faible. Les teneurs en hormones endogènes étaient différentes dans des variétés de blé présentant une résistance variable à la sécheresse.

Il est bien établi que le processus de sénescence des feuilles est régulé par les hormones endogènes des plantes (Luo *et al.*, 2018). Par exemple, la réduction des cytokinines et l'augmentation des niveaux d'ABA régulent la phase de réorganisation de la sénescence des feuilles (Sarwat *et al.*, 2013). L'éthylène, les AJ, les ABA et les AS agissent en tant que renforceurs de la sénescence des feuilles, tandis que les cytokinines, l'GA et les auxines retardent sénescence (Ha *et al.*, 2012 ; Jibrán *et al.*, 2013). Les cytokinines et l'éthylène sont les phytohormones les plus importantes qui régulent le moment de la chute des feuilles sénescence (Jan *et al.*, 2018). Le cross talk hormonal, en particulier l'interaction entre les cytokinines et l'ABA, serait impliquée dans le contrôle de la réponse de la sénescence des feuilles au stress lié au déficit hydrique (Munné-Bosch et Alegre, 2004)

Dans cette étude menée par (Yongli Luo *et al.*, 2019), le contenu endogène en AJ était le plus sensible au stress lié au déficit en eau. En revanche, la teneur en Z endogène était la plus insensible au déficit en eau. L'étude montre également que la concentration d'AS, AJ et ABA avait des corrélations positives avec le taux de sénescence initial et la moyenne de la sénescence. Mais, il y avait une corrélation négative significative avec taux de sénescence maximum, la durée de la feuille étandard étant photosynthétiquement active, la température cumulative du point d'inflexion, qui est le temps thermique cumulé lorsque la sénescence est à son maximum. au contraire, les concentrations de Z, ZR et GA3 montrent une relation inverse avec les paramètres de sénescence, ce qui indique que différentes hormones endogènes jouent des rôles divers dans la réponse de la sénescence des feuilles au stress de la sécheresse.

2.2.Analyse moléculaire

Pour explorer les mécanismes moléculaires de la sénescence de la feuille étandard influencée par les stades et le stress du déficit hydrique, des analyses ARN-Seq ont été effectuées pour générer des profils de transcriptome global. Yongli Luo *et al.*, (2019) ont choisi deux variétés de blé, F287 (un génotype sensible à la sécheresse) et SN20 (un génotype résistant à la sécheresse).

Chapitre 02 : Quelques gènes impliqués dans la régulation de la sénescence chez le blé en condition de stress abiotique

Ils ont validé les schémas d'expression de 15 gènes (dont six gènes liés au système antioxydant et neuf gènes associés à la sénescence) dans les deux variétés de blé par RT-qPCR. Les gènes présentant une forte corrélation ($r > .70$) entre les données ARN-Seq et les données validées par RT-qPCR ont été analysés.

Un grand nombre de gènes qui sont suréxprimés pendant la sénescence sont des gènes associés à la sénescence (SAG). L'expression des TaSAG3, TaSAG4, TaSAG5, TaSAG7 et TaSAG8 augmente avec le processus de croissance. Les niveaux d'expression des TaSAG3, TaSAG4, TaSAG5, TaSAG7 et TaSAG8 ont été augmentés avec l'augmentation du stress lié au déficit en eau. En outre, les niveaux d'expression des TaSAG4, TaSAG5 et TaSAG8 dans le SN20 étaient inférieurs à ceux du F287. En revanche, l'expression de TaSAG3 à 5 jours après l'anthèse dans SN20 était inférieure à celle de F287, alors qu'il était supérieur à celle de F287 à 15 et 23 jours après l'anthèse. L'expression de TaSAG6 dans SN20 était plus élevée que celle de F287 à 5 et 15 jours après l'anthèse, alors qu'il était inférieur à celui de SN20 à 23 jours après l'anthèse. L'expression de TaSAG7 dans SN20 était plus élevée que celle de F287, alors qu'il était plus faible à 15 et 23 jours après l'anthèse. Les résultats ci-dessus ont également indiqué que le TaSAG4, TaSAG5, et TaSAG8 pourraient être utilisés comme marqueurs moléculaires pour évaluer la sénescence de la feuille étandard chez le blé (Yongli Luo *et al.*, 2019).

Pour obtenir une compréhension complète de la réglementation des gènes et d'identifier les réponses génétiques spécifiques au déficit en eau au cours des étapes de remplissage des grains de blé, ils ont effectué le WGCNA (Langfelder et Horvath, 2008). Les gènes à faible expression ont été filtrés, et 65 535 gènes ont été pris en compte pour l'analyse. Des recherches antérieures ont montré que les réseaux de co-expression sont établis sur la base des corrélations entre les paires de gènes l'expression dans tous les échantillons. Les modules sont définis comme des groupes de gènes fortement interconnectés. Dans la présente étude, un total de 33 gènes distincts (étiquetés avec des couleurs différentes) ont été identifiés pour les deux variétés de blé. Les gènes approuvés par cette étude sont présentés dans le tableau 01

Tableau 1 : les gènes candidats divisés sur quarts modules (Yongli Luo *et al.*, 2019)

Gene	description
SN20-specific lightpink 2 module	
TraesCS1B01G107600	Sucrose-6-phosphatase
TraesCS1A01G203700	Chitinase 8
TraesCS1A01G450800LC	Serine/threonine-protein

	phosphatase 7
TraesCS1B01G115900	Peroxidase
TraesCS1B01G175500	Uncharacterized LOC4344889
TraesCS1B01G048900	Histone H2A
	SN20-specific thistle 4 module
TraesCS1B01G008200	Charged multivesicular body protein 5
TraesCS1B01G038100	PGR5-like protein 1A, Chloroplastic
TraesCS1B01G038800	Protein kinase APK1A, Chloroplastic
TraesCS1B01G080300	Low temperature- induced protein lt101.2
TraesCS1A01G315400 E3	ubiquitin-protein ligase
TraesCS1B01G103700	DIBOA-glucoside dioxygenase BX6
	F287-specific blue 2 module
TraesCS1A01G104500	Replication factor A1
TraesCS1A01G050000LC	Actin-depolymerizing factor 7
TraesCS1A01G445500	Eukaryotic translation initiation factor 2C
TraesCS1B01G119400	Glycine-rich cell wall structural protein 1.0
TraesCS1B01G335700LC	Syntaxin-binding protein 1
TraesCS1B01G446300	7-dehydrocholesterol reductase
	SN20-specific at 5, 15 DAA skyblue 4 module
TraesCS1A01G539700LC	Uncharacterized protein
TraesCS1A01G542500LC	Uncharacterized protein ycf70
TraesCS1A01G065500	Uncharacterized LOC4348457
TraesCS1A01G264500	Amino acid permease 3
TraesCS1A01G379200LC	Uncharacterized protein
TraesCS1B01G454800	Hexose carrier protein HEX6
	F287-specific at 5, 15 DAA plum 3 module
TraesCS1A01G087100	Uncharacterized LOC4329709
TraesCS1A01G250300	Ubiquinol-cytochrome c reductase subunit 9
TraesCS1A01G352800	F-type H⁺-transporting ATPase subunit G
TraesCS1A01G386300	Large subunit ribosomal protein

	L37Ae
TraesCS1A01G120900	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase
TraesCS1B01G413700	Large subunit ribosomal protein L37Ae
	Specific at 5 DAA darkolivegreen module
TraesCS1A01G030000	Uncharacter LOC4337587ized
TraesCS1A01G057200	Glutamyl-tRNA reductase
TraesCS1A01G315300	UDP-glucose 4,6-dehydratase
TraesCS1A01G392000	Photosystem I reaction center subunit VI
TraesCS1A01G540400LC	Uncharacterized protein
TraesCS1A01G056200	Uncharacterized protein
	Specific at 23 DAA lightslateblue module
TraesCS1A01G182700 10	Plant UBX domain-containing protein
TraesCS1A01G173500	F-box/LRR-repeat protein
TraesCS1A01G072200	Acetylornithine aminotransferase
TraesCS1A01G049700 RS2Z3	Serine/arginine-rich splicing factor
TraesCS1A01G221800	Sorting nexin 2A
TraesCS1A01G183000	Alpha, alpha-trehalase

Le module bleu 2 était fortement lié aux substances d'ajustement osmotique. Ils ont émis l'hypothèse que les gènes candidats souexprimé dans le module bleu 2 pourraient améliorer la résistance à la sécheresse en régulant le système de régulation osmotique.

En outre, les gènes du module skyblue 4 ont été surexprimés dans SN20 à 5 et 15 jours après l'anthèse, mais ont été fortement exprimées dans F287 à 23 jours après l'anthèse. En revanche, les gènes spécifiques du module plum 3 (224) étaient fortement réglementés en F287 à 5 et 15 jours après l'anthèse, mais ont été surexprimés dans SN20 à 23 jours après l'anthèse. Le module skyblue 4 avait une forte corrélation avec et le module plum 3 était très pertinent pour les substances d'ajustement osmotique.

Yongli Luo *et al.*, (2019) ont supposé que les gènes candidats de ces modules, qui ont joué un rôle dans la réponse à la sécheresse, et il ont marqué un déphasage entre leurs expression .

Chapitre 02 : Quelques gènes impliqués dans la régulation de la sénescence chez le blé en condition de stress abiotique

Les gènes candidats pourraient être un objectifs pour la mise au point de variétés de blé tolérantes à la sécheresse.

Ils ont également trouvé des gènes spécifiques à la sénescence dans le module lightslateblue et le module darkolivegreen. Les niveaux d'expression de ces gènes dans le module lightslateblue a été augmenté avec le processus de croissance.

Les niveaux d'expression de ces gènes dans le module lightslateblue a été augmenté avec le processus de croissance. Cependant, les 1 921 gènes du module darkolivegreen ont été fortement exprimés à 5 jours après l'anthèse. Cela indiquait que le module lightslateblue était étroitement corrélé avec les substances d'ajustement osmotique, alors que le module darkolivegreen était étroitement lié à la teneur en chlorophylle.

Une hypothèse qui a été suggéré suppose que les gènes du module lightslateblue ont été surexprimé avec le processus de la sénescence en régulant le système d'ajustement osmotique. Celles-ci sont définies comme les gènes associés à la sénescence (SAG), tandis que les gènes centraux dans le darkolivegreen ont été identifiés comme étant des modules à sénescence réduite les gènes (SDG), qui affectent directement la teneur en chlorophylle.

Chapitre 03 :

Retardement de la sénescence foliaire pour un meilleur rendement

1. Le trait stay -green des cultures

Tout au long du processus de sénescence, on observe une augmentation de l'expression des gènes GCC, SWEET15, PES1, CV, SINA et d'autres gènes qui sont essentiels pour les processus cataboliques des feuilles. L'importance de ces gènes repose sur le fait que leur la capacité à accroître le recyclage des nutriments et leur transport vers les organes de réserves , par conséquent, ils sont fondamentaux pour la qualité et le rendement des céréales. Le contrôle de l'expression de ces gènes peut agir comme un outil pour l'amélioration du rendement des céréales. Il est intéressant de noter que Uauy *et al.*, (2006) ont décrit une lignée de blé avec un phénotype de sénescence précoce et une qualité de grain élevée, peut-être en raison d'un ancien catabolisme. Une surexpression prématurée de ces gènes peut cependant générer un phénotype de sénescence précoce et donc une baisse de la qualité des grains, en raison de la pénurie des nutriments dans les jeunes feuilles (figure 10 A).

En revanche, les variétés stay green sont des plantes qui présentent un retard de sénescence foliaire en maintenant leur zone de feuilles vertes actives pendant des périodes plus longues. Le phénotype stay green est une indication de la santé des plantes dans les champs et peut être associée à une tolérance accrue aux maladies, aux parasites et à la sécheresse (Moschen.S *et al.*, 2016). De nombreux chercheurs ont suggéré que le retard de la sénescence des feuilles peut avoir un impact positif sur les rendements agronomiques, vraisemblablement en maintenant la machinerie photosynthétique active, malgré l'état défavorable, notamment pendant la période de reproduction (Woo, H. R *et al.*, ,2004). Conformément à cette constatation, de nombreuses études ont fait état de corrélations positives entre la surface de feuilles vertes, la fin de la sénescence et la productivité (par exemple, dans le maïs, le sorgho, le blé, le tournesol, le riz et le soja). De plus, dans tous ces cas, cette sénescence tardive a permis d'augmenter le rendement des cultures (Wang. N , 2013). Cependant, cet effet positif dépend de l'interaction de chaque espèce avec l'environnement.

En outre, une fois la sénescence déclenchée, les événements de recyclage doivent se produire de manière consciente et doivent se synchroniser avec l'âge des feuilles pour maximiser la teneur en nutriments (figure 10 B). Cependant, si le phénotype stay green n'est pas accompagné du processus catabolique, il n'y a pas d'amélioration du rendement en grains. Cette caractéristique est connue sous le nom de "Stay-greens cosmétiques" (figure 10C).

En général, les génotypes de type sauvage et les variétés végétales ont fourni une source abondante de germoplasme 'stay green' . En outre, ces génotypes sont utiles pour la détection

des QTL et des gènes impliqués dans la sénescence. Ces génotypes peuvent également être utilisés pour étudier les modèles d'expression transcriptionnelle et la fonction biologique des gènes évalués. Plusieurs gènes, définis comme SAG (senescence-associated genes), varient leur expression tout au long de la sénescence. Parmi ces gènes, les facteurs de transcription sont des candidats particulièrement importants dans la génération des cultures stay green fonctionnelles. (Buchanan-Wollaston.V *et al.*, 2003)

Par conséquent, les analyses fonctionnelles sont essentielles pour confirmer l'influence réelle de ces gènes sur la sénescence. Les chercheurs évaluent généralement, et souvent confirment, le rôle des gènes candidats en les surexprimant ou en les souexprimant.

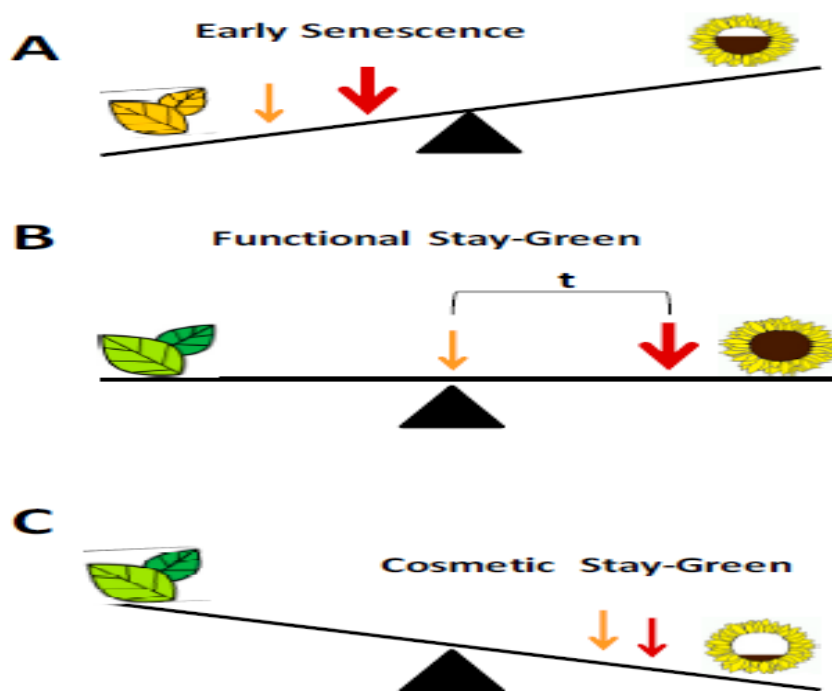


Figure 10 : Le phénotype stay green par rapport au processus de recyclage et de transport des nutriments (Bengoa Luoni, S *et al.*, 2019). Les flèches orange représentent la surexpression des gènes qui contribuent au déclenchement du processus de sénescence, tandis que les flèches rouges représentent la surexpression des gènes liés au processus catabolique des feuilles et au transport des nutriments. (A), la Sénescence précoce : Une expression élevée et précoce des gènes de recyclage/transport des nutriments. (B), Stay-Green fonctionnel : Un début de sénescence tardif peut augmenter l'accumulation des nutriments des feuilles et, si cela s'accompagne d'un bon système de recyclage/transport des nutriments, cela peut améliorer le rendement en grains. Le temps relatif d'activation des gènes est un point important dans la génération d'un phénotype stay green fonctionnel et stable. (C), Stay-Green cosmétique : Un début de sénescence tardif peut améliorer la teneur en nutriments de la feuille, mais si cela ne s'accompagne pas d'un bon système de recyclage/transport il n'y aura pas d'amélioration du rendement des céréales.

2. Les principaux facteurs de transcriptions qui peuvent réguler la sénescence foliaire chez le blé

Un retardement de la sénescence des feuilles a un fort impact sur la productivité des cultures. Les principales contributions pertinentes ont été effectuées sur *Arabidopsis*, puis évaluées sur des plantes monocotylédones comme le riz, le blé, l'orge, le maïs et le sorgho, ou sur des cultures dicotylédones comme, le soja, le coton et la vigne.

Sachant que le blé est la deuxième culture la plus répandue dans le monde (220 millions d'hectares) (Ortiz, R *et al.*, 2008) . Cette céréale est riche en glucides, en minéraux (par exemple, Zn, Fe) et en vitamines et a une teneur en protéines plus élevée que les autres grandes céréales ; toutes ces caractéristiques en font une source nutritionnelle importante. Le blé panifiable (*Triticum aestivum*) possède un génome hexaploïde qui combine trois génomes de graminées : *Aegilops speltoides*, *Triticum urartu* et *Triticum tauschii* (Shewry P.R , 2009). Par conséquent, toute amélioration génétique de cette culture devient extrêmement complexe. De plus, la découverte de la fonction SAG dans le blé n'a pas assez de repères en raison de l'existence du décalage entre l'orthologue NAC dans le blé et *Arabidopsis* (Borrill .P *et al.*, 2019) . Cependant, les besoins nutritionnels en N et en minéraux (Zn, Fe) du blé favorisent l'étude des FT qui peuvent améliorer la qualité des grains.

Malgré la complexité de son génome , Saidi *et al.*, (2017) ont identifié 168 gènes NAC dans le blé dur (génome AABB), y compris TtNAM-B1 (GPC-B1) et TtNAM-B2 (GPC-B2). Le TtNAM-B1 est un facteur de transcription NAC non fonctionnel chez le blé dur et le blé tendre . Cependant, le TaNAM-B1, un allèle sauvage du TtNAM-B1, est associé à la distribution des nutriments entre les feuilles et les grains en développement.

Un locus associé à la sénescence précoce des feuilles et à l'augmentation de la teneur en protéines du grain (CPG) a été identifié sur le chromosome 6B du blé sauvage (*Triticum turgidum subsp. dicoccoides*). Les lignées portant le gène TaNAM-B1 , le gène responsable du phénotype Gpc-B1 ; présentent une augmentation de 10 % de la teneur en protéines du grain (CPG) ainsi qu'en zinc et en fer (Brevis J.C , 2006). Il est intéressant de noter que ces plantes présentent également une sénescence précoce. (Uauy.C , 2006)

Le blé recombinant avec ce locus Gpc-B1 a montré une sénescence précoce des feuilles et une meilleure remobilisation des acides aminés de la feuille étandard, augmentant ainsi la

Chapitre 03 : Retardement de la sénescence foliaire pour un meilleur rendement

CPG sans réduire le rendement du grain (Kade *et al.*, 2005) . Un ARNi knockdown du NAM-B1 a entraîné un retard de la sénescence des feuilles, une réduction de la remobilisation de l'azote des feuilles et par conséquent une CPG plus faible (Waters *et al.*, 2009).

D'autre part, ces gènes homologues chez le blé hexaploïde GPC-A1 et GPC-D1 avaient un rôle redondant dans la régulation de la sénescence monocarpique et la remobilisation des nutriments (Pearce.S *et al.*, 2014) . Les mutations des facteurs de transcriptions NAC peuvent retarder la sénescence et inhiber le recyclage des nutriments dans les dernières étapes de ce processus, bien que le poids des grains ait été non affecté (Avni. R *et al.*, 2014) . Ces données soulignent l'importance de connaître non seulement la fonction du gène candidat, mais aussi la contribution de son homologue principalement dans les cultures polyploïdes, où l'on peut s'attendre à des redondances.

Un autre gène NAC récemment signalé, le TaNAC-S, est un régulateur négatif de la sénescence des feuilles. Les plantes de blé surexprimant TaNAC-S présentent un phénotype fonctionnel stay green avec des rendements de grains et une concentration de protéines de grains accrus (Zhao.D *et al.*, 2015). D'autre part, Borrill *et al.*, (2019) a décrit trois groupes de gènes qui surexpriment pendant les stades tardifs de la sénescence chez *Triticum aestivum*. Le premier groupe comprend deux gènes présentant une forte homologie avec le NAP gène d'*Arabidopsis* (TraesCS5A02G143200 et TraesCS5B02G142100). Le second groupe contient deux gènes ayant une identité supposée avec ANAC082 (TraesCS1A02G2466300 et TraesCS1B02G77300). Enfin, un gène orthologue ANAC090 (TraesCS5A02G127200) (tableau 03) . Bien que, dans ce cas, les déférences dans le temps d'expression et la distance phylogénétique avec *Arabidopsis* doivent être pris en compte avant de déduire toute fonctionnalité (Borrill.P *et al.*, 2018). Ainsi, les études fonctionnelles sont essentielles pour établir le rôle des gènes NAC du blé dans la sénescence.

Tableau 1: Résumé des facteurs de transcriptions impliqués dans la sénescence des feuilles chez le blé (Bengoa Luoni, S., 2019). L'expression et les annotations fonctionnelles sont répertoriées. Les orthologues putatives ont été obtenues via BLASTp

à partir de la base de données NCBI.

L'espèce	Code ID/Name	Ortho- logues chez <i>A.</i> <i>thaliana</i>	Expression au moment de la sénescence foliaire	Fonctions
<i>Triticum Aestivum</i>	TaNAM-A1 (GPC-A1)	ANAC025	Augmente	Promouvoir la sénescence des feuilles
	TaNAM-D1 (GPC-D1)	ANAC025	Augmente	Promouvoir la sénescence des feuilles
	TaNAM-B1 (GPC-B1)	ANAC025	Augmente	Promouvoir la sénescence des feuilles
	TaNAC-S	ANAC001	Diminue	Retarder la sénescence des feuilles
	TraesCS5A02G143200	NAP	Augmente	Non clair
	TraesCS5B02G142100	NAP	Augmente	Non clair
	TraesCS1A02G2466300	ANAC082	Augmente	Non clair
	TraesCS1B02G77300	ANAC082	Augmente	Non clair
	TraesCS5A02G127200	ANAC090	Augmente	Non clair

3. L'implication de la cytokinine et du métabolisme de l'azote dans le retardement de la sénescence de la feuille étendard chez un mutant de blé (tasg1)

En comparant les cultivars sauvages avec les mutant stay green, on constate que ces derniers conservent leurs aspects verdâtres plus longtemps pendant la sénescence foliaire. Ce qui le font un objet idéal pour l'étude de processus de la sénescence foliaire chez les cultures céréalière comme le blé et qui reste toujours complexe et pas bien compris. (G. Spano *et al.*, 2003)

Wenqiang Wang *et al.*, (2019) ont présenté une étude sur un mutant de blé stay-green (tasg1), ils ont constaté que sa sénescence retardée au stade tardif de remplissage était liée à la teneur élevée en cytokinine (CK) et en contenu d'azote (N). Le séquençage de l'ARN a suggéré que plusieurs gènes pourraient être responsables des processus de sénescence entre les plantes de type sauvage et les mutants (tasg1).

Le mutant tasg1, a été généré précédemment par sélection mutagène dans le laboratoire ' crop biology ' en chine avec l'application de méthane sulfonate d'éthyle (EMS) sur le cultivar 'HeSheng2'.

W.Q. Wang *et al.*, (2016) ont révélé que le phénotype stay-green du tasg1 était associé à une altération du métabolisme de la CK. En outre, le métabolisme du saccharose, régulé par des CKs , a également été impliqué dans la sénescence retardée du tasg1. Dans la présente étude, les chercheurs ont utilisé le séquençage d'ARN, ils ont trouvé des gènes exprimés différemment (DEG) liés au métabolisme de la CK et de l'azote (N) entre le type sauvage et le tasg1. Ensuite, ils ont utilisé le tasg1, 2885 (un mutant du blé dur) pour déterminer deux détails du métabolisme CK et N chez le phénotype de sénescence retardée.

Les résultats obtenus ont trouvé que la sénescence est devenue évidente à 21 jours, après la floraison dans les plantes sauvages. Cependant, la sénescence des plantes tasg1 n'est apparue qu'au 24e jour de floraison. Par rapport aux plantes sauvages, les plantes tasg1 avaient manifestement retardé la sénescence aux stades tardifs (28 jour , 32 jour , respectivement) .

En outre, au stade précoce (avant le 21 jour), il n'y avait pas de différence significative dans la teneur en eau relative entre les plantes sauvages et tasg1, mais au stade tardif elle était

Chapitre 03 : Retardement de la sénescence foliaire pour un meilleur rendement

supérieure de 12,6 % et 20,4 % respectivement aux jours 28 et 32 dans *tasg1* que dans les plantes sauvages .

Il a été aussi observé des modifications dans le métabolisme CK et N dans le *tasg1* au stade de remplissage. ils ont mesuré les teneurs en CK, notamment en isopentényl-adénine (IPA), en zéatine-riboside (ZR) et en dihydrozéatine-riboside (DHZR), dans les *tasg1* et type sauvage au stade de remplissage. Les teneurs en IPA, ZR et DHZR étaient respectivement 53,8%, 17,6% et 38,2% plus élevées dans les plantes *tasg1* que dans WT. En outre, la teneur totale en N des plantes du *tasg1* était environ deux fois supérieure à celle des plantes du type sauvage .

Ils ont également déterminé l'expression de trois gènes régulés par la sénescence, à savoir *TaSAG1* (figure 11 A), *TaSAG2* (figure 11 B) ,et *TaSAG4* (figure 11 C). Ces gènes ont été soueexprimés dans les plantes *tasg1* par rapport à celles des plantes sauvages .

Cependant, les expressions des gènes régulés par la biosynthèse de CK, *TaIPT2* (figure 11 D) , *TaIPT3* (figure 11 E) , et *TaIPT8* (figure 11 F), étaient significativement plus élevées dans les plantes *tasg1* que dans les plantes sauvages .

De plus, les expressions des gènes régulant le transport de l'azote (N) , *TaNRT1.1* (figure 11 G), *TaNRT1.3* (figure 11 H) et *TaNRT1.4* (figure 11 I), et des gènes régulant la synthèse des acides aminés, *TaAlaAT*(figure 11 AJ), *TaGS1*(figure 11 AK), et *TaGS2*(figure 11 AL) étaient également significativement plus élevées dans les plantes *tasg1* que dans les plantes sauvages . Ces résultats suggèrent que les métabolismes CK et N pourraient être impliqués dans la sénescence retardée du *tasg1*, par rapport à celle de sa plante sauvage.

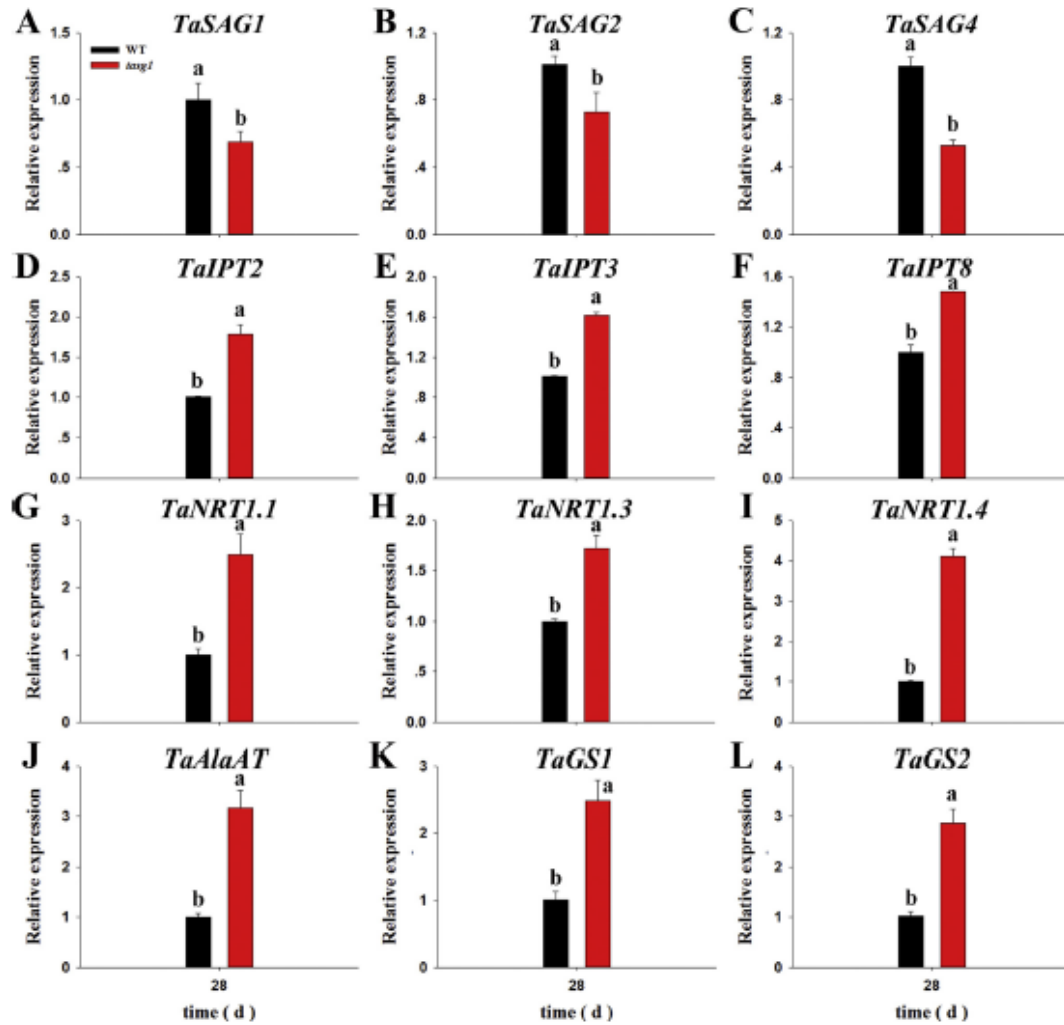


Figure 11 : Expression relative des gènes liés à la sénescence, à la biosynthèse de la CK, au transport de l'azote et à la synthèse des acides aminés. (Wenqiang Wang et al., 2019) *TaSAG1* (A), *TaSAG2* (B), *TaSAG4* (C), *TaIPT2* (D), *TaIPT3* (E), *TaIPT8* (F), *TaNRT1.1* (G), *TaNRT1.3* (H), *TaNRT1.4* (I), *TaAlaAT* (J), *TaGS1* (K), et *TaGS2* (L) dans les feuilles flag (28 d) des plantes de type sauvage (WT) et *tasg1* au stade remplissage. Les valeurs sont des moyennes \pm SD basées sur six répétitions. Les barres d'erreur indiquent les écarts types

4. Les champignons mycorhiziens arbusculaires (AMF) protègent l'appareil photosynthétique du blé en cas de déficit hydrique

Les plantes doivent répondre aux différents stress environnementaux et sont obligés de communiquer ou d'entretenir et d'étendre leurs relations intimes avec leurs voisins immédiats. Les champignons mycorhiziens arbusculaires (AMF) sont l'un de ces voisins qui ont des interactions symbiotiques avec ~ 80% des plantes terrestres. (Smith et Read , 2018) et agissent comme une source supplémentaire pour les glucides. L'AMF est un symbiote obligatoire, en s'appuyant sur les racines pour l'approvisionnement en glucides et pour compléter leur cycle de vie asexué. Les hyphes des AMF pénètrent dans les racines et se développent largement entre et dans les cellules corticales vivantes, formant une interface très large et dynamique entre les symbiotes. La colonisation mycorhizienne améliore la croissance des plantes, le rendement réduit les effets du stress abiotique. (Mathur *et al.* , 2018). Il est bien établi que l'AMF, en particulier, non seulement augmente l'absorption de Phosphore mais aussi celle de l'ammonium , le nitrate , cuivre et également le potassium . Le mécanisme signalé pour que l'AMF surmonte le stress hydrique des plantes hôtes comprend des altérations de l'équilibre hormonal, la progression de l'état hydrique des plantes en améliorant la conductivité hydraulique par l'augmentation de l'absorption d'eau par les hyphes externes. (Augé *et al.*, 2007) , l'ajustement osmotique (Porcel et Ruiz-Lozano , 2004) , une meilleure activité antioxydante et une meilleure absorption des nutriments .

Mathur *et al.*, (2019) ont évalué l'effet du stress hydrique sur le blé (*Triticum aestivum*) inoculé avec de l'AMF. Maximum des recherches sur l'AMF ont été menées sur le transport des nutriments et de l'eau de champignons à la plante hôte. Cette étude est un effort pour étudier les changements survenant chez les plantes pendant le stress hydrique en présence et en absence de colonisation par les AMF en termes de changements quantiques ; du rendement du PSI et du PSII et la conversion de l'énergie entre deux photosystèmes. L'étude examine le mécanisme de Protection des appareils photosynthétiques de blé contre le stress hydrique.

Les résultats obtenus montrent que les plantes colonisées par les AMF ont une teneur en Chloroplaste plus élevée par rapport aux plantes de blé témoin. En raison du stress hydrique, la disponibilité de l'eau était minimale ; par conséquent, la teneur en Chloroplaste a fortement diminué. Cependant, en cas des plantes stressés et inoculés en raison de la présence de l'AMF, ces plantes pourraient obtenir l'eau à travers les hyphes et présentait une teneur en Chloroplaste plus élevée. Cette teneur élevée de chloroplaste est associée avec un taux élevé de la photosynthèse, ou avec l'augmentation des teneurs en azote et en magnésium (principaux

Chapitre 03 : Retardement de la sénescence foliaire pour un meilleur rendement

composants de la chlorophylle). La teneur relative en eau est aussi améliorée chez les plantes stressés inoculées par rapport au plantes stressées non inoculés, Porcel et Ruiz- Lozano , (2004) ont confirmé ceci dans une étude précédente. En outre, les plantes stressés inoculées montrent une plus grande capacité à assurer une grande capacité de photosynthèse qui les permette d'éviter que l'appareil photosynthétique ne soit pas endommagé.

Une régulation négative a mené à la diminution du rendement quantique a été observée chez les plantes soumises à un stress hydrique. On peut dire que le stress hydrique a endommagé la structure et la fonction de la réaction PSII et perturbe le transport des électrons dans la photosynthèse. Tandis que la colonisation de l'AMF pourrait atténuer efficacement l'effet négatif du déficit hydrique sur le PSII.

Les champignons mycorhiziens peuvent protéger l'appareil photosynthétique chez le blé soumis à un stress hydrique, en protégeant les pigments et les systèmes photosynthétiques et par conséquent, ont un effet probablement positif sur le retardement de la sénescence foliaire.

On dispose actuellement peu d'informations sur la diversité génétique de la sensibilité aux AMF parmi les génotypes de blé en général et, en particulier, de blé dur (*Triticum turgidum ssp. durum*) (Singh *et al.*, 2012)

De Vita .P *et al.*, (2018) ont présenté une étude conçue pour évaluer le statut mycorhizien de 108 lignées de *T. turgidum ssp. durum*, différent par leur origine et leur années de libération, en utilisant deux espèces de champignons mycorhizes (*Funneliformis mosseae* et *Rhizogloium irregulare*) et pour détecter les marqueurs génétiques en liaison avec les régions chromosomiques impliquées dans la colonisation des racines des champignons mycorhizes par des analyses d'association à l'échelle du génome.

Les résultats obtenus montrent des gènes candidats correspond aux marqueurs associées à la capacité des champignons mycorhizes à coloniser les racines du blé est présenté dans l'ANNEX 01.

Ces résultats font un objet pour la sélection de ces génotypes susceptible d'être coloniser par les champignons mycorhizes afin de l'exploiter dans des zones qui présentes des problème de stress abiotique tel que la sécheresse ou la salinité .

5. Le pré-trempeage des semences à la mélatonine améliore le rendement du blé en retardant la sénescence des feuilles et en favorisant le développement des racines

La mélatonine (N-acétyl-5-méthoxytryptamine, MEL) est omniprésente chez les organismes vivants, des bactéries aux mammifères (Hardeland. R *et al.*, 2011). De nombreuses publications ont signalé la présence de MEL dans les plantes et les produits végétaux avec une large gamme de concentrations allant de pictogrammes à des microgrammes par gramme de tissu (Nawaz . M. A *et al.*, 2016) . La principale fonction de la MEL dans les plantes est de servir de première ligne de défense contre les facteurs de stress oxydatifs internes et environnementaux, et l'application exogène de la MEL a montré des effets significatifs dans l'amélioration de la tolérance aux stress environnementaux, tels que les métaux lourds, la sécheresse, la salinité, le rayonnement ultraviolet, le froid, la chaleur, les agents pathogènes et les herbicides (Reiter. R. J *et al.*, 2015). En outre, la MEL jouerait également un rôle important dans la régulation de la croissance et du développement des plantes, comme l'enracinement, la floraison et la maturation (Hardeland. R , 2015) . Les plantes peuvent absorber la MEL exogène des racines, des cotylédons, des feuilles et des graines dans le cas de diverses espèces de plantes (Posmyk. M. M et al., 2009) Par conséquent, l'utilisation potentielle de la MEL dans la production agricole a intéressé les gens ces dernières années.

Compte tenu de ses effets bénéfiques sur la tolérance au stress des plantes, la valeur potentielle en tant que régulateur de croissance des plantes et son utilisation en agriculture ont été étudiées dans différentes études. Les découvertes faites à ce jour indiquent que les effets bénéfiques de la MEL dans la promotion de la production végétale sont notamment les suivants (i) augmenter le taux de germination des plantes (Posmyk. M. M et al., 2009) ; (ii) améliorer la capacité des plantes à résister à une variété de stress environnementaux (Zhang. J et al., 2017) ; (iii) maintenir la teneur en chlorophylle, favoriser la vitesse de photosynthèse et retarder la sénescence des feuilles(Wang. P et al ., 2013); et (iv) favoriser le développement du système racinaire, ce qui pourrait conduire à une plus grande capacité d'absorption des nutriments du sol (Sarropoulou .V et al., 2012)

Jun Ye *et al.*, (2020) ont étudié les effets du pré-trempeage des semences avec la MEL sur la croissance et le rendement du blé d'hiver (*Triticum aestivum L.*). L'étude a été faite dans le cadre d'une expérience continue de deux ans en pot et d'une autre année d'expérimentation sur le terrain.

les résultats ont montré que le pré trempage des semences avec différentes concentrations de MEL (10, 100 et 500 μM) pendant 24 h a augmenté le rendement en grains par plante de 29 % à 80 % dans l'expérience en pot et a augmenté le rendement en grains par surface de 4 à 19 % dans l'expérience sur le terrain, par rapport aux témoins. les graines des plantes contiennent une grande quantité de MEL, et la concentration endogène de MEL des graines pourrait être considérablement augmentée par un traitement exogène de MEL (Kolodziejczyk, I *et al.*, 2015) . Il a été montré qu'il y a une forte interférence entre la MEL et d'autres régulateurs de croissance des plantes, notamment la cytokinine, l'acide salicylique, l'acide jasmonique, les gibbérellines (GA), l'acide abscissique (ABA) et l'éthylène. Ainsi, au début de la germination, la MEL a réprimé le gène de biosynthèse de l'ABA et à surexprimé les gènes de catabolisme de l'ABA ; pendant ce temps, la MEL à surexprimé le gène de biosynthèse des GA, ce qui a entraîné une diminution rapide de la teneur en ABA et une augmentation de la teneur en GA. Cette étude actuelle soutient que la MEL stimule la croissance des pousses pendant la germination et le stade de croissance des semis, ce qui pourrait augmenter le nombre des épis lors de la récolte. En plus de l'augmentation de l'indice de tallage, l'augmentation de l'indice et du poids des grains pourrait être d'autres facteurs principaux qui influencent le rendement des grains lors de la récolte. Dans la production de blé, le maintien d'un taux élevé de photosynthèse pendant les phases d'écoulement et de remplissage des grains contribue à améliorer le nombre et le poids des grains. En outre, au cours de la dernière phase de remplissage, le retard de la sénescence des feuilles est important pour obtenir un rendement élevé (Wang. L et Shangguan. Z , 2015)

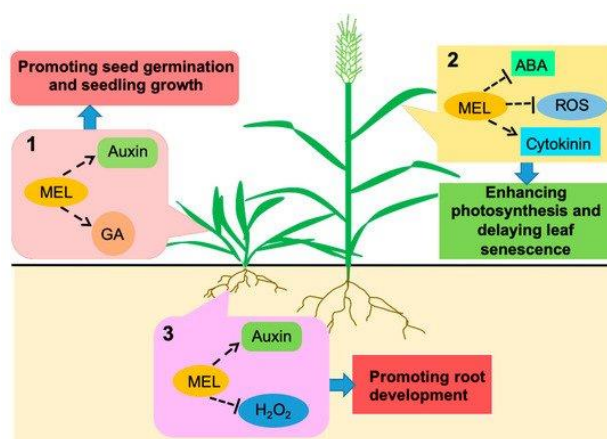


Figure 12 : Le diagramme des mécanismes potentiels de la MEL sur l'amélioration du rendement des grains de blé, basé sur les études actuelles et précédentes (Jun Ye *et al.*, 2020). Trois mécanismes potentiels sont impliqués dans la MEL pour l'amélioration du rendement du blé. (1) Pendant les phases de germination et de croissance des semis, la MEL pourrait favoriser la synthèse des auxines et des gibbérellines (GA), ce qui augmenterait l'indice de tallage et la croissance des semis, ce qui entraîne une augmentation de

Chapitre 03 : Retardement de la sénescence foliaire pour un meilleur rendement

l'indice de tallage. (2) Pendant les stades de la floraison et du remplissage des grains, la MEL pourrait bloquer la synthèse de l'acide abscissique (ABA) et favoriser la synthèse des cytokinines, éliminer les espèces à oxygène réactif (ROS) et retarder la sénescence des feuilles et améliorer la capacité d'assimilation du carbone, ce qui entraîne une augmentation du poids et du nombre de grains. (3) Dans la racine, la MEL peut favoriser l'accumulation d'auxine et éliminer H₂O₂ et favoriser le rapport racine/racine .

Chapitre 04 :

Autophagie, mécanisme, régulation et son rôle dans l'adaptation chez les plantes

1. Les caractéristiques cytologiques de l'autophagie

L'autophagie (auto-alimentation) est un processus de dégradation de macromolécules dans lequel les cellules recyclent le contenu cytoplasmique lorsqu'elles sont soumises à des conditions de stress ou lors de transitions de développement. L'autophagie est un processus intracellulaire conservé au cours de l'évolution chez les levures, les animaux et les plantes (Li et Vierstra, 2012). Généralement, les cellules ont un niveau basal d'autophagie dans des conditions normales pour maintenir l'homéostasie. Dans des conditions de croissance défavorables, l'autophagie peut être induite pour enlever les matériaux endommagés ou non désirés ou de recycler les matériaux pour fournir des substrats anaboliques et des métabolites pour les cellules. (Liu et Bassham, 2012). Elle est considérée comme un processus clé par lequel les cellules eucaryotes répondent et survivent aux stress environnementaux, par laquelle les composants cytoplasmiques sont dégradés dans la vacuole pour fournir des matières premières et de l'énergie, et aussi pour éliminer les composants endommagés ou toxiques, pour le maintien des fonctions cellulaires essentielles.

Chez les plantes, trois types d'autophagie, appelés macroautophagie, microautophagie, sont bien connus et la mégaautophagie (Bassham *et al.*, 2006).

La microautophagie n'est pas bien comprise chez les plantes et elle a été principalement (étudié pendant la sénescence des feuilles et le développement et la germination des semences) (van Doorn et Papini, 2013). La microautophagie est une voie de dégradation observé par la précipitation vacuolaire direct des composants cytoplasmiques par invagination et division ultérieure du tonoplaste donc une partie du cytoplasme ou d'un organite est introduite dans la lumière vacuolaire par invagination de la membrane vacuolaire, ce qui entraîne la formation d'une vésicules intravacuolaires (corps autophagiques), qui est ensuite digérée par les hydrolases vacuolaires résidentes.

En général, le terme "autophagie" désigne la macroautophagie, sauf indication contraire. D'autre part, la macroautophagie chez les plantes a été étudiée de manière plus approfondie et le mécanisme de base a été décrit. (Lv *et al.*, 2014). Lors de l'intronisation de la macroautophagie, le phagophore, une double membrane en forme de coupe, est formé et les membranes s'allongent pour former une double membrane complète appelé autophagosomes. (Xiaochen *et al.*, 2005). L'origine du phagohore n'est toujours pas claire. Cependant, deux notions permettent de penser qu'elle provient du réticulum endoplasmique (RE) ou que la membrane a probablement émergé du réseau tubulaire en forme de cage soudée. (van Doorn *et al.*, 2013)

L'événement marquant de l'autophagie est la génération de cette structure à double membrane appelée autophagosome qui est par définition : une structure à double membrane formée lors de l'induction de l'autophagie ; elle englutit des portions de cytoplasme et les délivre à la vacuole pour qu'elles soient dégradées. Donc, l'autophagie permet de séquestrer une partie du cytoplasme, y compris les organites entiers (les peroxysomes, les mitochondries, et chloroplaste) dans l'autophagosome et qui sera délivrée à la vacuole centrale. Lorsque la vésicule est ancrée à la vacuole, la membrane externe des autophagosomes fusionne avec la membrane tonoplastique pour libérer la vésicule interne composée d'une membrane interne et de sa cargaison (structure appelée corps autophagique : une seule vésicule liée à la membrane, libérée lors de la microautophagie par vacuolisation ou lors de la fusion d'un autophagosome avec le tonoplaste pendant la macroautophagie), qui est ensuite dégradé par des hydrolases vacuolaires (figure 13). (Li et Vierstra, 2012).

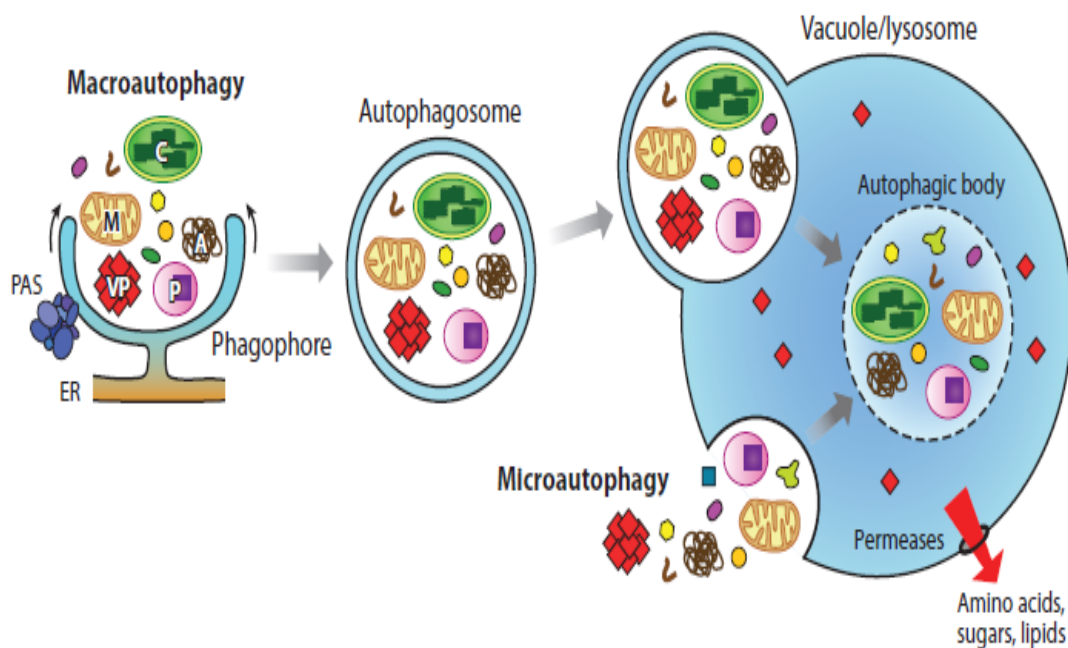


Figure 13 : Les étapes morphologiques de la microautophagie et de la macroautophagie chez les plantes (Richard S. Marshall et Richard D. Vierstra, 2018). La microautophagie procède par invagination du tonoplaste pour englutir des parties du cytosol directement dans les corps autophagiques de la vacuole. Inversement, la macroautophagie et les processus connexes commencent par l'assemblage d'une membrane appelée phagophore, qui provient probablement du réticulum endoplasmique (RE). Le phagophore séquestre les composants cytosoliques, puis se scelle pour former un autophagosome doublement lié à la membrane. L'initiation et l'expansion du phagophore sont dirigées par la structure pré-autophagosomique (PAS), qui est générée par un assemblage hiérarchique de protéines liées à l'autophagie. Les autophagosomes fusionnent avec le tonoplaste pour libérer la vésicule interne comme un corps autophagique dans la lumière vacuolaire, où sa cargaison est dégradée par les hydrolases résidentes. Ces produits de digestion sont soit stockés dans la vacuole, soit transportés vers le cytosol pour être réutilisés. Une éventuelle voie de ciblage cytoplasme-vacuole peut transporter une cargaison fonctionnelle (diamants rouges) jusqu'à la vacuole. Abréviations : A, agrégat de protéine ; C, chloroplaste ; M, mitochondrie ; P, peroxysome ; VP, protéine de la vacuole qui se produit au cours du développement ou en réponse à l'invasion d'un agent pathogène.

2. Machinerie et mécanisme d'autophagie

Le mécanisme de base de l'autophagie est régulé par l'Autophagie (ATG) gènes (figure 11). Ces gènes sont identifiés pour la première fois chez les levures *Saccharomyces cerevisiae* par une analyse d'un criblage des mutants présentant des altérations dans la rotation des protéines, la dégradation des peroxysomes, et d'une hydrolase vacuolaire résidente, et plus de 30 gènes ATG ont été signalés. Ces gènes sont conservés entre les levures, les animaux et les plantes.

Des études faites sur *Arabidopsis thaliana* et d'autres travaux récents chez le tabac (*Nicotiana tabacum*), le maïs (*Zea mays*), le riz (*Oriza sativa*), le blé (*Triticum aestivum*) et l'orge (*Hordeum vulgare*) ont montré qu'il existe des gènes homologues chez les plantes. (Guiboileau *et al.*, 2012).

Peu d'information sur les gènes associés à l'autophagie (ATG) chez le blé, en particulier ceux qui sont impliqués dans le réseau de régulation des processus de stress. Wenjie Yua *et al.*, (2018) ont mené une étude d'un total de 108 ATG présumés du blé (TaATG) a été obtenu en se basant sur une approche de recherche à l'échelle du génome. L'analyse phylogénétique les a classés en 13 sous-familles, dont la sous-famille TaAtg16, composés de 29 membres, la classe comme la plus grande sous-famille. (ANNEXE02)

2.1. Description du mécanisme

Le mécanisme de l'autophagie est initiée sur les sites d'assemblage de phagophores (PAS) qui est une structure ponctuelle localisée à proximité de la vacuole qui initie la formation des phagophores et l'expansion et procède par allongement d'un phagophore en forme de coupe, fermeture pour former une double membrane autophagosomes, et fusion d'autophagosomes et de vacuoles (Thompson et Vierstra, 2005). L'autophagie a un principe fonction est de fournir les composants cibles à la vacuole et recycler les matériaux pour fournir des sources de métabolites et l'énergie ; c'est pourquoi une grande partie de la recherche sur l'autophagie végétale a été initialement s'est concentrée sur les réponses au déficit nutritionnel. (Chen *et al.*, 1994 ; Moriyasu et Ohsumi, 1996).

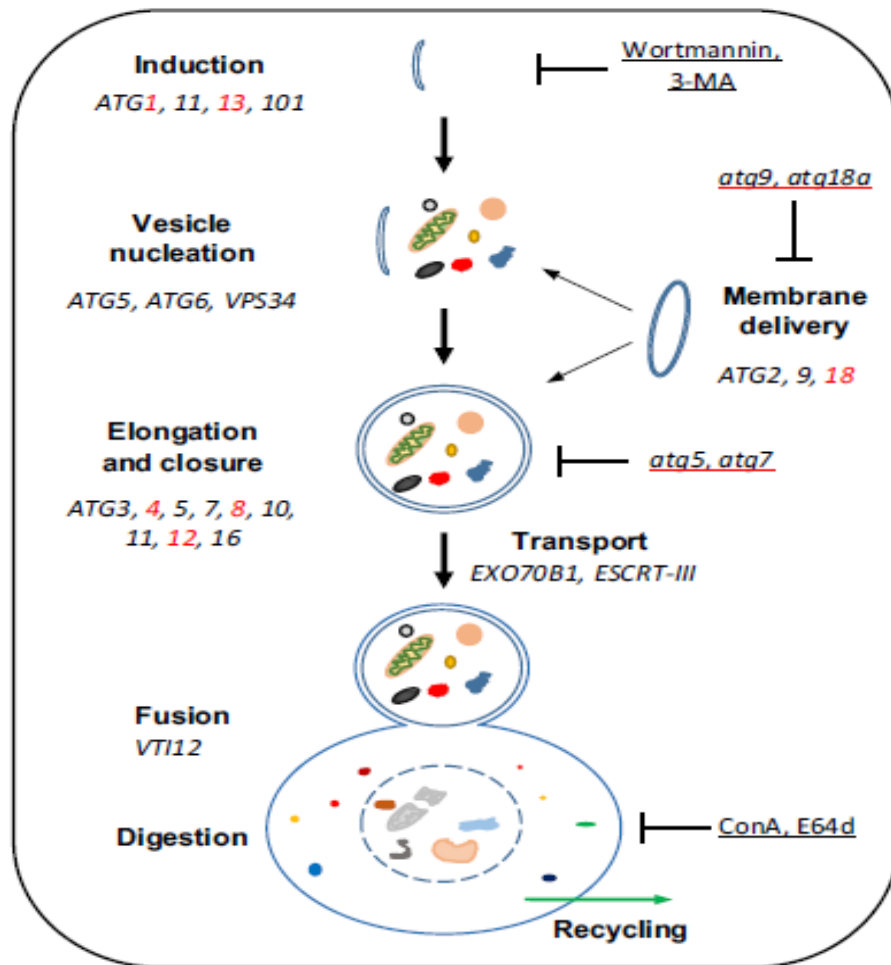


Figure 14 : Représentation schématique de l'autophagie chez Arabidopsis (Yang, X. et Bassham, D. C, 2015). L'autophagie peut être disséquée en une série d'étapes, y compris l'induction, la nucléation des vésicules, allongement du phagophore et fermeture de l'autophagosome, transport de la vésicule vers la vacuole puis sa fusion, et la digestion et le recyclage des cargaisons. Lors de l'induction de l'autophagie, une structure à double membrane en forme de coupe, le phagophore, se forme autour de la cargaison. La membrane s'allonge et se referme pour former une double vésicule membranaire, l'autophagosome .

Au cours de cette étape, deux voies de conjugaison des protéines de type ubiquitine sont requis. L'ATG8 est conjugué à la phosphatidyléthanolamine et recruté à l'autophagosome membrane. Des lipides pour la formation et l'allongement des membranes sont fournis par le complexe ATG9. La membrane extérieure de l'autophagosome fusionne avec la vacuole et un corps autophagique à membrane unique est ensuite décomposé par des hydrolases dans la vacuole. Pour chaque étape, les gènes requis sont résumés et les gènes en rouge sont présents dans les familles de gènes. Outils disponibles pour bloquer chaque étape sont énumérés ; ceux qui sont soulignés en noir sont des médicaments d'usage courant et ceux qui sont soulignés en rouge sont des mutants couramment utilisés. (3-MA, 3-méthyladénine ; ConA, concanamycine A.)

2.2. Les Complexes régulateurs

Les progrès dans la compréhension des bases mécaniques de l'autophagie ont été facilités par la découverte de l'autophagie chez la levure et par la découverte ultérieure des gènes ATG qui sont essentiels pour la formation des autophagosomes.

La machinerie moléculaire de la voie autophagique a été découverte par le criblage de mutants de levure qui ne peuvent pas accumuler de corps autophagiques dans la lumière vacuolaire et sont également hypersensibles au déficit nutritionnel.

Depuis que les gènes ATG ont été identifiés pour la première fois chez la levure en 1993 (Tsukada et Ohsumi 1993), par la standardisation de la nomenclature et l'isolement de nouveaux gènes liés à l'autophagie de la levure, leur nombre est passé à 32 (Okamoto et al. 2009).

La plupart des grands groupes de gènes ATG ont été trouvés chez les plantes, et leurs fonctions sont similaires à celles de la levure. (Liu et Bassham, 2012 ; Lv *et al.*, 2014) . le (tableau03) représente une comparaison entre les gènes homologues chez la levure et chez *Arabidopsis* .

La machinerie moléculaire de l'autophagie qui est présentée par les gènes ATG est divisée en quatre groupes majeurs fonctionnels. Le complexe ATG1-ATG13 kinase, ATG9 et des protéines associées, un phosphatidylinositol 3-kinase complexe (PtdIns3K), et deux systèmes de conjugaison ubiquitine (ATG5-ATG12 et ATG8). (tableau1)

La kinase ATG1-ATG13 et les complexes de PtdIns3K sont responsables de l'initiation et la formation de la membrane d'autophagosome. ATG9 et des protéines associées sont en charge le recrutement des lipides et la ATG5-ATG12 et systèmes de conjugaison de l'ubiquitine comme ATG8 sont responsables d'allongement de la membrane et la fermeture de la autophagosome (Des gènes homologues appartenant à ces complexes ont été trouvés chez *Arabidopsis* (Honig, A. *et al.*, 2012).

2.2.1 Le ATG 1,13 protéine kinase : (l'initiateur de la formation de l'autophagosome)

La formation du PAS est essentielle pour amorcer la formation de l'autophagosome .En cas de déficit nutritionnel, la première étape de la création du PAS est l'assemblage du complexe Atg1 (Suzuki K *et al.* , 2007). L'Atg1 est une sérine-thréonine kinase et son activité kinase est essentielle pour la formation de l'autophagosome. Chez *S. cerevisiae*, Atg1 forme

un complexe avec quatre autres protéines Atg, Atg13, Atg17, Atg29 et Atg31, en cas de privation nutritionnelle. Le complexe Atg1-Atg13-Atg17-Atg29-Atg31 mobilise Atg9 et le complexe autophagy-specific PI3K, qui à leur tour appelle le complexe Atg2-Atg18 et les systèmes de conjugaison Atg, et complètent ainsi l'assemblage PAS. La formation du complexe Atg1 renforce l'activité kinase de l'Atg1, qui est également importante pour la progression de l'autophagie. L'activité kinase élevée elle-même n'est pas nécessaire pour recruter les protéines Atg dans le PAS, mais elle est nécessaire pour faire circuler les protéines Atg entre le PAS et d'autres compartiments de la membrane (Reggiori F *et al.*, 2004).

2.2.1 Le complexe de PtdIns3K et le ATG9

Après l'assemblage de complexe kinase Atg1-Atg13, l'activation ultérieure du complexe induit plusieurs étapes au cours de la formation de l'autophagosome, bien que nous ne sachions toujours pas si ces étapes sont régulées par le complexe kinase Atg1 directement ou indirectement, ou si elles se produisent en série ou en parallèle. D'après les analyses hiérarchiques des protéines Atg, on pense que le PI3K et les complexes Atg9 agissent ultérieurement.

Le complexe PI3K, qui est essentiel pour l'autophagie, est un type de classe III PI3K qui se compose de Vps34, Vps15, Atg6 et Atg14. Un des rôles du complexe PI3K est de remobilise le complexe Atg18-Atg2 sur les membranes autophagiques par une interaction Atg18-phosphatidylinositol 3-phosphate (PI3P), bien que sa fonction précise n'est pas encore claire. le complexe PI3K joue un rôle essentiel dans la régulation de l'autophagie des plantes, car la sous expression du gène ATG6 chez les plants de tabac et d'*Arabidopsis* a entraîné une diminution de l'autophagie (Liu *et al.* 2005)

Comme elle est la seule protéine transmembranaire parmi les protéines Atg, on pense que l'Atg9 est impliquée dans l'apport de lipides à la structure pré-autophagosomale et au phagophore en expansion. Chez la levure, Il est connu que l'Atg9 produit des oligomères et interagit avec le sous-complexe Atg2-Atg18.

Un complexe ATG9 similaire semble également être impliqué dans l'autophagie végétale. L'*Arabidopsis* T-DNA mutant Atg9-1 présente des phénotypes défectueux en autophagie tels que la sénescence précoce (Hanaoka *et al.* 2002).

2.2.3. Les deux systèmes de conjugaison ubiquitine

Les deux voies de conjugaison de type ubiquitination sont très bien conservées entre la levure et les plantes. Le processus de conjugaison comporte deux étapes parallèles qui

gènèrent un conjugué ATG8-phosphatidyl éthanolamine (PE), qui est la forme fonctionnelle en autophagie (Fujioka *et al.*, 2008 ; Liu et Bassham, 2012 ; Ohsumi, 2001).

On sait que le système de lipidation Atg8 et le système de conjugaison de la protéine Atg12 sont tous deux importants pour les étapes d'élongation et d'enfermement pendant la formation des autophagosomes.

L'ATG8 est généralement synthétisée sous la forme d'un précurseur plus long qui est traité par la protéase ATG4, générant des résidus de glycine conservés en C terminal . Le produit ATG8 clivé est activé et lié par l'enzyme activatrice ATG7 de type E1. L'ATG8 est ensuite transféré de l'ATG7 à l'enzyme ATG3 de type E2. Enfin, l'ATG8 est ligaturé de manière covalente à l'EP, générant la forme lipidée autophagosomique (Lv *et al.*, 2014) Le deuxième processus de conjugaison commence par l'activation de ATG12 par ATG7. L'ATG5 est ensuite conjugué à l'ATG12 à l'aide d'un enzyme distincte ATG10 de type E2. Le complexe ATG12-ATG5 interagit avec le phagophore via l'ATG16 pour former un complexe tétramérique par Oligomérisation de l'ATG16 (Lv *et al.*, 2014 ; Reggiori et Klionsky, 2013 ; Yang et Klionsky, 2009). Les fonctions complexes de l'ATG12-ATG5/ATG16 comme une ligase E3 qui peut transférer l'EP à l'ATG8 in vitro.

Les deux processus de conjugaison sont requis pour l'expansion des phagophores et la fermeture des autophagosomes (Li et Vierstra, 2012 ; Liu et Bassham, 2012 ; Lv *et al.*, 2014). L'ATG5 est l'un des gènes ATG les mieux étudiés chez toutes les espèces en raison de son rôle important dans la conjugaison PE de l'ATG8. En plus de ce rôle, L'ATG5 fonctionne au début de la formation du phagophore. L'ATG5 est présent sur le site de formation du phagophore est crucial pour le recrutement de l'ATG des protéines à la membrane pendant l'élongation du phagophore (Koyama-Honda *et al.*, 2013) . Récemment, Le Bars *et al.*, (2014) ont montré que l'ATG5 fonctionne pendant le phagophore formation et élongation chez *Arabidopsis*.

Contrairement aux gènes ATG de la levure, qui sont pour la plupart des copies uniques, de nombreux les gènes ATG des plantes existent sous forme de familles de gènes, notamment ATG4, ATG8, et ATG12. Les membres de ces familles de gènes ont un certain chevauchement fonctionnel, mais aussi certaines fonctions distinctes (Chung *et al.*, 2010) Par exemple, la famille ATG8 chez *Arabidopsis* compte neuf membres avec un degré élevé de similarité de séquence. Ces ATG8 Les gènes ont des modes d'expression similaires dans des conditions normales mais peuvent être induit différenciellement dans différents organes des plantes en cas de privation nutritionnelle

Tableau 1: Comparaison des complexes d'autophagie de la levure et d'Arabidopsis (Yoshimoto , 2012)

Complex	Yeast	Arabidopsis	Properties in yeast	Characterized Arabidopsis mutants	
PI3K complex	ATG6	AtATG6	Formation of autophagosomes, vacuolar protein sorting	<i>atg6-1</i> , <i>atg6</i> antisense	
	ATG14	Not identified	Connects VPS34 and ATG6	None	
	VPS15	AtVPS15	Serine/threonine kinase, modulates PI3K complex formation	<i>VPS15/vps15</i> heterozygous	
	VPS34	AtVPS34	Phosphatidylinositol 3-kinase	<i>VPS34/vps34</i> heterozygous	
	Initiation and membrane delivery	ATG1	AtATG1a, 1b, 1c, 1t	Serine/threonine protein kinase, required for autophagy initiation	<i>atg1a-1</i> , <i>atg1a-2</i>
		ATG2	AtATG2	Interacts with ATG18, required for retrieval of ATG9 to the PAS	<i>atg2-1</i> , <i>atg2-2</i>
		ATG9	AtATG9	Integral membrane protein, delivery of lipids to expanding phagophore	<i>atg9-1</i> , <i>atg9-2</i>
		ATG13	AtATG13a, 13b	Forms complex with ATG1, required for autophagy initiation	<i>atg13a13b</i> double mutant
Ubiquitin-like protein conjugation systems	ATG18	AtATG18a-h	PIP3-interacting peripheral membrane protein	<i>atg18a</i> , RNAi- <i>ATG18a</i>	
	ATG27	Not identified	Type I transmembrane protein, required for the anterograde movement of ATG9	None	
	ATG3	AtATG3	E2-like enzyme	<i>atg3</i>	
	ATG4	AtATG4a, 4b	Cysteine protease, cleaves ATG8 to expose a terminal glycine	<i>atg4a4b</i> double mutant	
	ATG5	AtATG5	Covalently attached to ATG12	<i>atg5-1</i>	
	ATG7	AtATG7	E1-like enzyme	<i>atg7-1</i> , <i>atg7-2</i>	
	ATG8	AtATG8a-i	Ubiquitin-like protein, phosphatidylethanolamine conjugated form localizes to autophagosomes	None	
	ATG10	AtATG10	E2-like enzyme	<i>atg10-1</i>	
	ATG12	AtATG12a, 12b	Conjugated to ATG5	<i>atg12a12b</i> double mutant	
	ATG16	Not characterized	Noncovalently bound to ATG5	None	

3. Méthodes cytologiques et moléculaires pour l'étude de flux autophagique

Pour mieux comprendre les mécanismes de l'autophagie, leurs régulations et leurs dynamiques. Plusieurs méthodes ont été développées. Certaines permettent de quantifier l'accumulation des autophagosomes et d'autres s'intéressent à l'observation du flux autophagique de façon dynamique. (N. Mizushima *et al.*, 1998 ; Y. Xiong *et al.*, 2005). Les premières observations des structures d'autophagosomes ont été réalisées grâce à la microscopie électronique, cette technique permet de détecter facilement les structures doubles membranaires des autophagosomes . L'avantage de cette technique est la fiabilité des résultats par contre son inconvénient est le coût élevé et l'expertise nécessaire pour la manipulation des microscopes électroniques. D'autres méthodes de microscopie plus faciles et plus disponibles ont été utilisées comme la microscopie confocale , elle permet d'évaluer l'activité autophagique grâce au développement des marqueurs de détection de l'activation de l'autophagie. L'exemple le plus commun est le marquage des autophagosomes qui se fait principalement par une fusion d'une protéine fluorescente verte GFP(green fluorescent protein) et de la protéine autophagosomique ATG8 pour former le complexe (GFP-ATG8). Ainsi, d'autres colorants fluorescents qui colorent les vésicules acides comme la monodansylcadavérine et le Lyso-Tracker Red (Bassham, 2014)

La perte de fluorescence de la GFP en condition acide a été évoquée et d'autres marqueurs fluorescents comme la RFP sont également utilisés pour tracer le chemin des corps autophagiques jusqu'à la vacuole (N. Mizushima *et al.*, 2010). En outre, la microscopie photonique est la méthode la plus facile à réaliser pour l'observation des corps autophagiques. Cette méthode a été facilitée grâce à l'utilisation des drogues capables de bloquer la gradation des corps autophagiques dans la vacuole comme la concanamycine A, le E64d et la 3-MéthylAdénine (3-MA). Le E-64d est un inhibiteur des protéases à cystéine.

La concanamycine A, quant à elle, inhibe les ATPases vacuolaires conduisant à une augmentation du pH vacuolaire. Les protéases ne sont alors plus actives et les corps autophagiques ne se dégradent plus et par conséquent ils s'accumulent dans ce compartiment et deviennent de ce fait plus facilement observables (K. Yoshimoto *et al.*, 2004) . Plusieurs d'autres inhibiteurs et activateurs ont été utilisés pour l'étude de l'autophagie chez les plantes (Annexe 03). A côté des méthodes microscopiques, plusieurs méthodes biochimiques ont été proposées pour l'analyse du flux autophagique. Ces méthodes se basent principalement sur la quantification des protéines ATG8 et ATG8-PE sur des gels d'urée SDS-PAGE . La proportion de forme lipidée ATG8-PE étant corrélée au nombre d'autophagosomes et au taux

de renouvellement d'ATG8 (K. Yoshimoto *et al.*, 2004) .Les différents méthodes d'étude de flux autophagique ont permis la caractérisation des mutants d'autophagie chez les levures, les animaux et les plantes ainsi que la mise en évidence du rôle des gènes ATG (Anne Guiboileau et Céline Masclaux-Daubresse , 2012)

4. Nouvelles découvertes dans les fonctions d'autophagie

4.1. Dégradation spécifique des organelles par autophagie

Bien que l'autophagie soit généralement considérée comme une voie non sélective capable de dégrader une partie du cytoplasme, plusieurs études récentes ont indiqué que l'autophagie peut être sélective comme le système ubiquitine-protéasome (Johansen et Lamark 2011).

Les données qui s'accumulent indiquent que l'autophagie peut dégrader des organites particuliers dans certaines conditions, ce qui suggère une spécificité, bien que les adaptateurs spécifiques aux organites n'aient pas encore été identifiés. Nous passons ici en revue les progrès récents dans notre compréhension de la dégradation des organites par autophagie (figure15)

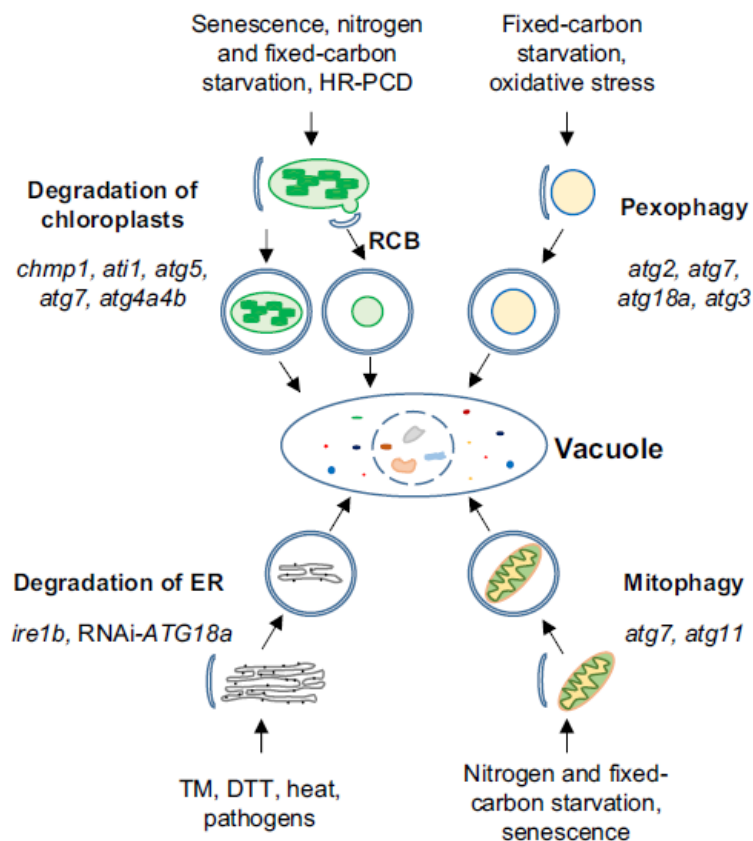


Figure 15 : Représentation schématique de l'autophagie spécifique aux organelles. (Xiaochen Yang et Diane C. Bassham , 2015) . Quatre types d'autophagie spécifique aux organites sont représentés : la dégradation des chloroplastes, la dégradation des peroxysomes (pexophagie), la dégradation du réticulum endoplasmique (RE) et la dégradation des mitochondries (mitophagie).

L'autophagie peut dégrader les chloroplastes soit en englobant la totalité du chloroplaste, soit en englobant des fragments du chloroplaste, appelés corps contenant du Rubisco (RCB). De même, pour les autres organites, l'autophagie peut absorber tout l'organite ou une partie. Les mutants qui ont montré des défauts dans un type spécifique d'autophagie spécifique aux organites sont énumérés. (HR-PCD, mort cellulaire programmée par une réponse hypersensible ; TM, tunicamycine ; DTT, dithiothréitol)

4.1.1. La mitophagie

Les mitochondries se trouvent dans presque tous les eucaryotes et fournissent de l'énergie aux cellules. La plupart des réactions d'oxydoréduction et de transport d'électrons en chaîne se produisent dans la membrane interne des mitochondries y compris ceux qui peuvent générer des espèces réactives toxiques à l'oxygène (ROS). Les mitochondries peuvent être facilement endommagées par ces ROS, c'est pourquoi le contrôle de la qualité des mitochondries est essentiel pour la viabilité des cellules (Mao *et al.*, 2013).

Récemment, Li *et al.*, (2014) ont montré que le gène d'autophagie L'ATG11 responsable du contrôle de la qualité des mitochondries dans les plantes. L'ATG11 a déjà été étudié dans des cellules de levure et de mammifères et a des fonctions importantes (Annexe 04). En connectant le complexe ATG1/13 au PAS et en le liant à des adaptateurs d'autophagie sélective (Reggiori et Klionsky, 2013).

Chez *Arabidopsis*, un mutant *atg11* est déficient dans la dégradation des mitochondries par autophagie pendant la sénescence (Li *et al.*, 2014).

L'ATG11 est colocalisé avec un marqueur mitochondrial, ce qui suggère que l'autophagie délivre les mitochondries à la vacuole pour la dégradation. En conséquence, la dégradation des protéines mitochondriales est atténuée chez un mutant *atg11* (Li *et al.*, 2014). Cependant, la sélectivité de la mitophagie chez les plantes, et la nécessité d'un adaptateur qui reconnaît les mitochondries et interagit éventuellement avec l'ATG11, restent à étudier.

Ce processus de mitophagie est étroitement contrôlé par des voies de signalisation qui impliquent les protéines ATG, les structures membranaires et les protéines marqueurs, ainsi que par la régulation des systèmes de dégradation (c'est-à-dire les vacuoles).

En outre, les modifications post-traductionnelles jouent un rôle dans le recrutement et le ciblage de l'autophagie complexes. (Figure 16)

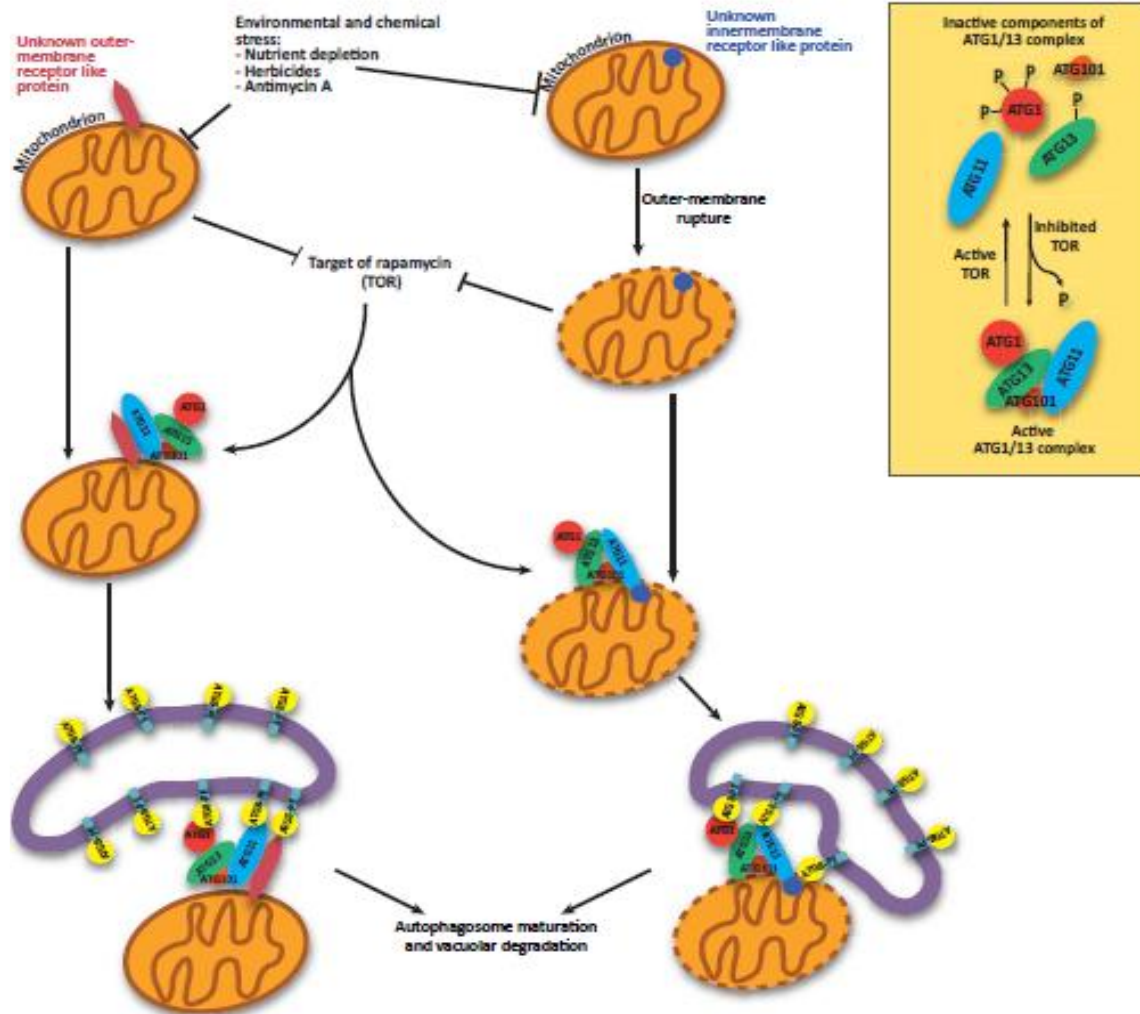


Figure 16 : Un modèle putatif des mécanismes de la mitophagie dans les plantes. (Martyna Broda *et al.*, 2018). Lorsqu'elles sont soumises à un stress, les mitochondries envoient un signal de nature inconnue qui inhibe la cible de la rapamycine (TOR) kinase. L'inhibition de la TOR permet la formation du complexe actif ATG1/13 par déphosphorylation, en conjonction avec l'ATG11 et ATG101, et le complexe est ensuite recruté à la surface des mitochondries. Un récepteur présumé présent sur la membrane mitochondriale externe ou interne (qui peut être exposé lors de la rupture de la membrane externe) interagit avec le complexe ATG1/13 et induit la formation de la structure pré-autophagosomique (PAS). Le site L'autophagosome est décoré avec des produits d'addition de l'ATG8-phosphatidyléthanolamine (ATG8-PE), ce qui entraîne l'administration et la dégradation des mitochondries dans la vacuole végétale. (Martyna Broda *et al.*, 2018)

4.1.2. La Réticulophagie

Le stress des RE est défini comme l'accumulation de protéines dépliées dans la lumière des Réticulum endoplasmique (RE). Dans des conditions de sécrétion de protéines néfastes ou volumineuses, la demande de repliement et de maturation des protéines augmente et donc les protéines non pliées ou mal pliées s'accumulent dans les RE en raison de leur capacité de repliement limitée. Cette accumulation active la réponse des protéines dépliées (UPR), qui

transmet des signaux au noyau pour augmenter l'expression des gènes de réponse au stress, tels que les chaperons moléculaires. Si l'UPR n'est pas en mesure de restaurer l'homéostasie au sein de RE, la dégradation de RE est induite pour éliminer les composants défectueux des urgences (Howell, 2013).

L'autophagie s'est révélée être l'une des voies de dégradation des RE. Les cellules végétales, l'autophagie dégrade les composants des RE dans des conditions de stress des RE (Liu *et al.*, 2012).

4.1.3. La Chlorophagie :

Le chloroplaste est un organite unique de photoautotrophes qui capte la lumière et la transforme en énergie chimique sous forme de sucres. Le processus de la fixation du CO₂ dans les chloroplastes comprend de nombreux transferts enzymatiques et d'électrons (Ishida *et al.*, 2014) ; tout comme les mitochondries, les chloroplastes sont facilement endommagés par les produits secondaires de ces réactions et le contrôle de qualité des chloroplastes est essentiel à la croissance des plantes.

De plus, les chloroplastes contiennent la majorité des protéines foliaires et donc de la teneur en azote et en carbone (Ishida *et al.*, 2014).

Le renouvellement des chloroplastes par chlorophagie permet non seulement de contrôler la qualité pour éliminer les chloroplastes non fonctionnels, mais fournit également un important réservoir d'azote et de carbone fixe qui peut être remobilisé pendant la sénescence et la préviation nutritionnelle (Have M *et al.*, 2017). Plusieurs types de chlorophagie fonctionnent, en fonction de l'état du chloroplaste ou des besoins nutritionnels (figure 17).

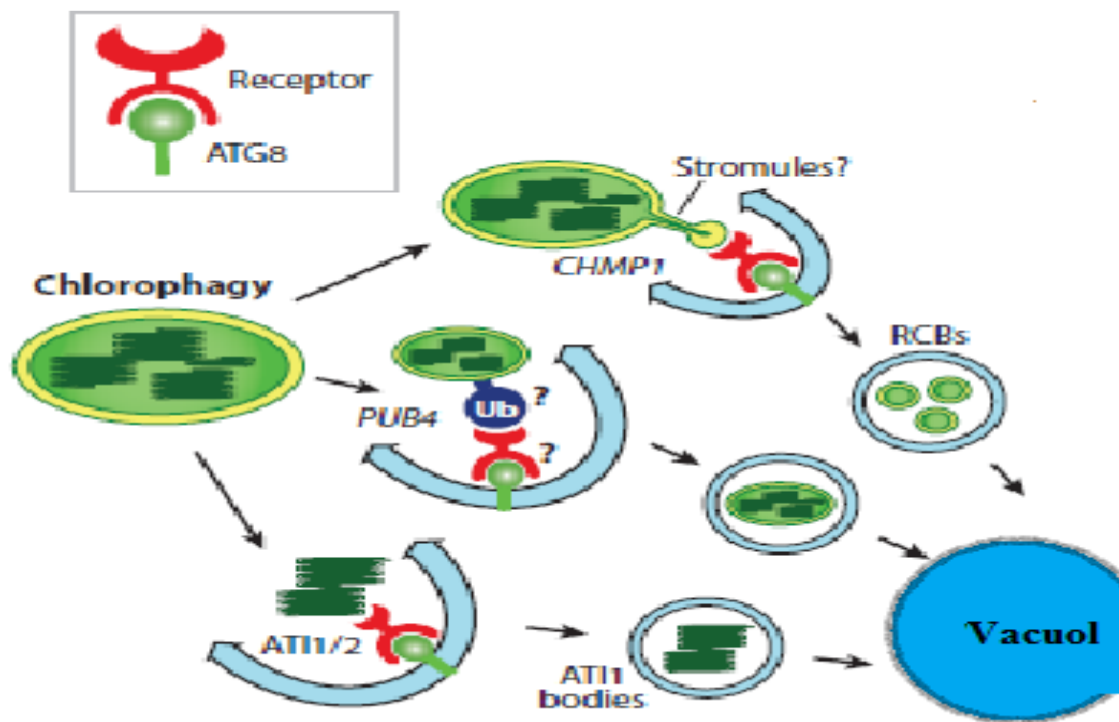


Figure 17 : schéma représentatif du Chlorophagy. (Richard S. Marshall et Richard D. Vierstra , 2018). La dégradation des chloroplastes s'opère soit des Corps contenant des rubisco (RCB) pendant la sénescence ou la privation de nutriments, dont la formation peut être médiée par l'ESCRT tels que le CHMP1 ainsi, par l'absorption de chloroplastes entiers en réponse à un dommage oxydatif, éventuellement sous l'effet d'Ubiquitylation dépendante de PUB4 ; ou par la formation de corps AT11/2 contenant des protéines thylakoïdes.

La protéine chloroplastique la plus abondante est le Rubisco, qui catalyse la fixation du CO₂ dans les molécules organiques. Des études ont montré que l'autophagie est impliquée dans la dégradation des chloroplastes et des protéines chloroplastiques, comme Rubisco (Ishida *et al.*, 2014). Les Corps contenant des Rubisco dérivés de chloroplastes (RCB), qui contiennent des composants de stromas, ont été observés pendant la sénescence des feuilles chez différentes espèces de plantes (Chiba *et al.*, 2003). Par la suite, il a été démontré que l'autophagie était impliquée dans la livraison des RCB à la vacuole pour leur dégradation (figure 18).

La chlorophagie fonctionne, en fonction de l'état du chloroplaste ou des besoins nutritionnels. L'exemple le plus spectaculaire est l'encapsulation des chloroplastes entiers en vésicules autophagiques décorées de l'ATG8 et leur livraison ultérieure à la vacuole par un itinéraire dépendant de la lipidation ATG8. Ce processus peut être stimulé par de fortes dommages photo-oxydatifs provoqués par les UVB ou la lumière visible de haute intensité, avec l'engloutissement des chloroplastes présentant une structure thylacoïde désorganisée et des enveloppes extérieures effondrées qui indiquent la détresse. (Izumi M *et al.*, 2017)

Le Rubisco, en particulier, est rapidement dégradé par les corps contenant du Rubisco (RCB) . Ces petites structures sphériques deviennent visibles dans le cytoplasme et la vacuole au début de la sénescence et contiennent des protéines stromales telles que la Rubisco et la glutamine synthétase, mais pas l'enveloppe du chloroplaste ni les protéines thylacoïdes (Ishida H et al ., 2008)

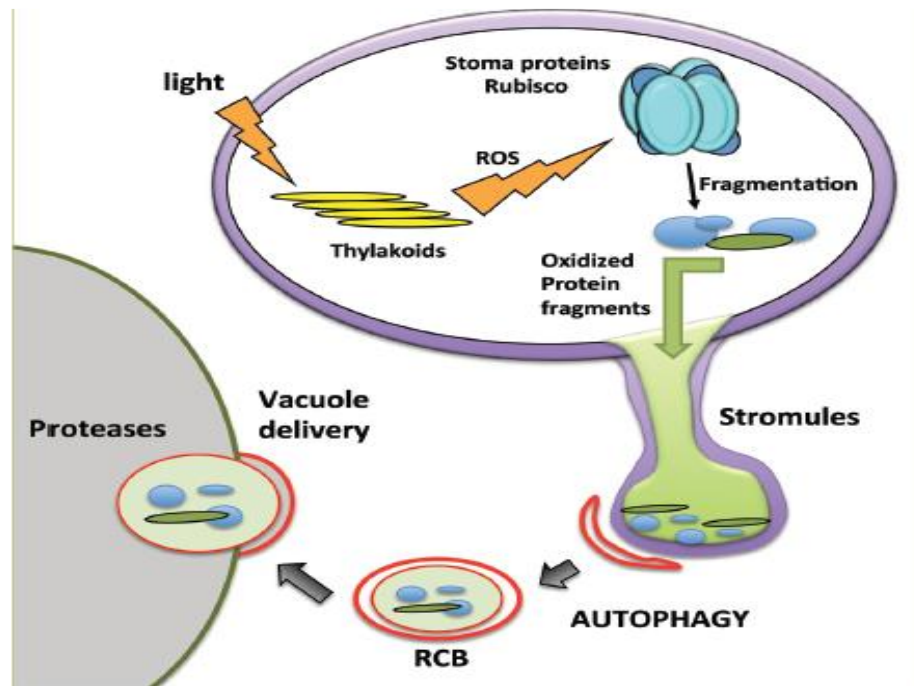


Figure 18 : Modèle hypothétique de la dégradation autophagique des protéines du stroma dans les feuilles sénescentes. (Liliana Avila-Ospina et al., 2014). Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) conduisent à la fragmentation et à l'oxydation des protéines du stroma comme Rubisco. Les fragments oxydés qui adhèrent à la membrane s'accumulent dans des stromules qui bourgeonnent pour former des corps contenant du Rubisco (RCB). Les RCB sont pris en charge par des autophagosomes qui les conduisent vers la vacuole centrale pour y être dégradés.

4.1.4. La Pexophagie

Le peroxysome est un organite à membrane unique que l'on trouve dans toutes les cellules eucaryotes. Dans les cellules végétales, il est important pour la germination des graines, la croissance et le développement des plantes (Hu *et al.*, 2012).

Les peroxysomes sont généralement situés entre les chloroplastes et les mitochondries des feuilles dans des conditions normales et leur emplacement correct est important pour les interactions entre les organites pendant la photorespiration (Reumann et Weber, 2006).

Les peroxysomes des plantes abritent diverses réactions métaboliques, dont le cycle des glyoxylates, plusieurs étapes de la photorespiration, et l'oxydation des acides gras. La nature

oxydative de leur métabolisme prédispose les peroxysomes à des dommages auto-infligés par les ROS, nécessitant des mécanismes d'élimination des peroxysomes .

Un sous-produit produit dans les peroxysomes est le peroxyde d'hydrogène, qui peut endommager les protéines ou d'autres composants cellulaires. Dans des conditions de stress, en cas de présence insuffisante de catalase (CAT) nécessaire pour la dégradation de peroxyde d'hydrogène par conséquent son accumulation peut endommager les peroxysomes, qui doivent donc être dégradées . Récemment, plusieurs études ont signalé la présence de pexophagie dans des cellules végétales (Yoshimoto *et al.*, 2014).

4.2. Rôle de l'autophagie dans la défense immunitaire : Xénophagie

Les infections pathogènes peuvent causer des stress, réduction de rendement ou même la mort entière de la plante .Il est important de comprendre le mécanisme des infections pathogènes et le mécanisme avec lequel les plantes faire face à ces attaques pathogènes. Il a été suggéré que l'autophagie peut jouer un rôle à la fois de "prosurvaival " et de "prodeath" en cas d'infection par un agent pathogène, selon le type d'agent pathogène, le type de facteur immunitaire impliqué et l'âge de la plante . Les phytopathogènes peuvent être divisés en deux types selon leur mode de vie : les nécrotrophes et les biotrophes. Les agents pathogènes nécrotrophes libèrent des toxines et des enzymes lytiques pour tuer l'hôte alors que les agents pathogènes biotrophes dépendent de leur cellule hôte pour survivre (Lenz HD *et al.*, 2011) .

Chez *Arabidopsis*, l'infection par le champignon pathogène nécrotrophe *Botrytis cinerea* induit l'autophagie à la fois dans la zone infectée et dans les zones environnantes .Par rapport aux plantes de serre, les plantes mutantes sont hypersensibles à *Botrytis cinerea* et *Alternaria brassicicola* : ils ont plus de morts cellules, la dégradation de certaines protéines s'accélère , et ils développent une nécrose de propagation . Il est intéressant de noter que le facteur de transcription WRKY33, qui est important pour la résistance des plantes aux agents pathogènes nécrotrophes, interagit avec la protéine d'autophagie ATG18a dans le noyau (Lai Z *et al.*, 2011). Ces résultats montrent clairement que l'autophagie a un rôle de prosurveillance pendant infection nécrotrophe pathogène.

Le rôle de l'autophagie sur l'infection par des agents pathogènes biotrophes est plus compliqué. Lorsque les plants de tabac (*Nicotiana benthamiana*) sont infectés par le virus de la mosaïque du tabac, l'autophagie est induite à la fois dans la zone infectée et dans la zone non infectée (Liu Y *et al.*, 2005).

L'autophagie joue différents rôles par rapport aux agents pathogènes biotrophes et nécrotrophes (Zhou et al., 2014). Pour les agents pathogènes nécrotrophes, les études

réalisées à ce jour ont montré que l'autophagie fonctionne pour prévenir l'infection et pour limiter la propagation de la mort cellulaire (Kabbage *et al.*, 2013).

Lenz *et al.*, ont comparé les rôles de l'autophagie dans la défense contre un champignon nécrotrophe et un agent pathogène bactérien biotrophe virulent. Les mutants d'*Arabidopsis* atg5, atg10 et atg18a autophagydefectueux ont été infectés par *Alternaria brassicicola* (nécrotrophe) ou *Pseudomonas syringae* pv. Tomate (Pst) (biotrophique). Ils ont constaté que l'autophagie jouait un rôle de prosurvie lors d'une infection par un agent pathogène nécrotrophe, mais qu'elle renforçait l'infection par un agent pathogène biotrophe (Lenz *et al.*, 2011). Lai *et al.*, (2011) ont également signalé que les mutants déficients en autophagie sont plus sensibles à l'infection fongique nécrotrophe pathogènes *Botrytis cinerea* et *A. brassicicola*, et que l'autophagie est induite lors d'une infection par *B. cinerea*.

Jusqu'à présent le rôle de l'autophagie n'est pas très claire dans la défense aux pathogènes, elle peut avoir un effet positif ou négatif selon plusieurs facteurs.

4.3. Conclusion sur le rôle de l'autophagie dans l'adaptation des plantes et la gestion des stress abiotiques

Les observations morphologiques indiquent que les structures autophagiques se trouvent souvent dans des conditions de carence en nutriments chez les cellules végétales, ce qui suggère une fonction de recyclage des nutriments pour les plantes. Quand les mutants Atatg et les plantes ATG à gène silencieux sont cultivées dans des conditions limitées ou appauvries en azote et en carbone, ils présentent comme on pouvait s'y attendre, une accélération drastique de la chlorose provoquée par le déficit nutritionnel et la sénescence artificielle, et un taux de croissance réduit des racines. Ce qui indique que lorsque l'apport en nutriments provenant de l'environnement est limité, l'autophagie est nécessaire à la mobilisation des nutriments dans les cellules végétales (Suttangkakul *et al.*, 2011).

Guiboileau *et al.*, (2012) ont démontré que en utilisant le marquage ¹⁵N, il a été prouvé que l'autophagie est nécessaire pour la remobilisation de l'azote.

La sénescence naturelle est également accélérée chez les plantes déficientes en autophagie ; cependant, le phénotype n'est pas susceptible d'être causé par une privation de nutriments car il est observé même dans des conditions riches en nutriments et est supprimé par l'inactivation de la signalisation de l'acide salicylique (Yoshimoto *et al.*, 2009).

Dans des conditions de carence en nutriments, les chloroplastes peuvent être partiellement dégradés par autophagie via des corps sphériques appelés corps contenant du Rubisco (RCB). L'accumulation des RCB dans la vacuole a été supprimée par l'ajout de

sucres métaboliques tels que le saccharose, le glucose et le fructose, ainsi que par l'illumination par la lumière. (Izumi *et al.*, 2010). Ces résultats suggèrent que les plantes sentent le statut du carbone et, lorsqu'il est limité, l'autophagie dégrade les RCB pour fournir de l'énergie à partir des protéines stromales et de l'enveloppe du chloroplaste comme source de carbone sans destruction des chloroplastes entiers. L'autophagie joue également un rôle dans la résistance des plantes au stress hydrique et salin. Aussi, L'induction des autophagosomes a été démontrée sous des traitements mannitol.

Les plantes *Arabidopsis* RNAi-ATG18a exposées à la sécheresse, au sel ou au stress ont montré une sensibilité accrue à ces stress (Liu, Xiong et Bassham, 2009). Conformément au phénotype observé lors du stress oxydatif, divers mutants atg exposés au stress salin contenait des quantités accrues de protéines oxydées par rapport aux plantes sauvages. (Luo *et al.*, 2017). En outre, la surexpression des homologues ATG3 du pommier (*Malus domestica*) chez *Arabidopsis* a augmenté leur résistance au sel et au stress osmotique (Wang, Sun, Jia et Ma , 2017) et la surexpression de l'ATG18a de la pomme dans les tomates et les plants de pommes a augmenté leur résistance au stress de la sécheresse par rapport aux plantes sauvage (Sun *et al.*, 2018).

Le stress thermique est un autre type de stress abiotique que l'autophagie permet d'atténuer. On observe une augmentation d'Autophagosomes et leurs accumulation chez *Arabidopsis* et les plants de tomates exposés au stress thermique (Zhou *et al.*, 2014). Aussi, Les mutants *Arabidopsis* atg5 et atg7 ont montré une plus grande sensibilité au stress thermique par rapport au type sauvage, qui se manifeste par un flétrissement accru, une augmentation des fuites d'électrolytes et une réduction de la photosynthèse. De plus, les plantes mutantes atg7 ont montré une accumulation de protéines insolubles sous forme d'agrégats, marqués par ubiquitin (Zhou et al., 2013).

Conclusion

Conclusion

Conclusion :

En raison de l'augmentation de la population mondiale et aux changements climatiques, le développement de cultures plus productives est devenu un défi central pour ce siècle. L'impact de la croissance sur le rendement et la qualité des cultures et son utilisation potentielle dans la sélection des cultivars plus résistants aux différentes contraintes environnementales deviennent de plus en plus importants. En outre, une remobilisation adéquate des nutriments augmente l'efficacité de l'utilisation des nutriments par la plante, réduisant ainsi les besoins en engrais. Au cours des dernières décennies, des progrès ont été réalisés dans le but de comprendre le processus de la sénescence des feuilles et de sa régulation au niveau moléculaire, plusieurs gènes associés à la sénescence ont été identifiés chez différentes espèces. En outre, une grande partie des connaissances fondamentales sur la régulation de la sénescence a été testée sur des espèces végétales pour une utilisation potentielle dans l'amélioration du rendement. Cela inclut la sélection des cultivars qui présente le phénotype 'stay green'. En plus plusieurs méthodes de retardement de la sénescence ont été développées, soit on se basant sur l'aspect moléculaire et génétique des cultures, ou en appliquant des agents biologiques ou chimiques qui influencent principalement sur la photosynthèse et la dégradation de chlorophylle.

Le mécanisme de base de l'autophagie a été bien étudié au cours des deux dernières décennies. L'autophagie est impliquée dans de nombreuses réactions de stress abiotiques et biotiques, dans lesquelles elle dégrade et recycle les composants cellulaires pour éliminer les composants endommagés et aussi pour fournir des sources d'énergie et des métabolites alternatifs. Récemment, l'autophagie sélective a fait l'objet d'une grande attention chez les plantes. Plusieurs études ont montré que l'autophagie affecte considérablement le métabolisme des plantes pendant les périodes normales et dans des conditions de stress. Ces nouvelles contributions illustrent encore l'importance de l'autophagie dans le développement des plantes et la tolérance au stress.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

Abeles FB, Dunn LJ, Morgens P, Callahans A, Dinterman RE, Schmidt J. (1988). Induction of 33-kD and 60-kD peroxidases during ethylene-induced senescence of cucumber cotyledons. *PlantPhysiol.* 87:609–15

Abid, M., Shao, Y. H., Liu, S. X., Wang, F., Gao, J. W., Jiang, D., ... Dai, T. B. (2017). Pre drought priming sustains grain development under postanthesis drought stress by regulating the growth hormones in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Planta*, 246, 509–524.

Ahanger, M. A., Agarwal, R. M. (2017). Salinity stress induced alterations in antioxidant metabolism and nitrogen assimilation in wheat (*Triticum aestivum* L) as influenced by potassium supplementation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 449–460.

Albacete AA, Martínez-Andújar C, Pérez-Alfocea F. (2014). Hormonal and metabolic regulation of source–sink relations under salinity and drought: from plant survival to crop yield stability. *Biotechnology Advances* 32, 12–30.

Alonso JM, Hirayama T, Roman G, Nourizadeh S, Ecker JR. (1999) .EIN2, a bifunctional transducer of ethylene and stress responses in Arabidopsis. *Science* 284: 2148–2152

Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C., & Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(9), 2026–2032.

Augé RM, Toler HD, Moore JL, Cho K, Saxton AM .(2007). Comparing contributions of soil versus root colonization to variations

Avni, R., Zhao, R., Pearce, S., Jun, Y., Uauy, C., Tabbita, F., ... & Distelfeld, A. (2014). Functional characterization of GPC-1 genes in hexaploid wheat. *Planta*, 239(2), 313-324.

Balazadeh S, Wu A, Mueller-Roeber B. (2010). Salt-triggered expression of the ANAC092-dependent senescence regulon in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signaling & Behavior* 5, 733–735.

Bazargani MM, Sarhadi E, Bushehri AAS, Matros A, Mock HP, Naghavi MR, Hajihoseini V, Mardi M, Hajirezaei MR, Moradi F .(2011). A proteomics view on the role of drought-induced senescence and oxidative stress defense in enhanced stem reserves remobilization in wheat. *J Proteomics*74: 1959–1973

Bengoa Luoni, S., Astigueta, F. H., Nicosia, S., Moschen, S., Fernandez, P., & Heinz, R. (2019). Transcription factors associated with leaf senescence in crops. *Plants*, 8(10), 411

Bennett E, Roberts JA, Wagstaff C .(2012). Manipulating resource allocation in plants. *J Exp Bot* 63: 3391–3400

Bennett EJ, Roberts JA, Wagstaff C (2014) Use of mutants to dissect the role of ethylene signalling in organ senescence and the regulation of yield in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Growth Regul* 33: 56–65

Blake, N. K., Lanning, S. P., Martin, J. M., Sherman, J. D., & Talbert, L. E. (2007). Relationship of flag leaf characteristics to economically important traits in two spring wheat crosses. *Crop Science*, 47, 491–496.

- Borrill, P., Harrington, S. A., Simmonds, J., & Uauy, C. (2019). Identification of transcription factors regulating senescence in wheat through gene regulatory network modelling. *Plant Physiology*, *180*(3), 1740-1755.
- Breeze E, Harrison E, McHattie S, Hughes L, Hickman R, Hill C, Kiddle S, Kim YS, Penfold CA, Jenkins D.(2011). High-resolution temporal profiling of transcripts during Arabidopsis leaf senescence reveals a distinct chronology of processes and regulation. *Plant Cell* 23: 873–894
- Buchanan-Wollaston V, Page T, Harrison E, Breeze E, Lim PO, Nam HG, Lin JF, Wu SH, Swidzinski J, Ishizaki K.(2005). Comparative transcriptome analysis reveals significant differences in gene expression and signalling pathways between developmental and dark/starvationinduced senescence in Arabidopsis. *Plant J* 42: 567–585
- Buchanan-Wollaston, V., Earl, S., Harrison, E., Mathas, E., Navabpour, S., Page, T., & Pink, D. (2003). The molecular analysis of leaf senescence—a genomics approach. *Plant biotechnology journal*, *1*(1), 3-22.
- Cao J, Jiang F, Sodmergen, Cui K.(2003). Time-course of programmed cell death during leaf senescence in *Eucommia ulmoides*. *J.PlantRes.* 162:7–12
- Chaves, M., Flexas, J., & Pinheiro, C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, *103*, 551–560.
- Craftsbrandner, S. J., et Egli, D. B. (1987). Modification of seed growth in soybean by Physical restraint -eVect on leaf senescence. *J. Exp. Bot.* 38, 2043–2049.
- Cramer GR, Urano K, Delrot S, Pezzotti M, Shinozaki K.(2011). Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biol* 11: 163
- Dasgupta, P., Das, B. S., & Sen, S. K. (2015). Soil water potential and recoverable water stress in drought tolerant and susceptible rice varieties. *Agricultural Water Management*, *152*, 110–118.
- Datta, S. K. (2004). Rice biotechnology: a need for developing countries.
- De Vita, P., Avio, L., Sbrana, C., Laidò, G., Marone, D., Mastrangelo, A. M., ... & Giovannetti, M. (2018). Genetic markers associated to arbuscular mycorrhizal colonization in durum wheat. *Scientific reports*, *8*(1), 1-12.
- Declos. M.(2008). modification physiologiques et protoniques associées à remobilisation de l'azote foliaire au cours de la sénescence séquentielle chez le colza (*Brassica napus L.*)
- Dobrenel T, Caldana C, Hanson J, Robaglia C, Vincent M. (2016) . TOR signaling and nutrient sensing. *Annu. Rev. Plant Biol.* 67:261–85
- Etienne P.(2001) .Régulation de l'expression du gene tc17, codant une sous unité B1 de protéasome au cours de la mise en place des réaction de défense de la palante .thèse de doctorat université de Bourgogne p 263.
- Fkao T, Yeung E, Bailey-Serres J.(2012). The submergence tolerance gene SUB1A delays leaf senescence under prolonged darkness through hormonal regulation in rice. *Plant Physiol* 160: 1795–1807

- Fujiki, Y., Yoshikawa, Y., Sato, T., Inada, N., Ito, M., Nishida, I., et Watanabe, A. (2001). Dark-inducible genes from *Arabidopsis thaliana* are associated with leaf senescence and repressed by sugars. *Physiol. Plant.* 111, 345–352.
- Goodstein DM, Shu S, Howson R, Neupane R, Hayes RD, Fazo J, Mitros T, Dirks W, Hellsten U, Putnam N (2012). Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. *Nucleic Acids Res* 40: D1178–D1186
- G. Spano, N.D.I. Fonzo, C. Perrotta, Physiological characterization of ‘stay green’ mutants in durum wheat, *J. Exp. Bot.* 54 (2003) 1415–1420.
- Graham LE, Schippers JHM, Dijkwel PP, Wagstaff C. (2012). Ethylene and senescence processes. In MT McManus, ed, *Annual Plant Reviews*, Vol 44. *The Plant Hormone Ethylene*. Wiley, Oxford, pp 305–341
- Grbic V, Bleecker AB . (1995). Ethylene regulates the timing of leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant J* 8:595–602
- Gregersen PL, Holm PB. (2007). Transcriptome analysis of senescence in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Biotechnology Journal* 5, 192–206.
- Gregersen, P. L., Culetic, A., Boschian, L., & Krupinska, K. (2013). Plant senescence and crop productivity. *Plant Molecular Biology*, 82, 603–622.
- Guiboileau A., Sormani R., Meyer C., Masclaux-Daubresse C. (2010) .Senescence and death of plant organs: nutrient recycling and developmental regulation. *Comptes rendus biologiques* 333:382–391.
- Gun senchung .(2003). Mitotic and postmitotic senescence in plant. *Sci.Aging knowledge environ.*2003, Re7.
- Guo Y, Cai Z, Gan S. (2004). Transcriptome of *Arabidopsis* leaf senescence. *Plant Cell Environ* 27: 521–549
- Guo Y, Gan SS. (2012). Convergence and divergence in gene expression profiles induced by leaf senescence and 27 senescence-promoting hormonal, pathological and environmental stress treatments. *Plant Cell Environ* 35: 644–655
- Ha, S., Vankoa, R., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., & Tran, L. P. (2012). Cytokinins: Metabolism and function in plant adaptation to environmental stresses. *Trends in Plant Science*, 17, 172–179.
- Hanaoka, H., Noda, T., Shirano, Y., Kato, T., Hayashi, H., Shibata, D., ... & Ohsumi, Y. (2002). Leaf senescence and starvation-induced chlorosis are accelerated by the disruption of an *Arabidopsis* autophagy gene. *Plant Physiology*, 129(3), 1181–1193.
- Hardeland, R. (2015). Melatonin in plants and other phototrophs: advances and gaps concerning the diversity of functions. *Journal of experimental botany*, 66(3), 627–646.
- Hardeland, R., Cardinali, D. P., Srinivasan, V., Spence, D. W., Brown, G. M., & Pandi-Perumal, S. R. (2011). Melatonin—A pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Progress in neurobiology*, 93(3), 350–384.

- Hatsugai N, Kuroyanagi M, Yamada K, Meshi T, Tsuda S .(2004). A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced hypersensitive cell death. *Science* 305:855–58
- Have M, Marmagne A, Chardon F, Masclaux-Daubresse C.(2017). Nitrogen re-mobilization during leaf senescence: lessons from *Arabidopsis* to crops. *J. Exp. Bot.* 68:2513–29
- hen LQ, Lin IW, Qu XQ, Sosso D, McFarlane HE, Londoño A, Samuels AL, Frommer WB. (2015). A cascade of sequentially expressed sucrose transporters in the seed coat and endosperm provides nutrition for the *Arabidopsis* embryo. *Plant Cell* 27: 607–619
- Honig, A., Avin-Wittenberg, T., Ufaz, S., & Galili, G. (2012). A new type of compartment, defined by plant-specific Atg8-interacting proteins, is induced upon exposure of *Arabidopsis* plants to carbon starvation. *The Plant Cell*, 24(1), 288-303.
- Ishida H, Yoshimoto K, Izumi M, Reisen D, Yano Y.(2008). Mobilization of Rubisco and stromalocalized fluorescent proteins of chloroplasts to the vacuole by an *ATG* gene–dependent autophagic process. *Plant Physiol.* 148:142–55
- Izumi M, Ishida H, Nakamura S, Hidema J. (2017). Entire photo-damaged chloroplasts are transported to the central vacuole by autophagy. *Plant Cell* 29:377–94
- Jan, S., Abbas, N., Ashraf, M., & Ahmad, P. (2018). Roles of potential plant hormones and transcription factors in controlling leaf senescence and drought tolerance. *Protoplasma*, 1–17.
- Jibrán, R., Hunter, D. A., & Dijkwel, P. P. (2013). Hormonal regulation of leaf senescence through integration of developmental and stress signals. *Plant Molecular Biology*, 82(6), 547-561.
- Jibrán, R., Hunter, D. A., & Dijkwel, P. P. (2013). Hormonal regulation of leaf senescence through integration of developmental and stress signals. *Plant Molecular Biology*, 82, 547–561.
- Jing HC, Schippers JH, Hille J, Dijkwel PP. (2005). Ethylene-induced leaf senescence depends on age-related changes and OLD genes in *Arabidopsis*. *J Exp Bot* 56:2915–2923
- Jing HC, Sturre MJG, Hille J, Dijkwel PP .(2002). *Arabidopsis* onset of leaf death mutants identify a regulatory pathway controlling leaf senescence. *Plant J* 32:51–63
- JR, Semenov MA. (2005). Crop responses to climatic variation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 360, 2021–2035.
- Jung JY, Shin R, Schachtman DP. (2009). Ethylene mediates response and tolerance to potassium deprivation in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 21: 607–621
- Jung JY, Shin R, Schachtman DP. (2009). Ethylene mediates response and tolerance to potassium deprivation in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 21: 607–621
- Kade M., Barneix A.J., Olmos S., Dubcovsky J. (2005) Nitrogen uptake and remobilization in tetraploid ‘Langdon’ durum wheat and a recombinant substitution line with the high grain protein gene *Gpc-B1* . *Plant Breeding*, 124, 343–349
- Kamada Y, Funakoshi T, Shintani T, Nagano K, Ohsumi M, Ohsumi Y.(2000). TOR-mediated induction of autophagy via an Apg1 protein kinase complex. *J. Cell Biol.* 150:1507–13

- Kołodziejczyk, I., Bałabusta, M., Szewczyk, R., & Posmyk, M. M. (2015). The levels of melatonin and its metabolites in conditioned corn (*Zea mays* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds during storage. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(6), 105.
- Koyama-Honda, I., Itakura, E., Fujiwara, T. K., & Mizushima, N. (2013). Temporal analysis of recruitment of mammalian ATG proteins to the autophagosome formation site. *Autophagy*, 9(10), 1491-1499.
- Kumar, A., Nayak, K., Pani, D. R., & Das, B. S. (2017). Physiological and morphological responses of four different rice cultivars to soil water potential based deficit irrigation management strategies. *Field Crops Research*, 205, 78–94.
- Lai Z, Wang F, Zheng Z, Fan B, Chen Z. (2011). A critical role of autophagy in plant resistance to necrotrophic fungal pathogens. *Plant J.* 66:953–68
- Langfelder, P., Horvath, S. (2008). WGCNA: An R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics*, 9, 559.
- Lawlor, D. W., Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*, 25, 275–294.
- Lenz HD, Haller E, Melzer E, Kober K, Wurster K. (2011). Autophagy differentially controls plant basal immunity to biotrophic and necrotrophic pathogens. *Plant J.* 66:818–30
- Lers A. (2007). Environmental regulation of leaf senescence. In S Gan, ed, *Annual Plant Reviews*. 26. Senescence Processes in Plants. Blackwell Publishing, Oxford, pp 108–144
- Li Z, Peng J, Wen X, Guo H. (2013). ETHYLENE-INSENSITIVE3 is a senescence-associated gene that accelerates age-dependent leaf senescence by directly repressing miR164 transcription in Arabidopsis. *Plant Cell* 25: 3311–3328
- Li, F., Vierstra, R.D. (2012). Autophagy: a multifaceted intracellular system for bulk and
- Lim, P. O., Kim, H. J., & Gil Nam, H. (2007). Leaf senescence. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 58, 115-136.
- Liu Y, Schiff M, Czymmek K, Tallochy Z, Levine B, Dinesh-Kumar SP. (2005). Autophagy regulates programmed cell death during the plant innate immune response. *Cell* 121:567–77
- Liu, Y., Bassham, D.C. (2012). Autophagy: pathways for self-eating in plant cells. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63, 215e237.
- Luo, Y. L., Tang, Y. H., Zhang, X., Li, W. Q., Chang, Y. L., Pang, D. W., Wang, Z. L. (2018). Interactions between cytokinin and nitrogen contribute to grain mass in wheat cultivars by regulating the flag leaf senescence process. *The Crop Journal*, 6, 538–551.
- Luo, Y., Pang, D., Jin, M., Chen, J., Kong, X., Li, W., ... & Wang, Z. (2019). Identification of plant hormones and candidate hub genes regulating flag leaf senescence in wheat response to water deficit stress at the grain-filling stage. *Plant direct*, 3(11), e00152.
- Lv, X., Pu, X., Qin, G., Zhu, T., Lin, H. (2014). The roles of autophagy in development and stress responses in Arabidopsis thaliana. *Apoptosis* 19, 905e921.

- Mathur S, Sharma MP, Jajoo A (2018) Improved photosynthetic efficacy of maize (*Zea mays*) plants with Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under high temperature stress. *J Photochem Photobiol B* 180:149–154
- Mathur, S., Tomar, R. S., & Jajoo, A. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) protects photosynthetic apparatus of wheat under drought stress. *Photosynthesis research*, 139(1-3), 227-238.
- Marshall, R. S., & Vierstra, R. D. (2018). Autophagy: the master of bulk and selective recycling. *Annual Review of Plant Biology*, 69, 173-208.
- Michaeli, S., Galili, G., Genschik, P., Fernie, A. R., & Avin-Wittenberg, T. (2016). Autophagy in plants—what's new on the menu?. *Trends in Plant Science*, 21(2), 134-144.
- Mickelbart MV, Hasegawa PM, Bailey-Serres J. (2015). Genetic mechanisms of abiotic stress tolerance that translate to crop yield stability. *Nature Reviews Genetics* 16, 237–251.
- Mittler R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science* 11, 15–19.
- Mizushima, N. (2010). The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Current opinion in cell biology*, 22(2), 132-139.
- Moschen, S., Bengoa Luoni, S., Di Rienzo, J. A., Caro, M. D. P., Tohge, T., Watanabe, M., ... & Dopazo, J. (2016). Integrating transcriptomic and metabolomic analysis to understand natural leaf senescence in sunflower. *Plant Biotechnology Journal*, 14(2), 719-734.
- Munné-Bosch, S., & Alegre, L. (2004). Die and let live: Leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. *Functional Plant Biology*, 31, 203–216.
- Munns R, Tester M (2008) .Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol* 59: 651–681
- Nawaz, M. A., Huang, Y., Bie, Z., Ahmed, W., Reiter, R. J., Niu, M., & Hameed, S. (2016). Melatonin: current status and future perspectives in plant science. *Frontiers in plant science*, 6, 1230.
- Noh YS, Amasino RM. (1999). Identification of a promoter region responsible for the senescence-specific expression of SAG12. *Plant Molecular Biology* 41, 181–194
- Nooden LD. (1988). The phenomena of senescence and aging. In *Senescence and Aging in Plants*, ed. LD Nooden, AC Leopold, pp. 1–50. San Diego: Academic
- Okamoto, K., Kondo-Okamoto, N., & Ohsumi, Y. (2009). Mitochondria-anchored receptor Atg32 mediates degradation of mitochondria via selective autophagy. *Developmental cell*, 17(1), 87-97.
- Ortiz, R., Braun, H. J., Crossa, J., Crouch, J. H., Davenport, G., Dixon, J., ... & Joshi, A. K. (2008). Wheat genetic resources enhancement by the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(7), 1095-1140.
- Parrott DL, McInnerney K, Feller U, Fischer AM. (2007). Steamgirdling of barley (*Hordeum vulgare*) leaves leads to carbohydrate accumulation and accelerated leaf senescence, facilitating transcriptomic analysis of senescence-associated genes. *New Phytologist* 176, 56–69

Pearce, S., Tabbita, F., Cantu, D., Buffalo, V., Avni, R., Vazquez-Gross, H., ... & Dubcovksy, J. (2014). Regulation of Zn and Fe transporters by the GPC1 gene during early wheat monocarpic senescence. *BMC Plant Biology*, *14*(1), 368.

Pic, E., de la Serve, B. T., Tardieu, F., et Turc, O. (2002). Leaf senescence induced by mild water deficit follows the same sequence of macroscopic, biochemical, and molecular events as monocarpic senescence in pea. *Plant Physiol.* *128*, 236–246

Porcel R, Ruiz-Lozano JM (2004) Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *J Exp Bot* *55*:1743–1750

Posmyk, M. M., Bałabusta, M., Wieczorek, M., Sliwiska, E., & Janas, K. M. (2009). Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress. *Journal of Pineal Research*, *46*(2), 214–223.

Proost S, Van Bel M, Sterck L, Billiau K, Van Parys T, Van de Peer Y, Vandepoele K.(2009). PLAZA: a comparative genomics resource to study gene and genome evolution in plants. *Plant Cell* *21*: 3718–3731

Reggiori F, Tucker KA, Stromhaug PE, Klionsky DJ.(2004). The Atg1-Atg13 complex regulates Atg9 and Atg23 retrieval transport from the pre-autophagosomal structure. *Dev. Cell* *6*:79–90

Reiter, R. J., Tan, D. X., Zhou, Z., Cruz, M. H. C., Fuentes-Broto, L., & Galano, A. (2015). Phytemelatonin: assisting plants to survive and thrive. *Molecules*, *20*(4), 7396–7437.

Reynolds, M. P., Mujeeb-Kazi, A., & Sawkins, M. (2005). Prospects for utilising plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought-and salinity-prone environments. *Annals of applied biology*, *146*(2), 239–259.

Rivero, R. M., Kojima, M., Gepstein, A., Sakakibara, H., Mittler, R., Gepstein, S., & Blumwald, E. (2007). Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(49), 19631–19636.

Roach D.A. (1993). Evolutionary senescence in plants. *Genetica* *91*:53–64.

Rolland, F., Moore, B., et Sheen, J. (2002). Sugar sensing and signaling in plants. *Plant Cell*

Saidi, M. N., Mergby, D., & Brini, F. (2017). Identification and expression analysis of the NAC transcription factor family in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. durum). *Plant Physiology and Biochemistry*, *112*, 117–128

Sargent G, van Zutphen T, Shatseva T, Zhang L, Di Giovanni V. (2016). PEX2 is the E3 ubiquitin ligase required for pexophagy during starvation. *J. Cell Biol.* *214*:677–90

Sarropoulou, V., Dimassi-Theriou, K., Therios, I., & Koukourikou-Petridou, M. (2012). Melatonin enhances root regeneration, photosynthetic pigments, biomass, total carbohydrates and proline content

- in the cherry rootstock PHL-C (*Prunus avium* × *Prunus cerasus*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 61, 162-168.
- Sarwat, M., Naqvi, A. R., Ahmad, P., Ashraf, M., & Akram, N. A. (2013). Phytohormones and microRNAs as sensors and regulators of leaf senescence: Assigning macro roles to small molecules. *Biotechnology Advances*, 31(8), 1153–1171.
- Schippers, J. H., Schmidt, R., Wagstaff, C., & Jing, H. C. (2015). Living to Die and Dying to Live: The Survival Strategy behind Leaf Senescence. *Plant physiology*, 169(2), 914–930.
- Schnyder H. (1993). The role of carbohydrate storage and redistribution in the source-sink relations of wheat and barley during grain filling: a review. *New Phytol* 123: 233–245
selective recycling. *Trends Plant Sci.* 17, 526e537.
- Seo PJ, Park JM, Kang SK, Kim SG, Park CM. (2011). An Arabidopsis senescence-associated protein SAG29 regulates cell viability under high salinity. *Planta* 233: 189–200
- Sharma, S. N., Sain, R. S., & Sharma, P. K. (2003). The genetic control of flag leaf length in normal and late sown durum wheat. *Journal of Agricultural Science*, 141, 323–331.
- Shewry, P. R. (2009). Wheat. *Journal of experimental botany*, 60(6), 1537-1553.
- Singh, A. K., Hamel, C., DePauw, R. M., & Knox, R. E. (2012). Genetic variability in arbuscular mycorrhizal fungi compatibility supports the selection of durum wheat genotypes for enhancing soil ecological services and cropping systems in Canada. *Canadian journal of microbiology*, 58(3), 293-302.
- Smith SE, Read DJ. (2008). *Mycorrhizal symbiosis* (3rd edn). Elsevier-Academic Press, London, UK, pp. 787.
- Spano, G., Di Fonzo, N., Perrotta, C., Platani, C., Ronga, G., Lawlor, D. W., ... & Shewry, P. R. (2003). Physiological characterization of 'stay green' mutants in durum wheat. *Journal of experimental botany*, 54(386), 1415-1420
- Suttangkakul, A., Li, F., Chung, T., & Vierstra, R. D. (2011). The ATG1/ATG13 protein kinase complex is both a regulator and a target of autophagic recycling in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 23(10), 3761-3779.
- Suzuki K, Kirisako T, Kamada Y, Mizushima N, Noda T, Ohsumi Y. (2001). The pre-autophagosomal structure organized by concerted functions of APG genes is essential for autophagosome formation. *EMBO J.* 20:5971–81
- Suzuki K, Kubota Y, Sekito T, Ohsumi Y. (2007). Hierarchy of Atg proteins in pre-autophagosomal structure organization. *Genes Cells* 12:209–18
- Thomas H., Huang L., Young M., Ougham H. (2009). Evolution of plant senescence. *BMC evolutionary biology* 9:163.
- Thompson, A. R., & Vierstra, R. D. (2005). Autophagic recycling: lessons from yeast help define the process in plants. *Current opinion in plant biology*, 8(2), 165-173.
- Tsukada, M., & Ohsumi, Y. (1993). Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS letters*, 333(1-2), 169-174.

Uauy, C., Brevis, J. C., & Dubcovsky, J. (2006). The high grain protein content gene Gpc-B1 accelerates senescence and has pleiotropic effects on protein content in wheat. *Journal of experimental botany*, 57(11), 2785-2794.

Uauy, C., Distelfeld, A., Fahima, T., Blechl, A., & Dubcovsky, J. (2006). A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. *Science*, 314(5803), 1298-1301.

Van der Graaff E, Schwacke R, Schneider A, Desimone M, Flugge UI, Kunze R .(2006). Transcription analysis of arabidopsis membrane transporters and hormone pathways during developmental and induced leaf senescence. *Plant Physiol* 141:776–792

van Doorn WG, Woltering EJ.(2004). Senescence and programmed cell death: substance or semantics? *J. Exp.Bot.* 55:2147–53

Van Doorn WG. (2008). Is the onset of senescence in leaf cells of intact plants due to low or high sugar? *Journal of Experimental Botany* 59, 1963–1972.

van Doorn, WG , Papini, A. (2013). Ultrastructure of autophagy in plant cells: a review. *Autophagy*, 9 (12), 1922-1936.]

Walters DR, McRoberts N, Fitt BD .(2008). Are green islands red herrings? Significance of green islands in plant interactions with pathogens and pests. *Biol Rev Camb Philos Soc* 83: 79–102

Wang W, Vinocur B, Altman A.(2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218, 1–14.

Wang, L., Shangguan, Z. (2015). Photosynthetic rates and kernel-filling processes of big-spike wheat (*Triticum aestivum* L.) during the growth period. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 43(3), 182-192.

Wang, N., Zheng, Y., Xin, H., Fang, L., & Li, S. (2013). Comprehensive analysis of NAC domain transcription factor gene family in *Vitis vinifera*. *Plant cell reports*, 32(1), 61-75.

Wang, P., Sun, X., Li, C., Wei, Z., Liang, D., & Ma, F. (2013). Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. *Journal of Pineal Research*, 54(3), 292-302.

Wang, W., Hao, Q., Tian, F., Li, Q., & Wang, W. (2016). Cytokinin-regulated sucrose metabolism in stay-green wheat phenotype. *PloS one*, 11(8), e0161351.

Wang, W., Hao, Q., Tian, F., Li, Q., & Wang, W. (2016). The stay-green phenotype of wheat mutant *tasg1* is associated with altered cytokinin metabolism. *Plant cell reports*, 35(3), 585-599.

Wang, W., Hao, Q., Wang, W., Li, Q., Chen, F., Ni, F., Wang, Y., Fu, D., Wu, J., & Wang, W. (2019). The involvement of cytokinin and nitrogen metabolism in delayed flag leaf senescence in a wheat stay-green mutant, *tasg1*. *Plant science : an international journal of experimental plant biology*, 278, 70–79.

- Waters B.M., Uauy C., Dubcovsky J., Grusak M.A. (2009) Wheat (*Triticum aestivum*) NAM proteins regulate the translocation of iron, zinc, and nitrogen compounds from vegetative tissues to grain. *Journal of Experimental Botany*, 60, 4263–4274.
- Weaver LM, Gan SS, Quirino B, Amasino RM. (1998). A comparison of the expression patterns of several senescence-associated genes in response to stress and hormone treatment. *Plant Mol Biol* 37:455–469
- Wei, W., Li, Q. T., Chu, Y. N., Reiter, R. J., Yu, X. M., Zhu, D. H., ... & Chen, S. Y. (2015). Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 695-707.
- Wingler A, Roitsch T. (2008). Metabolic regulation of leaf senescence : interactions of sugar signalling with biotic and abiotic stress responses. *Plant Biology* 10, 50–62.
- Woo HR, Kim HJ, Nam HG, Lim PO. (2013). Plant leaf senescence and death – regulation by multiple layers of control and implications for aging in general. *Journal of Cell Science* 126, 4823–4833
- Woo, H. R., Kim, J. H., Nam, H. G., & Lim, P. O. (2004). The delayed leaf senescence mutants of *Arabidopsis*, ore1, ore3, and ore9 are tolerant to oxidative stress. *Plant and Cell Physiology*, 45(7), 923-932.
- Xiong, Y., Contento, A. L., & Bassham, D. C. (2005). AtATG18a is required for the formation of autophagosomes during nutrient stress and senescence in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 42(4), 535-546.
- Yang J, Zhang J, Wang Z, Zhu Q, Liu L. (2002). Abscisic acid and cytokinins in the root exudates and leaves and their relationship to senescence and remobilization of carbon reserves in rice subjected to water stress during grain filling. *Planta* 215: 645–652
- Yang, J. C., & Zhang, J. H. (2006). Grain filling of cereals under soil drying. *New Phytologist*, 169, 223–236.
- Yang, X., & Bassham, D. C. (2015). New insight into the mechanism and function of autophagy in plant cells. In *International review of cell and molecular biology* (Vol. 320, pp. 1-40). Academic Press.
- Ye, J., Yang, W., Li, Y., Wang, S., Yin, L., & Deng, X. (2020). Seed Pre-Soaking with Melatonin Improves Wheat Yield by Delaying Leaf Senescence and Promoting Root Development. *Agronomy*, 10(1), 84.
- Yoshimoto, K. (2012). Beginning to understand autophagy, an intracellular self-degradation system in plants. *Plant and Cell Physiology*, 53(8), 1355-1365.
- Yoshimoto, K., Hanaoka, H., Sato, S., Kato, T., Tabata, S., Noda, T., & Ohsumi, Y. (2004). Processing of ATG8s, ubiquitin-like proteins, and their deconjugation by ATG4s are essential for plant autophagy. *The Plant Cell*, 16(11), 2967-2983.
- Yue, W., Nie, X., Cui, L., Zhi, Y., Zhang, T., Du, X., & Song, W. (2018). Genome-wide sequence and expressional analysis of autophagy gene family in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of plant physiology*, 229, 7-21.

Zhang K, Gan SS. (2012) .An abscisic acid-AtNAP transcription factor-SAG113 protein phosphatase 2C regulatory chain for controlling dehydration in senescing Arabidopsis leaves. *Plant Physiol* 158:961–969

Zhang, J., Shi, Y., Zhang, X., Du, H., Xu, B., & Huang, B. (2017). Melatonin suppression of heat-induced leaf senescence involves changes in abscisic acid and cytokinin biosynthesis and signaling pathways in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 138, 36-45.

Zhao, D., Derkx, A. P., Liu, D. C., Buchner, P., & Hawkesford, M. J. (2015). Overexpression of a NAC transcription factor delays leaf senescence and increases grain nitrogen concentration in wheat. *Plant Biology*, 17(4), 904-913.

Zheng Y, Wang Z, Sun X, Jia A, Jiang G, Li Z .(2008). Higher salinity tolerance cultivars of winter wheat relieved senescence at reproductive stage. *Environ Exp Bot* 62: 129–138

Zhu, J. K. (2016). Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 167(2), 313–324.

Zlatev, Z., & Lidon, F. C. (2012). An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24, 57–72.

Les annexes :

Annexe 01 : Les gènes candidats correspondant aux MTA (Associations significatives de traits marqueurs) identifiés dans cette étude comme étant associés à la capacité des racines de blé à établir une symbiose mycorhizienne à arbuscules, et les QTL liés à ce caractère, provenant de la littérature, sont cartographiés dans les mêmes régions

NameQTL	Chr.	Peak marker	BLAST results	Marker name - MTA/QTL related
QTamf-1A	1A	SNP_72794	F-box/RNI-like superfamily protein	wPt-4666 QPm66-1A ; IWB4497 TRN
QTamf-2B	2B	SNP_34450	K(+) efflux antiporter 2, chloroplastic	wPt-7360 Sr ; gwm4828 QPm66 ; Barc159 MIZec , wmc441-wmc149 ; IWB54597, PRL,TRL ; IWB1384 RDW, RGA
QTamf-5A	5A	SNP_29990	Unknown function	IWB7361 TRL ; IWA1062
QTamf-6A.1	6A	SNP_76143	60 S ribosomal protein L13-1	wPt-7623 QPm (CP1); IWB64435 RDW, RT6; IWA1749 Lr
QTamf-6A.2	6A	SNP_76302	no hits found	IWA3024 ; tPt-4209 ; IWB50538 TRL
QTamf-7A	7A	SNP_75676	Unknown function	IWA477 Lr ; Barc121 Sr22; IWB43304 QFRi.mgb ; IWB35428 RGA ; Barc121 FHB ; wPt-8399 FHB ; IWA2752 RGA, IWB71703
QTamf-7B	7B	SNP_35797	no hits found	wPt-4025 FHB ; gwm274 QLr.gpg ; IWB11767 Qyrdurum

chromosomiques. (De Vita .P et al., 2018)

NA, sequence not available; Pm, Powdery mildew; TRN, Total Root Number; Sr, Stem rust; MIZec, Powdery mildew; Yr, Yellow rust; PRL, Principal Root Length; TRL, Total Root Length; RDW, Root Dry Weigh; RGA, Root angle; LRN, Lateral Root Number; Lr, Leaf Rust; RT6, Trait Root-Related; ARL, Axial Root Length; FR, Fusarium Resistance; FHB, Fusarium Head Bligth.

**ANNEXE 02 : caractéristiques de quelques ATG gènes putatifs chez le blé
(Wenjie Yuea *et al.*, 2018)**

TaATGs	Ensemble Plant Wheat Gene ID	Lenth	PI	MW	Gravty	Subcellular location
TaATG2a_6AS	TRIAE_CS42_6AS_TGACv1_485666_AA1549760.1.1	1948	5.41	213651.5	-0.218	PlasmaMembrane
TaATG2b_6DS	TRIAE_CS42_6DS_TGACv1_542924_AA1732610.1.1	1946	5.23	213761.5	-0.226	PlasmaMembrane
TaATG2c_7AS	TRIAE_CS42_7AS_TGACv1_570362_AA1834450.1.1	1976	5.19	217646.8	-0.296	Nuclear
TaATG2d_7BS	TRIAE_CS42_7BS_TGACv1_592376_AA1936940.1.1	1933	5.15	213063.3	-0.291	Nuclear
TaATG2e_6BS	TRIAE_CS42_6BS_TGACv1_514400_AA1659270.1.1	1327	5.16	145990.3	-0.166	PlasmaMembrane
TaATG3a_1AL	TRIAE_CS42_1AL_TGACv1_003131_AA0048070.1.1	314	4.5	35306.5	-0.463	Cytoplasmic
TaATG3b_1BL	TRIAE_CS42_1BL_TGACv1_031876_AA0122150.1.1	316	4.49	35541.75	-0.465	Cytoplasmic
TaATG3c_1DL	TRIAE_CS42_1DL_TGACv1_061831_AA0204080.1.1	316	4.48	35465.64	-0.457	Cytoplasmic
TaATG5a_6AS	TRIAE_CS42_6AS_TGACv1_488152_AA1574480.1.1	288	5.23	32491.88	-0.343	Cytoplasmic Chloroplast
TaATG5b_6AS	TRIAE_CS42_6AS_TGACv1_488152_AA1574490.1.1	370	5.04	40963.51	-0.309	Cytoplasmic
TaATG5c_6BS	TRIAE_CS42_6BS_TGACv1_515083_AA1667130.1.1	370	5	40875.45	-0.287	Cytoplasmic Chloroplast
TaATG5d_6BS	TRIAE_CS42_6BS_TGACv1_516442_AA1675270.1.1	364	5.09	41000.5	-0.368	Cytoplasmic Chloroplast
TaATG5e_U	TRIAE_CS42_U_TGACv1_642275_AA2114860.1.1	370	5.04	41076.59	-0.298	Cytoplasmic Chloroplast
TaATG6a_2AL	TRIAE_CS42_2AL_TGACv1_093394_AA0279180.1.1	795	4.94	87642.75	-0.935	Cytoskeletal Nuclear
TaATG6b_2BL	TRIAE_CS42_2BL_TGACv1_129539_AA0387640.1.1	198	4.87	22560.73	-0.705	Cytoplasmic Nuclear
TaATG6c_2BL	TRIAE_CS42_2BL_TGACv1_130062_AA0402640.1.1	500	6.12	56405.89	-0.487	Cytoplasmic Nuclear
TaATG6d_2DL	TRIAE_CS42_2DL_TGACv1_157943_AA0502850.1.1	237	4.78	26352.06	-0.489	Cytoplasmic
TaATG6e_3AL	TRIAE_CS42_3AL_TGACv1_195414_AA0649340.1.1	503	6.12	56654.16	-0.458	Cytoplasmic Mitochondrial Nuclear
TaATG6f_3AL	TRIAE_CS42_3AL_TGACv1_196564_AA0661460.2.1	729	4.88	72146.04	0.027	Nuclear
TaATG6g_3B	TRIAE_CS42_3B_TGACv1_220588_AA0709770.1.1	500	6.12	56405.89	-0.487	Cytoplasmic Nuclear
TaATG6h_3DL	TRIAE_CS42_3DL_TGACv1_251379_AA0880900.1.1	504	6.23	56760.27	-0.463	Cytoplasmic Mitochondrial Nuclear
TaATG6i_4AL	TRIAE_CS42_4AL_TGACv1_289711_AA0975800.1.1	216	9.08	24544.72	-0.226	Extracellular
TaATG6j_4AL	TRIAE_CS42_4AL_TGACv1_293333_AA1000650.1.1	481	6.15	54608.63	-0.304	Cytoplasmic Nuclear
TaATG6k_5BL	TRIAE_CS42_5BL_TGACv1_405003_AA1317620.1.1	226	9.19	25484.78	-0.252	Extracellular
TaATG6l_5DL	TRIAE_CS42_5DL_TGACv1_432931_AA1394910.1.1	252	9.50	26884.45	-0.537	Nuclear
TaATG6m_5DL	TRIAE_CS42_5DL_TGACv1_434515_AA1437360.1.1	217	8.87	24674.82	-0.248	Extracellular
TaATG8a_1DS	TRIAE_CS42_1DS_TGACv1_080648_AA0251580.1.1	175	4.99	19331.08	-0.037	Extracellular PlasmaMembrane Chloroplast
TaATG8b_2AL	TRIAE_CS42_2AL_TGACv1_093258_AA0276020.1.1	119	9.07	13603.79	-0.328	Cytoplasmic Mitochondrial
TaATG8c_2AS	TRIAE_CS42_2AS_TGACv1_114996_AA0370340.1.1	221	9.85	24908.72	-0.537	Nuclear
TaATG8d_2BS	TRIAE_CS42_2BS_TGACv1_146996_AA0476370.1.1	119	7.78	13568.59	-0.427	Cytoplasmic Mitochondrial Nuclear
TaATG8e_2DL	TRIAE_CS42_2DL_TGACv1_157983_AA0504720.1.1	119	9.07	13616.79	-0.351	Cytoplasmic Mitochondrial Nuclear
TaATG8f_2DS	TRIAE_CS42_2DS_TGACv1_177635_AA0581620.1.1	119	7.78	13568.59	-0.427	Cytoplasmic Mitochondrial Nuclear
TaATG8g_3AL	TRIAE_CS42_3AL_TGACv1_193567_AA0613260.1.1	328	5.05	37276.41	-0.749	Nuclear
TaATG8h_3B	TRIAE_CS42_3B_TGACv1_224045_AA0791500.1.1	323	5.05	36880.94	-0.753	Cytoplasmic Nuclear
TaATG8i_5AL	TRIAE_CS42_5AL_TGACv1_374995_AA1213590.1.1	116	9.45	13419.69	-0.274	Mitochondrial Nuclear

Annexe 03 : Liste des inhibiteurs et des activateurs les plus utilisés dans l'étude de l'autophagie chez les plantes (Richard S .Marshall et Ricradrd D Viersta , 2018)

Inhibitor name	Mechanism of action	Effective concentrations ^a	Comments
1-Naphthaleneacetic acid	TOR kinase activator	20 nM (<i>A. thaliana</i> seedlings)	May have pleiotropic effects related to nonautophagic roles of auxin/TOR signaling
3-Methyladenine	Phosphatidylinositol-3-kinase inhibitor	5 mM (<i>Nicotiana tabacum</i> suspension culture cells); 10 mM (<i>Arabidopsis thaliana</i> seedlings)	May have pleiotropic effects related to nonautophagic roles of the phosphatidylinositol-3-kinase complex
5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside monophosphate (AICAR)	SnRK1 activator	10 mM (<i>A. thaliana</i> seedlings and leaves; <i>Spinacia oleracea</i> and <i>Pisum sativum</i> leaves)	Off-target effects include activation of glutamine synthase, NADH-nitrate reductase, and sucrose-phosphate synthase
AZD8055	TOR kinase inhibitor	1–5 μM (<i>A. thaliana</i> seedlings); 10 μM (<i>Lotus japonicas</i> , <i>Nicotiana benthamiana</i> , <i>Oryza sativa</i> , and <i>Panicum miliaceum</i> seedlings)	Has over 1,000-fold specificity for TOR compared to other kinases
Concanamycin A	Vacuolar H ⁺ -ATPase inhibitor	100 nM (<i>N. tabacum</i> suspension culture cells); 1 μM (<i>A. thaliana</i> seedlings; <i>O. sativa</i> leaves; <i>Zea mays</i> roots)	Stabilizes autophagic bodies in the vacuole, aiding their detection; bafilomycin A can also be used
E64c/E64d	Cysteine protease inhibitors	10 μM (<i>N. tabacum</i> suspension culture cells); 100 μM (<i>A. thaliana</i> seedlings; <i>Hordeum vulgare</i> roots)	Stabilizes autophagic bodies in the vacuole, aiding their detection
LY294002	Phosphatidylinositol-3-kinase inhibitor	30 μM (<i>A. thaliana</i> seedlings); 100 μM (<i>N. tabacum</i> suspension culture cells; <i>Vicia faba</i> leaves)	Considered a more specific inhibitor than wortmannin; may have pleiotropic effects related to nonautophagic roles of the phosphatidylinositol-3-kinase complex
Rapamycin	TOR kinase inhibitor	500 nM (<i>Cblamydomonas reinhardtii</i>); 10 μM (<i>Arabidopsis</i> seedlings)	Initially thought to be inactive in plants, but recent data suggest this is not the case
Trehalose-6-phosphate	SnRK1 inhibitor	100 μM (<i>A. thaliana</i> seedlings)	May have pleiotropic effects related to nonautophagic roles of SnRK1
Torin1/Torin2	TOR kinase inhibitors	250–1,000 nM (<i>A. thaliana</i> seedlings); 10 μM (<i>L. japonicas</i> , <i>N. benthamiana</i> , <i>O. sativa</i> , and <i>P. miliaceum</i> seedlings)	Considered less specific inhibitors than AZD8055 but still have over 300-fold specificity for TOR compared to other kinases

Inhibitor name	Mechanism of action	Effective concentrations ^a	Comments
Wortmannin	Phosphatidylinositol-3-kinase inhibitor	1–5 μM (<i>A. thaliana</i> seedlings; <i>O. sativa</i> leaves); 10 μM (<i>N. tabacum</i> suspension culture cells)	Can also inhibit phosphatidylinositol-4-kinases at higher concentrations; may have pleiotropic effects related to nonautophagic roles of the phosphatidylinositol-3-kinase complex

Annexe 04 : conservation of mitophagy compenet in plant with yeast and animals (Maryta Broda et al ., 2018)

Yeast	Animals	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Comment
ATG1	ULK1/ATG1	AtATG1a-d	Core ATG protein
ATG5	ATG5	AtATG5 (At5g17290)	Core ATG protein
ATG7	ATG7	AtATG7 (At5g45900)	Core ATG protein
ATG8	ATG8/LC3	Nine proteins AtATG8a-l	Core ATG protein
ATG11	ATG11	AtATG11 (At4g30790)	AtATG11 contains traces of ATG11 and ATG17 domains
ATG13	ATG13	ATG13a-b	Core ATG protein
ATG14	ATG14	-	ATG protein
ATG29	-	-	ATG protein required for mitophagy
ATG32	-	-	Receptor for mitophagy
ATG33	-	-	Required for mitophagy
MMM1	-	-	ERMES complex
MDM10	-	-	ERMES complex
MDM12	-	-	ERMES complex
MDM34	-	-	ERMES complex
UBQ/HEL1	Parkin	UBQ/ARIADNE	E3 ubiquitin ligase
?	PINK1	?	conservation in MAPKKK protein, only ~100 amino acids of 581
-	FUNDC1	-	Very low similarity to AtWHY3 ssDNA-binding protein (E-value 1.3)
PCP1	PARL	AtRBL10/12	Rhomboid-like proteases (AtRBL12 is mitochondrial, AtRBL10 is plastidic)
-	BNIP3/DCT1	-	Receptor for mitophagy; involved in cell death and mitochondrial biogenesis
Nma111 (nuclear)	Omi/HTRA2/PARK13	AtPARK13 (At5g27660)	Mitochondrial serine protease

Présenté par : BOURAGHDA manel

Année universitaire : 2019/2020

IDENTIFICATION DES GÈNES ASSOCIÉS À LA SÉNESCENCE FOLIAIRE CHEZ LE BLÉ

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Génomique Végétale

Résumé :

Contrairement aux animaux, le vieillissement, aussi appelé sénescence, a une fonction biologique chez les plantes. Cette fonction de la sénescence foliaire est de permettre le recyclage des nutriments et leur export des feuilles en sénescence dont la plante va bientôt se séparer, vers les organes en formation et demandeurs en énergie et nutriments. Ce recyclage nutritionnel au niveau de la plante entière est appelé remobilisation et les études menées jusqu'à présent sur le sujet concernent essentiellement la remobilisation de l'azote, qui avec le carbone est l'une des sources d'autotrophie chez les plantes. Le processus de remobilisation de l'azote est un mécanisme d'économie nutritionnelle qui est essentiel à l'adaptation des plantes à leur environnement. Dans ce modeste mémoire, nous donnons un aperçu complet des facteurs internes et externes et des mécanismes qui contrôlent la sénescence foliaire ainsi on démontre le réseau moléculaire de la sénescence foliaire en présentant quelques gènes associés à la sénescence qui sont impliqués dans la régulation de ce processus. En plus, on présente quelques études qui suggèrent une analyse des hormones et de gènes candidats qui sont potentiellement impliqués dans la régulation de la sénescence foliaire chez le blé sous condition de stress abiotique. On évoque également l'intérêt de retardement de la sénescence sur le rendement, en fournissant quelques gènes et facteurs de transcription chez le blé qui liés à ce caractère. Ainsi, on propose des méthodes pour le retardement de la sénescence foliaire. Et en fin, on présente une petite synthèse sur le processus de l'autophagie chez les plantes. Toute en expliquant son mécanisme, complexe de régulation, et son rôle d'adaptation chez les plantes face aux contraintes environnementales.

Mots clés : la sénescence foliaire, gènes associées à la sénescence, retardement de la sénescence, autophagie, blé

Laboratoire de recherche : Génétique, biochimie et biotechnologie végétale (GBBV)

Jury d'évaluation :

Présidente : Pr : *YKHLEF NADIA* (Professeur - UFM Constantine)

Encadrant : *M^{me} BOUSBAA RATIBA* (MCA - UFM Constantine)

Examinatrice : *M^{elle} MOUELLEF ADRA* (MCB - UFM Constantine)

Date de soutenance : 09 /07/2020