



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique Et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



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

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Appliquée

قسم : البيولوجيا التطبيقية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques / Biotechnologies / Écologie et Environnement

Spécialité : Bio-informatique

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Etude bioinformatique des gènes liés à l'interaction symbiotique**  
**« *Medicago truncatula – Sinorhizobium meliloti* »**

---

Présenté par : LAIB CHOUMAISSA  
BILFANE HADDA

Le : 10/06/2024

Jury d'évaluation :

**Président :** BOUHALOUF Habiba (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrant :** TEMAGHOULT Mahmoud (MAA – U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Examineur :** KELLO Kamel (MAA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire**  
**2023 – 2024**

## ***Dédicaces :***

*Par-dessus tout, je remercie Dieu pour notre arrivée en ce jour honorable et pour*

*Nous avoir donné la possibilité de présenter ce travail.*

*Après cela, je dédie ce travail à ma chère mère et mon cher père, mon frère et mes sœurs,  
mes amis, Bouthaina, Amani, Kamar, Salma, Habiba.*

*À tous les professeurs qui m'ont enseigné de l'école primaire jusqu'à l'université.*

**- Bilfane Hadda**

## **Dédicaces :**

*Tout d'abord, grâce à l'aide d'ALLAH Tout-Puissant, qui m'a accordé la force, la sagesse et l'opportunité d'entreprendre et de terminer ce parcours académique. Ta grâce et ta bénédiction m'ont guidé tout au long de ce voyage.*

*Aux mes parents bien-aimés, [Aïssa et Fatima], qui m'ont donné la vie et m'ont soutenu inconditionnellement tout au long de mon parcours éducatif. Votre amour, votre encouragement et vos sacrifices m'ont permis d'atteindre mes objectifs. Ce succès est autant le vôtre que le mien.*

*À mes frères adorés, [Issam, Akrem, Wassim], qui ont été une source constante de soutien et d'inspiration. Votre amour et votre amitié m'ont aidé à persévérer pendant les moments difficiles.*

*À ma famille élargie, [Laïb], qui m'ont entouré d'amour et de soins. Vos encouragements et votre foi en moi m'ont donné la confiance nécessaire pour relever les défis.*

*À mes amis chers, surtout [Imene] qui ont été à mes côtés pendant cette aventure. Vos rires, vos mots d'encouragement et vos moments partagés ont rendu ce voyage mémorable et agréable.*

*Ensuite, mentors et collègues qui ont contribué à ma formation académique et à mon développement personnel. Votre guidance et votre enseignement ont joué un rôle crucial dans mon parcours.*

**- Laïb Choumaïssa**

## **Remerciement :**

*Avant tout, nous remercions **ALLAH***

*Nous tenons à remercier sincèrement notre encadreur **Mr.Temagoult Mahmoud** qui nous a encadré pour faire ce travail et nous a guider dans les moindres détails, petits et grands et sans oublier*

***Mr.Alouane Salah Eddine** qui nous a aidé.*

*Nous tenons à remercier aussi les membres de jury **Dr.kellou Kamel** et*

***Dr. Bouhalouf Habiba** pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail de fin d'étude de master 2.*

*Au final, nous remercions tous ceux qui nous ont aidé dans ce travail, notamment nos professeurs de bio-informatique.*

## *Liste des abréviations :*

<b>ADN:</b>	Acide désoxyribo nucléique.
<b>ARNm :</b>	Acide ribo nucléique messenger.
<b>BURB :</b>	Bursicon-induced receptor-like kinase.
<b>Cm :</b>	Centimètre.
<b>CNRS :</b>	Centre National de la Recherche Scientifique.
<b>CRISPR:</b>	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats.
<b>CSV:</b>	Comma-Separated Values.
<b>CVI:</b>	Cisco video integration.
<b>INRAE:</b>	L'institut international de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement.
<b>Legoo:</b>	Bioinformatics gateway towards integrative legume biology.
<b>M:</b>	<i>Medicago.</i>
<b>MIP:</b>	Major intrinsic protein.
<b>MtGEA :</b>	<i>Medicago truncatula</i> gene expression atlas.
<b>MTLB7:</b>	<i>Medicago truncatula</i> lectine-like protein7.
<b>N2 :</b>	L'azote atmosphérique.
<b>NH3:</b>	Ammoniac.
<b>NCR :</b>	Nodule cysteine rich.
<b>TSV :</b>	Tab separated values.
<b>USDA:</b>	United states department of agriculture.

## *Liste des figures :*

<b>Figure 1</b>	Aspects morphologiques de plusieurs organes de <i>Medicago truncatula</i>	<b>3</b>
<b>Figure 2</b>	Distribution géographique du genre <i>Medicago</i> dans le monde	<b>4</b>
<b>Figure 3</b>	Differentes étapes de l'établissement de la symbiose rhizobia legumineuse	<b>10</b>
<b>Figure 4</b>	Interface du moteur de recherche LeGoo	<b>15</b>
<b>Figure 5</b>	Interface du moteur de recherche MtGEA	<b>17</b>
<b>Figure 6</b>	Interface du moteur de recherche Probsset ID	<b>17</b>
<b>Figure 7</b>	Le profil d'expression du gène MTLB7 sur <i>MtGEA</i>	<b>18</b>
<b>Figure8</b>	Code python de calcule les distances entre l'expression des <i>probsets</i> « partie 1 »	<b>20</b>
<b>Figure9</b>	Code python de calcule les distances entre l'expression des <i>probsets</i> « partie 2 »	<b>20</b>
<b>Figure10</b>	Code python de calcule les distances entre l'expression des <i>probsets</i> « partie 3 »	<b>21</b>
<b>Figure11</b>	Code python de calcule les distances entre l'expression des <i>probsets</i> « partie 4 »	<b>21</b>
<b>Figure12</b>	Carte thermique des distances euclidiennes entre Mtr.40140.1. S1_at et les 20 <i>Probsets</i> les plus proches.	<b>22</b>

## *Liste des tableaux :*

<b>Tableau 1</b>	Représentation des identifiants du gène MTLB7	<b>15</b>
<b>Tableau 2</b>	Représentation d'identifiant probset ID du gène MTLB7 de <i>Medicago truncatula</i>	<b>16</b>
<b>Tableau 3</b>	Les données relatives à l'interaction plante-microbe	<b>18</b>
<b>Tableau 4</b>	Condition sélectionnée pour l'interaction symbiotique <i>Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti</i> .	<b>19</b>
<b>Tableau 5</b>	Les données des gènes relatives à l'interaction symbiotique <i>Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti</i> .	<b>19</b>
<b>Tableau 6</b>	Distance euclidienne entre <i>Mtr.401440.1. S1_at</i> et les 20 <i>probsets</i> les plus proches avec leurs Annotations.	<b>22,23,24</b>

## **Résumé :**

### **Etude bioinformatique des gènes liés à l'interaction symbiotique « *Medicago truncatula* – *Sinorhizobium meliloti* »**

Cette étude a pour objectif d'identifier les gènes impliqués dans l'interaction plante-microbien du modèle biologique *Medicago truncatula-sinorhizobium meliloti* en utilisant *en silico* analyse des problèmes de transcription des sondes Affymetrix et un gène de référence MTLB7. Les données ont été analysées en utilisant Python, MTGEA et un graphique thermique. Les résultats ont montré différentes familles de gènes, y compris les familles tardives de nodulines, les peptides riches en cystéine et les protéines liées à l'ubiquitine.

Mots clés : *Medicago truncatula*, *Sinorhizobium meliloti*, *Mtlb7*, interaction plante-microbe



## **Abstract:**

### **Bioinformatics study of genes related to the symbiotic interaction "*Medicago truncatula* – *Sinorhizobium meliloti*"**

This study aims to identify genes involved in the plant-microbe interaction of the *Medicago truncatula*-*sinorhizobium meliloti* biological model using *in silico* analyse of transcription issues from Affymetrix probes and a reference *MTLB7* gene. The data was analyzed using Python, MTGEA, and a thermal chart. Results showed different gene families, including tardive noduline families, cysteine-rich peptides, and ubiquitin-related proteins.

Key words: *Medicago truncatula*, *Sinorhizobium meliloti*, *MTLB7*, Plant- microb interactions

## ملخص:

دراسة المعلوماتية الحيوية للجينات المرتبطة بالتفاعل التكافلي

"*Medicago truncatula – Sinorhizobium meliloti*"

*truncatula-* تهدف هذه الدراسة إلى تحديد الجينات التي تشارك في التفاعل النباتي-الفيروسية في نموذج البيولوجي الجين الرئيسي. MTLB7 و Affymetrix باستخدام في تحليل السيليكون مشكلات التتبع *sinorhizobium meliloti* ، والرقم الحراري. أظهرت النتائج الأسرة المختلفة من الجينات ، بما MTGEA ، Python تم تحليل البيانات باستخدام في ذلك الأسرة المتأخرة من النيولين ، والبيكيتيدات الغنية بالسيتين و البروتينات المرتبطة بالبيكيتين..

التفاعل بين النبات والميكروبات, *Mtlb7*, *Medicago truncatula*, *sinorhizobium meliloti* الكلمات المفتاحية

# Sommaire

	Page
Introduction.....	1
<b>Chapitre I : Revue bibliographique</b>	
<b>I</b> Présentation du modèle biologique <i>Medicago truncatula</i> .....	2
<b>I.1</b> Physiologie et morphologie.....	2
<b>I.1.1</b> Classification.....	2
<b>I.1.2</b> Taxonomie.....	3
<b>I.1.3</b> Origine et distribution.....	3
<b>I.1.4</b> Cycle de vie de <i>Medicago truncatula</i> .....	4
<b>I.1.4.1</b> La germination et la croissance précoce des graines.....	4
<b>I.1.4.2</b> Croissance végétative et développement .....	4
<b>I.1.4.3</b> Phase reproductive .....	5
<b>I.1.4.4</b> Maturation et dissémination des graines .....	5
<b>I.1.4.5</b> Durée du cycle de vie .....	5
<b>I.1.5</b> Intérêts scientifiques de la plante modèle <i>Medicago truncatula</i> .....	5
<b>I.1.5.1</b> Étude des interactions plante-microbe .....	5
<b>I.1.5.2</b> Génomique et génétique .....	6
<b>I.1.5.3</b> Biologie des légumineuses .....	6
<b>I.1.5.4</b> Agriculture durable .....	6
<b>I.1.5.5</b> Production de biopharmaceutiques .....	6
<b>I.2</b> Interaction plante-microbe.....	6
<b>I.2.1</b> Définitions .....	6

<b>I.2.2</b>	Importance des interactions plante microbe .....	7
<b>I.2.3</b>	Étude des interactions plante-microbe.....	7
<b>I.2.3.1</b>	Génomique et génétique.....	8
<b>I.2.3.2</b>	Biologie des légumineuses.....	8
<b>I.2.3.3</b>	Production de biopharmaceutiques.....	8
<b>I.2.3.4</b>	Amélioration des cultures.....	8
<b>1.3</b>	Symbiose fixatrice d'azote chez les légumineuses .....	9
<b>1.3.1</b>	Définition .....	9
<b>1.3.2</b>	Bénéfice écologique de la fixation d'azote.....	9
<b>1.3.3</b>	Établissement des symbioses fixatrice d'azote .....	9
<b>1.3.3.1</b>	Pré-infection.....	10
<b>1.3.3.2</b>	Infection.....	10
<b>1.3.3.3</b>	Formation et développement des structures symbiotiques .....	10
<b>1.4</b>	Le gène MTLB7 .....	11
<b>1.4.1</b>	Fonction du gène mtlb7.....	11
<b>1.4.1.1</b>	Signalisation et communication intercellulaire.....	11
<b>1.4.1.2</b>	Défense contre les pathogènes.....	11
<b>1.4.1.3</b>	Développement de la racine.....	11
<b>1.4.1.4</b>	Symbiose avec les bactéries fixatrices d'azote .....	11
<b>1.4.2</b>	Le rôle du gène mtlb7.....	11
<b>1.4.3</b>	Intérêts du gène mtlb7.....	12
<b>1.4.4</b>	<i>Sinorhizobium meliloti</i> .....	12
<b>1.5</b>	La symbiose fixatrice d'azote <i>M.truncatula/ S.meliloti</i> .....	12

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

<b>II</b>	Matériels et méthodes.....	14
<b>II.1</b>	Matériels.....	14
<b>II.2</b>	Méthodes.....	14
<b>II.2.1</b>	Recherche du <i>Probset ID</i> correspondant au gène <i>MTLB7</i> .....	14
<b>II.2.2</b>	Collecte des données d'expression du gène <i>MTLB7</i> en conditions de l'interaction symbiotique <i>Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti</i>	16
<b>II.2.3</b>	Collecte des données d'expression de gènes relatives à l'interaction symbiotique <i>Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti</i> .....	18
<b>II.2.4</b>	Etude statistique par Python.....	19
<b>II.2.4.1</b>	Les étapes du code.....	20
<b>II.2.4.2</b>	Commandes et Formules utilisées.....	21

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

<b>III</b>	Résultats et discussion.....	22
<b>III.1</b>	Résultats.....	22
<b>III.2</b>	Discussion.....	24
<b>III.2.1</b>	Famille des Peptides Riches en Cystéine Spécifiques aux Nodules (NCR).....	24
<b>III.2.2</b>	Famille des Nodulines Tardives.....	25
<b>III.2.3</b>	Famille des Protéines à Domaine Papain Cystéine Protéase .....	25
<b>III.2.4</b>	Famille des Protéines à Domaine BURP et Aspartic Protéinase .....	25
<b>III.2.5</b>	Protéines Ubiquitin et Liées au Métabolisme .....	25
	Conclusion et Perspectives.....	27
	Références bibliographiques.....	28,29,30
		31,32,33
		34

# **Introduction**

## Introduction

Les plantes établissent des interactions complexes avec les micro-organismes dans leur écosystème, échangeant des signaux qui influencent leur croissance, leur développement et leur résistance aux stress. Ces interactions peuvent être bénéfiques, comme dans le cas de la symbiose entre les légumineuses et les bactéries rhizobiennes, ou néfastes, comme dans le cas des pathogènes.

L'un des exemples les plus étudiés de ces interactions est la symbiose entre les légumineuses et les bactéries rhizobiennes, telles que *Sinorhizobium meliloti*. Cette symbiose se traduit par la formation de nodules sur les racines des plantes, où les bactéries vivent en symbiose avec les cellules végétales et transforment l'azote atmosphérique en ressources azotées pour la plante. Cette association permet aux légumineuses de fixer l'azote de l'air et de réduire ainsi leur dépendance aux engrais azotés.

Cependant, Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif d'étudier l'interaction entre la plante modèle *Medicago truncatula* et la bactérie symbiotique *Sinorhizobium meliloti*, en recherchant les gènes impliqués dans cette interaction. Cette étude sera menée par une analyse in silico de données de transcription issues de puces Affymetrix.

Ainsi, ce mémoire est structuré en trois grands chapitres :

- Un premier chapitre qui représente une synthèse bibliographique sur la thématique du projet.
- Un deuxième chapitre pour la description du matériel et des différentes méthodes utilisées.
- Le troisième chapitre sera consacré au traitement des résultats obtenus et à leur discussion.
- Enfin, une conclusion avec le dégagement de quelques perspectives.

Le but de ce travail est de contribuer à la compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents à l'interaction plante-microbe, et de développer de nouvelles stratégies pour améliorer la croissance et la productivité des plantes en interaction avec des micro-organismes bénéfiques.

# **Chapitre I : Revue Bibliographique**



## I. Présentation du modèle biologique *Medicago truncatula*

Cette espèce annuelle de légumineuses de la région méditerranéenne, *M. truncatula*, a été sélectionnée comme plante modèle pour des études, en particulier dans le domaine des interactions entre les légumineuses et les microbes et de la nodulation.

*M. truncatula* est une légumineuse à croissance rapide, diploïde, étroitement liée à de grandes cultures de légumineuses. Cette plante a été choisie pour servir de modèle génomique fonctionnel et d'analyse de la nodulation. Selon **Young et al. (2011)**

### I.1. Physiologie et morphologie :

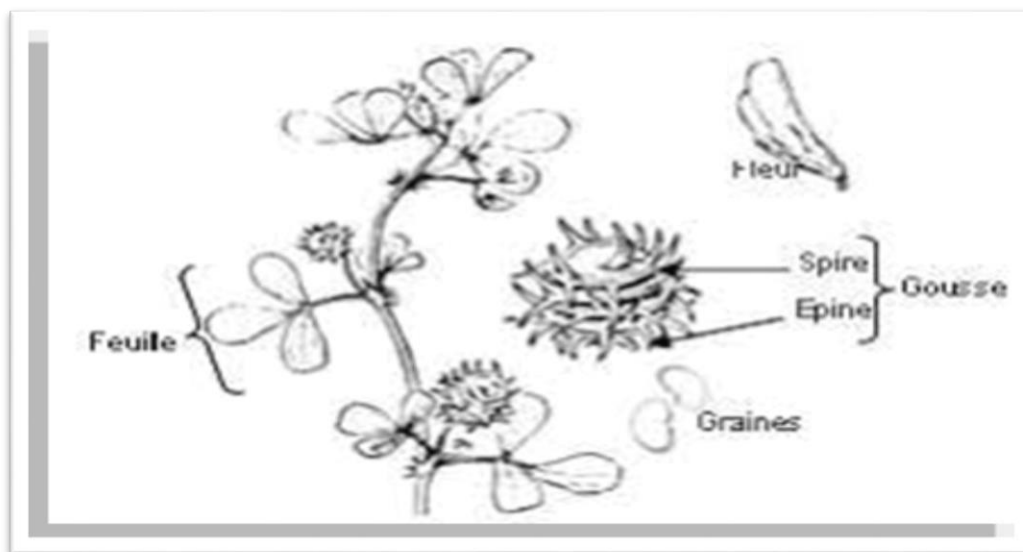
La luzerne tronquée ou luzerne à trois feuilles, également connue sous le nom de *Medicago truncatula*, est une espèce de légumineuses annuelles de la famille des *Fabaceae*. Elle est profondément racinaire, avec une racine principale pivotante et de nombreuses racines latérales fibreuses. Feuilles à 3 folioles, ovales à elliptiques. Les fleurs sont généralement jaunes et groupées en grappes. Le fruit est une gousse porteuse de plusieurs graines. *M. truncatula* est une plante indispensable pour l'amélioration des cultures et la recherche en biologie des plantes, car elle est en symbiose avec des bactéries fixatrices d'azote. *M. truncatula* est une légumineuse annuelle à système racinaire profond et à feuilles trifoliées. Ses fleurs sont jaunes et ses gousses sont en forme de spirale. (USDA, NRCS)

#### I.1.1 Classification :

Le genre *\*Medicago\** comprend environ 85 espèces de légumineuses, dont *M. truncatula*. *Medicago* est un genre de plantes à fleurs de la famille des *Fabaceae*, l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs, qui comprend de nombreuses espèces indispensables à l'agriculture et à l'alimentation humaine. *Medicago truncatula* est un genre de légumineuses (environ 85 espèces) du genre *Medicago*. (**Bena, 2001**)

### I.1.2 Taxonomie :

- Règne : *Plantae*
- Division : *Magnoliophyta*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Ordre : *Fabales*
- Famille : *Fabaceae*
- Sous-Famille : *Papilionoideae*
- Genre: *Medicago*
- Espèce: *Medicago truncatula*

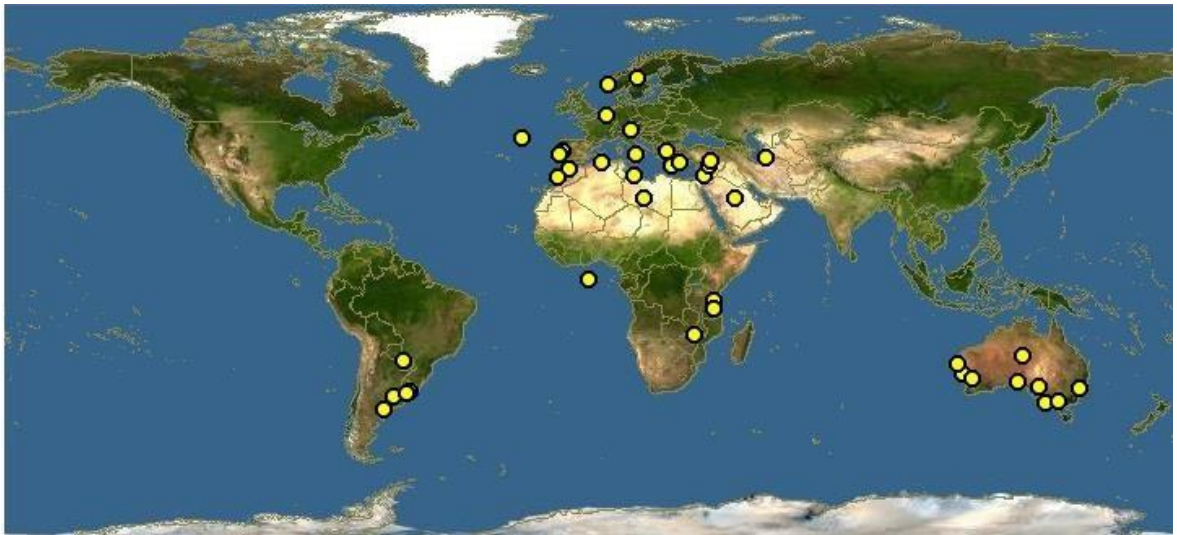


**Figure 01** : aspects morphologiques de plusieurs organes de *medicago truncatula*

### I.1.3 Origine et distribution :

Les distributions des luzernes annuelles sont parfois très restreintes. Un certain nombre d'espèces sont endémiques, tandis que d'autres sont colons. On a effectué une analyse plus détaillée de la répartition des espèces en utilisant les prospections de matériel spontané menées depuis de nombreuses années dans tout le bassin méditerranéen. (**Prosperi et al.,1993**)

*Medicago* est principalement originaire du bassin méditerranéen (Europe méridionale, Afrique du Nord, Proche-Orient), mais certaines espèces ont été introduites en Amérique du Nord, en Australie et en Europe du Nord. (**Lapeyronie 1982**).



**Figure 02** : Distribution géographique du genre *Medicago* dans le monde (Pickering et Smith, 2006)

#### **I.1.4 Cycle de vie de *Medicago truncatula* :**

La plante *M. truncatula* est annuelle, c'est-à-dire qu'elle termine son cycle de vie en une seule saison de croissance. Voici une vue d'ensemble de son parcours :

##### **I.1.4.1 La germination et la croissance précoce des graines :**

En règle générale, les graines de *M. truncatula* se développent en 3 à 7 jours dans des conditions favorables. Les graines sont enveloppées de manière solide, et la scarification ou d'autres traitements avant le semis peuvent augmenter les précipitations. Lors de la germination, la racine apparaît d'abord, puis une racine pivotante, puis l'hypocotyle et les cotylédons apparaissent. Selon **Harrison et al. (2006)**, les cotylédons sont des organismes photosynthétiques qui offrent une source d'énergie précoce à la plante (**Harrison et al., 2006**).

##### **I.1.4.2 Croissance végétative et développement :**

La croissance végétative et le développement : Après le stade plantulaire, *M. truncatula* commence à développer une rosette basale de feuilles composées. Feuilles trifoliées, avec des folioles ovales à elliptiques en général. La plante se développe toujours, formant une tige dressée et ramifiée pouvant atteindre 60 cm de haut. (**Harrison et al., 2006 ; Benaben et al., 1995**).

**I.1.4.3 Phase reproductive :**

*M. truncatula* est auto-fertile, mais elle peut également être pollinisée par des insectes pendant la phase reproductive, la phase reproductive débute avec la formation de racèmes ou de grappes de petites fleurs jaunes (Harrison et al., 2006). En général, les insectes pollinisent ces fleurs, mais l'auto-pollinisation est fréquente. Une fois fécondées, les fleurs se forment en gousses enroulées, avec plusieurs petites graines dans chacune d'elles (Benaben et al.,1995).

**I.1.4.4 Maturation et dissémination des graines :**

À mesure que les gousses se développent, elles sont brunes et sèches. En général, les gousses s'ouvrent en forme de spirale, libérant ainsi les graines. Selon Cook (1999), les graines peuvent ensuite se propager naturellement par différents moyens, comme le vent ou la dispersion animale, ou être collectées pour la propagation ou la recherche.

**I.1.4.5 Durée du cycle de vie :**

Le cycle de vie de *M. truncatula* est assez court, se terminant habituellement en 3 à 4 mois dans des conditions optimales. Toutefois, la durée peut fluctuer en fonction de variables environnementales, de la disponibilité des nutriments et de facteurs génétiques (Barker et al.,2006).

**I.1.5 Intérêts scientifiques de la plante modèle *Medicago truncatula* :**

*M.truncatula* présente de nombreux intérêts scientifiques et économiques. En tant que plante modèle, *M. truncatula* offre de nombreux avantages pour la recherche scientifique, pour l'étude des interactions plante-microbe et de la nodulation chez les légumineuses. Voici quelques intérêts scientifiques importants :

**I.1.5.1 Étude des interactions plante-microbe :**

*M. truncatula* est couramment employé pour étudier les interactions symbiotiques entre les légumineuses et les bactéries fixatrices d'azote, comme les rhizobia. Il est possible de comprendre ces interactions afin d'améliorer la fixation biologique de l'azote, ce qui diminue la dépendance aux engrais azotés synthétiques dans l'agriculture. (Young et al., 2011)

### **I.1.5.2 Génomique et génétique :**

Le séquençage et l'annotation du génome de *M. truncatula* sont une ressource précieuse pour la recherche génétique et génomique. Il est parfait pour l'étude de la fonction des gènes et des traits agronomiques importants en raison de sa petite taille de génome et de son cycle de vie court. (Tang et al., 2020)

### **I.1.5.3 Biologie des légumineuses :**

En tant que légumineuse modèle, elle aide à comprendre la biologie des légumineuses en général, notamment la régulation des gènes, le développement des racines et la résistance au stress. (Cook, 1999)

En plus de ces intérêts scientifiques, *M.truncatula* présente également des avantages économiques potentiels :

### **I.1.5.4 Agriculture durable :**

La recherche sur *M. truncatula* peut être utilisée pour améliorer les cultures de légumineuses importantes, comme le trèfle, la luzerne et le soja, dans le cadre de l'agriculture durable. La compréhension approfondie de la fixation de l'azote et des interactions entre les plantes et les microbes peut entraîner des cultures plus productives et plus résistantes, ce qui permet de diminuer les dépenses de production et l'impact environnemental de l'agriculture. (Frugier et al., 2010)

### **I.1.5.5 Production de biopharmaceutiques :**

Dans les racines des plantes, *M. truncatula* a été suggéré comme une plateforme potentielle pour la fabrication de protéines biopharmaceutiques. Il est possible que cette méthode propose une méthode rentable et évolutive pour la fabrication de vaccins, d'anticorps et d'autres protéines thérapeutiques. (Frugier et al., 2010)

## **I.2 Interaction plante microbe :**

### **I.2.1 Définition :**

Les interactions entre les plantes et les micro-organismes désignent les liens complexes et réciproques entre les plantes et les micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les virus. Ces interactions peuvent se dérouler à l'intérieur ou à l'extérieur de la sphère et peuvent varier d'associations à court terme simples à des synergies à long terme complexes. Les interactions entre les micro-organismes et les plantes ont des conséquences écologiques significatives, impactant la taille, l'activité et la variété des communautés microbiennes, ainsi

que la santé et l'écologie de leurs partenaires agricoles. Ils jouent aussi un rôle pratique dans l'agronomie et la phytopathologie. (**Mantelin et al., 2006 ; Alabouvette et al., 2006 ; Raaijmakers et al., 2009**)

On peut distinguer différents types d'interactions entre les plantes et les microorganismes, tels que l'amensalisme, l'antagonisme, le commensalisme, la compétition, le mutualisme et la neutralité. Les interactions les plus fréquentes chez les plantes sont le commensalisme et le mutualisme, l'une ou les deux espèces qui en profitent, respectivement. La symbiose mycorhizienne et l'association des plantes légumineuses avec les bactéries fixatrices d'azote, comme *Rhizobium*, sont des exemples d'interactions mutualistes. (**Campbell, 1995**)

Il est essentiel de saisir les interactions entre les plantes et les microorganismes afin de comprendre les mécanismes qui sous-tendent ces relations complexes. La base moléculaire de ces interactions a été explorée à l'aide des méthodes d'édition de gènes et de biologie des systèmes, et la bio-informatique a permis de prédire et d'analyser les associations plantes-microorganismes. (**Kato et al., 2005 ; Harcombe, 2010 ; Zeidan et al., 2010 ; Freilich et al., 2011 ; Buffie et al., 2014 ; Lima-Mendez et al., 2015**)

## **I.2.2 Importance des interactions plante microbe :**

Le principal intérêt de *M.truncatula* réside dans son rôle de modèle de recherche scientifique, notamment dans l'étude des relations entre les plantes et les microbes et de la nodulation chez les légumineuses. Voici quelques aspects essentiels de son importance :

### **I.2.3 Étude des interactions plante-microbe :**

L'étude des interactions symbiotiques entre les légumineuses et les bactéries fixatrices d'azote (rhizobia) repose sur *M. truncatula*. Ces interactions entraînent la création de nodules racinaires, où l'azote est fixé biologiquement. L'étude de *M. truncatula* permet de mieux comprendre ce processus, qui pourrait éventuellement diminuer la dépendance aux engrais azotés synthétiques dans le domaine agricole. (**Young et al., 2011**)

#### **I.2.3.1 Génomique et génétique :**

L'étude du séquençage et de l'assemblage du génome de *M. truncatula* a été une source précieuse de travail génétique et génomique. Grâce à sa petite taille de génome et à son cycle

de vie court, il est parfait pour étudier la fonction des gènes et les caractéristiques agronomiques principales chez les légumineuses. (Tang et al., 2020)

### **I.2.3.2 Biologie des légumineuses :**

En tant qu'exemple de légumineuse, *M. truncatula* contribue à approfondir notre compréhension de la biologie des légumineuses en général, incluant la régulation des gènes, le développement des racines et la réaction aux stress environnementaux. On peut mettre en pratique les connaissances acquises pour améliorer les cultures de légumineuses essentielles pour l'agriculture. (Cook, 1999)

### **I.2.3.3 Production de biopharmaceutiques :**

Dans les racines des plantes, *M. truncatula* a été suggéré comme une plateforme potentielle pour la fabrication de protéines biopharmaceutiques. Cette méthode, appelée "agriculture moléculaire", pourrait proposer une méthode rentable et évolutive pour la fabrication de vaccins, d'anticorps et d'autres protéines thérapeutiques. (Frugier et al., 2010)

### **I.2.3.4 Amélioration des cultures :**

La recherche sur *M. truncatula* permet d'utiliser les connaissances acquises pour améliorer les cultures de légumineuses en choisissant des caractéristiques souhaitées comme la résistance à la sécheresse, la résistance aux maladies et une meilleure qualité nutritionnelle.

## **I.3 Symbiose fixatrice d'azote chez les légumineuses :**

### **I.3.1 Définition :**

La symbiose est une relation étroite entre deux organismes ou plus, dans laquelle chacun bénéficie de la présence de l'autre. Contrairement aux interactions pathogènes, certaines bactéries, telles que les rhizobia, établissent une symbiose avec les légumineuses, des plantes de la famille des Fabacées. Cette interaction donne naissance à un nouvel organe, appelé nodosité, où les bactéries rhizobiennes prennent une forme intracellulaire, appelée bactéroïdes, et convertissent l'azote atmosphérique (N<sub>2</sub>) en une forme d'azote assimilable par la plante (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) grâce à une enzyme bactérienne, la nitrogénase. En retour, la plante fournit à son partenaire une niche écologique favorable.

### **I.3.2 Bénéfice écologique de la fixation d'azote :**

La révolution verte des années 1950, marquée par l'usage massif et incontrôlé de produits chimiques tels que les engrais minéraux par les agriculteurs, a certes entraîné une augmentation des rendements, mais elle a également engendré des effets néfastes sur la qualité de l'environnement. Ces pratiques sont contribués, entre autres, à l'eutrophisation et à l'acidification des sols, ce qui a conduit à une perturbation des communautés microbiennes et à une diminution de la biodiversité. Une alternative à l'utilisation des engrais minéraux est l'emploi de plantes capables d'enrichir les sols en molécules fertilisantes. Les légumineuses, en tant qu'engrais vert azoté, offrent une solution permettant de réduire considérablement le recours à ces types d'engrais et de contribuer ainsi à la préservation de l'environnement.

### **I.3.3 Établissement des symbioses fixatrice d'azote :**

En se basant sur des analyses cytogénétique, on distingue principalement trois étapes dans la formation des nodules racinaires :

-la pré-infection.

-l'infection.

-l'organogenèse (Roy et al.,2020).

#### **I.3.3.1 Pré-infection**

La reconnaissance entre les partenaires est la première étape vers la mise en place de la symbiose. En présence de flavonoïdes dans la symbiose rhizobium/légumineuse, ils stimulent l'expression des gènes NOD bactériens.

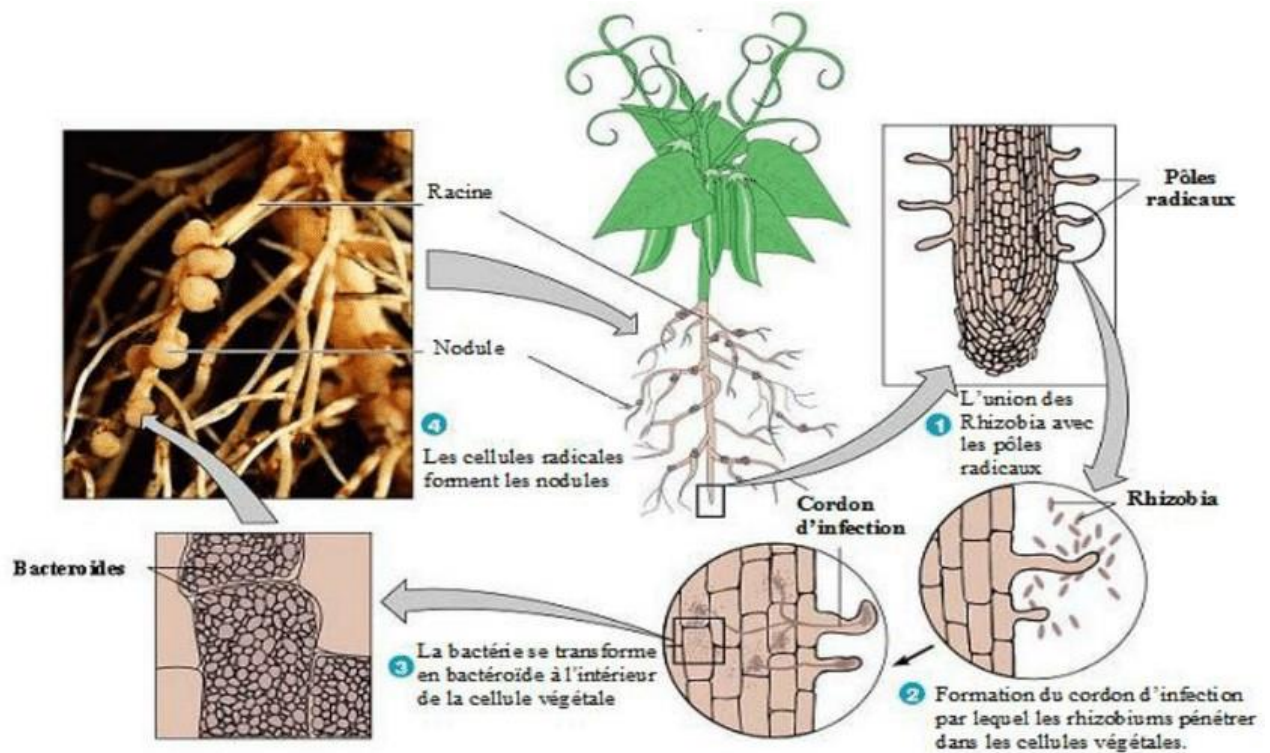
#### **I.3.3.2 Infection :**

L'infection commence par la pénétration des bactéries dans les poils racinaires déformés. Ce stade est suivi par l'initiation et l'élongation des cordons d'infection, lesquels sont des structures tubulaires dérivées de la plante (Gourion et al.,2014).

#### **I.3.3.3 Formation et développement des structures symbiotiques :**

Les symbioses entre les actinorhiziens et les légumineuses se distinguent notamment en ce qui concerne l'organogenèse nodulaire. Chez les légumineuses, les divisions cellulaires se produisent dans le cortex racinaire et dans le péricycle chez les plantes actinorhiziennes (Svistoonoff et al., 2014 ; Xiao et al., 2014)





**Figure 03** : différentes étapes de l'établissement de la symbiose rhizobia legumineuse (cherki et al 2012).

## I.4 Le gène *MTLB7* :

### I.4.1 Fonction du gène *mtlb7* :

#### I.4.1.1 Signalisation et communication intercellulaire :

Avec *mtlb7*, les lipides sont transférés entre les cellules, agissant ainsi comme un transmetteur moléculaire. Il est probable qu'il joue un rôle important dans la transmission de signaux lors de la reconnaissance et de l'établissement de symbioses avec des bactéries fixateurs d'azote. (Kavita Singh et al. Journal : journal of experimental botany,2014)

#### I.4.1.2 Défense contre la pathogènes :

Il est possible que les protéines de transfert de lipides jouent également un rôle dans la protection des plantes contre les pathogènes. La présence de *mtlb7* pourrait contribuer à la détection et à la réaction aux attaques de pathogènes, ce qui renforcerait la réponse immunitaire de la plante. (Jorge Garcia -Olmedo et al. Revue : Trends in Plant Science,2001.)

#### I.4.1.3 Développement de la racine :

Les racines de *M.truncatula* ont montré une expression de *mtlb7*, ce qui laisse supposer qu'elle pourrait jouer un rôle dans leur développement et leurs interactions avec les microbes du sol. (Estelle Duplessis et al. Journal : The Plant Cell, 2003)

#### I.4.1.4 Symbiose avec les bactéries fixatrice d'azote :

*Mtlb7* joue un rôle essentiel dans la symbiose entre *M.truncatula* et les bactéries fixatrices d'azote, comme *Sinorhizobium meliloti*. Il est possible que *mtlb7* joue un rôle dans la reconnaissance et la communication entre la plante et la bactérie, ce qui favorise la formation de nodules racinaires où l'azote se fixe. (Estelle Duplessis et al. Journal : Moléculaire Plant -Microbe Interaction, 2005.)

#### I.4.2 Le rôle du gène *mtlb7* :

Chez *M.truncatula*, le gène *mtlb7* est responsable de la production d'une protéine de transfert de lipides qui joue un rôle dans la signalisation et la communication intercellulaire. On sait que ces protéines de transfert de lipides jouent un rôle essentiel dans les interactions entre les plantes et les microbes, notamment dans la détection et la formation de symbioses. (Estelle Duplessis et al. Journal : the plant cell, 2003)

#### I.4.3 Les intérêts du gène *mtlb7* :

La réponse immunitaire de la plante contre les pathogènes est influencée par le gène *MtlB7* du *medicago truncatula* il est essentiel pour détecter les signaux microbiens et activer les défenses de la plante voici quelques recherches mettant en évidence ses intérêts :

- Le gène *mtlb7* de *medicago truncatula* joue un rôle clé dans la capacité de la plante à résister aux bactéries pathogènes selon les recherches menées par Song et al, (2014), le gène *mtlb7* joue un rôle crucial dans la résistance de *M.truncatula* à *pseudomonas syringae*, une bactérie pathogène fréquente ils ont observé que les plantes où le gène *mtlb7* était inactif étaient plus vulnérables à l'infection, mettant en évidence son rôle essentiel dans la protection de la plante
- *Mtlb7* se lie à d'autres protéines afin de stimuler la défense de la plante selon les recherches menées par Li et al (2016), il a été constaté que le gène *mtlb7* interagit avec une autre protéine nommée *MtNPR1* afin d'activer l'expression de gènes de

défense dans *M.truncatula* il est crucial de maintenir cette interaction afin de garantir une réponse immunitaire efficace de la plante face aux pathogènes

- *Mtlb7* joue un rôle dans la détection des signaux microbiens selon **wang et al (2015)**, il a été constaté que le gène *mtlb7* est activé lorsque des signaux microbiens spécifiques sont présents, ce qui suggère son rôle dans la détection des potentiels pathogènes cette découverte donne une vue d'ensemble des processus par lesquels *m truncatula* repère et réagit aux agressions infectieuses.

#### **I.4.4 *Sinorhizobium meliloti* :**

*S.meliloti* est une bactérie de la sous-famille des protéobactéries, qui se trouve dans la catégorie des gram(-). Cette bactérie, qui se trouve dans les sols, a la capacité de vivre soit en plein air, soit en collaboration avec les légumineuses telles que *Medicago*. (**Capela et al.,2001**)

#### **I.5 La symbiose fixatrice d'azote *M.truncatula/ S.meliloti* :**

Pour les plantes, il est essentiel de trouver une source d'azote. L'ammonium ou les nitrates du sol sont la principale source d'azote, soit d'organismes ayant déjà absorbé de l'azote, soit de la fertilisation par des engrais azotés. De plus, certaines plantes, en particulier celles appartenant à la famille des légumineuses (soja, pois, haricots, luzerne, lotier...) peuvent être autonomes en s'associant à des bactéries fixatrices d'azote, communément appelées rhizobia. La plante *Medicago truncatula* reçoit l'azote fixé par la bactérie *Sinorhizobium meliloti* lors de l'interaction symbiotique. En revanche, la plante offre à son symbionte des sources de carbone et une contribution écologique importante. (**Pauline Blanquet 2015**)

# **Chapitre II :**

## **Matériel et méthodes**

## II. Matériel et méthodes :

### II.1 Matériel :

Nous avons utilisé un ensemble de données d'expression de gènes provenant de puces de type *Affymetrix*, qui sont disponibles en ligne sur la base de données *Mtgeal*.

En théorie, on peut mesurer l'abondance absolue de chaque ARNm transcrit en utilisant des puces à oligonucléotides de type *Affymetrix*. Ces puces sont fabriquées en synthétisant in situ des centaines de milliers de séquences d'oligonucléotides différentes sur une matrice de verre, qui sont fixées par photolithographie et chimie combinatoire. Pour l'hybridation sur la puce, les ARNm de l'échantillon à analyser sont amplifiés, fragmentés et marqués à l'aide d'un système de couplage biotines-treptavidine.

Sur la puce, chaque gène est illustré par une quinzaine de sondes composées d'oligonucléotides courts de 20 à 25 bases qui correspondent à des portions spécifiques du gène. Chaque groupe d'oligonucléotides est désigné sous le nom de *ProbSet* et a un identifiant associé (*ProbSet ID*). En calculant le signal moyen sur toutes les sondes représentant le gène, on peut obtenir une estimation directe du niveau d'expression de chaque gène.

### II.2 Méthodes :

La démarche de travail commence par l'identification du *Probset ID* et la collecte des informations sur l'expression du gène de référence *MTLB7*. Par la suite, la collecte et le tri des informations sur l'expression des gènes liées à l'interaction entre les plantes et les microbes. Et se conclut par une étude statistique réalisée par **Python**.

#### II.2.1 Recherche du *Probset ID* correspondant au gène *MTLB7* :

L'orthologue (deux séquences homologues de deux espèces différentes) du gène *MTLB7* sur le génome d'*Arabidopsis thaliana* est utilisé pour représenter la séquence nucléotidique de base. Cette séquence a été récupérée sur la banque de données *Genbank* à partir du moteur de recherche *TAIR*, sous l'identifiant «AT5G66270.1 ». À partir de cette séquence initiale, une injection de données « N » a été effectuée sur la base de données pour obtenir la séquence correspondante sur le génome de *M. truncatula*.

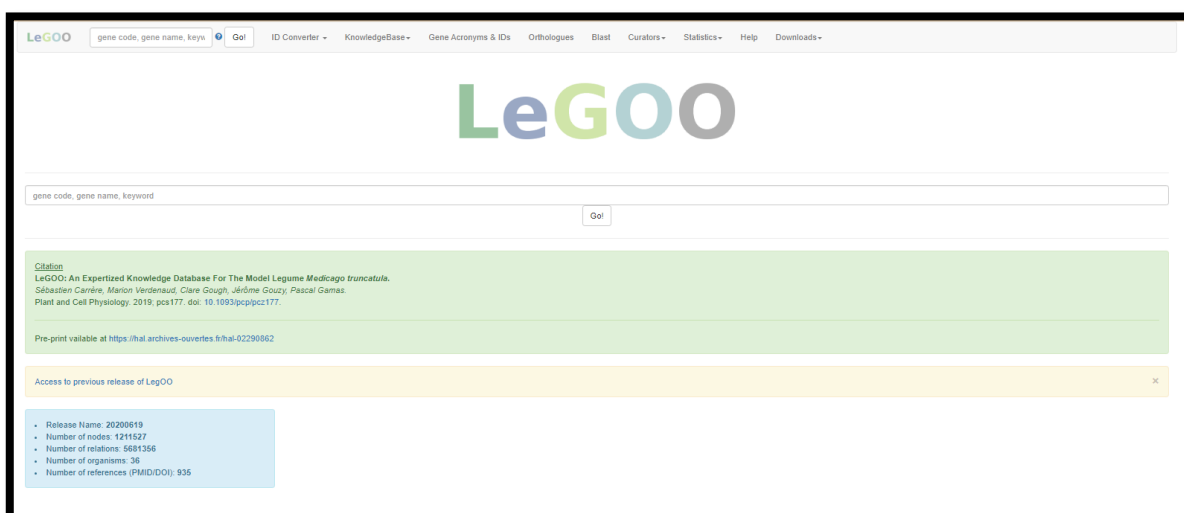
**Tableau 1** : Représentation des identifiants du gène MTLB7

MTLB7	TAIR	Genbank	Craig venter
Organisme	A. thaliana	A. thaliana	M. truncatula
Identifiant	AT5G66270.1	NM_126025	Medtr5g081000

La Samuel Roberts Noble Foundation et l'université d'Oklahoma ont initié en 2003 le projet de séquençage du génome de *Medicago truncatula*, les informations sont collectées et actualisées de manière constante par l'institut J. Craig Venter.

La *ProbSet ID* correspondante a été trouvée sur le moteur de recherche *Legoo* en utilisant l'identifiant obtenu sur *CVI*.

LeGOO (*Legume Graph-Oriented Organizer*) est une base de connaissances qui se concentre sur les informations provenant de publications scientifiques, avec une organisation basée sur des graphes des connaissances acquises par la communauté *M. truncatula*. Son offre comprend un convertisseur d'*ID* complet qui simplifie l'analyse et la comparaison des données générées au cours de vingt ans avec divers outils. *LeGOO* met également à disposition des liens vers des ressources de référence pour *Medicago truncatula*, comme le *Noble Gene Atlas*.

**Figure 4** : Interface du moteur de recherche *LeGoo*

**Tableau2** : Représentation d'identifiant probset ID du gène *MTLB7* de *medicago truncatula*

<i>MTLB7</i>	<i>CVI</i>	<i>Legoo</i>
Organisme	M. truncatula	M. truncatula
Identifiant	Medtr5g081000	Mtr.40140.1. S1_at

### II.2.2 Collecte des données d'expression du gène *MTLB7* en conditions de l'interaction symbiotique *Medicago truncatula*-*Sinorhizobium meliloti* :

Le *Atlas* d'expression génétique de *Medicago truncatula* (*MTGEA*) est un site web exhaustif qui offre des informations sur l'expression génétique de la plante modèle *M. truncatula*. Les données d'expression de l'atlas sont issues de la technologie *Affymetrix GeneChip* et de données plus récentes issues du séquençage de l'ARN (RNA-seq). Le *MTGEA* offre aux scientifiques la possibilité d'obtenir des profils d'expression génétique dans différents tissus, organes et conditions environnementales.

*MTGEA* est une plateforme web française hébergée par l'Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement (*INRAE*) et le Centre national de la recherche scientifique (*CNRS*). Il propose un outil centralisé pour l'étude du transcriptome de *M. truncatula*. Les données d'expression génétique sont présentes sur le site web, couvrant une variété étendue.

Il y a aussi différents outils d'analyse et de visualisation dans le *MTGEA* afin d'explorer les profils d'expression des gènes. Les utilisateurs ont la possibilité de chercher des gènes qui suscitent leur intérêt, d'analyser leurs modèles d'expression et de prédire leurs fonctions potentielles. Les utilisateurs peuvent également télécharger les ensembles de données sur le site web, ce qui facilite leur analyse plus approfondie.

La communauté de recherche sur les légumineuses bénéficie d'une ressource précieuse, le *MTGEA*, qui permet d'analyser la fonction des gènes, de saisir les interactions entre les plantes et les microbes et d'explorer la biologie des légumineuses en général. Le site internet est constamment actualisé avec de nouvelles informations sur l'expression génétique à mesure qu'elles sont disponibles.

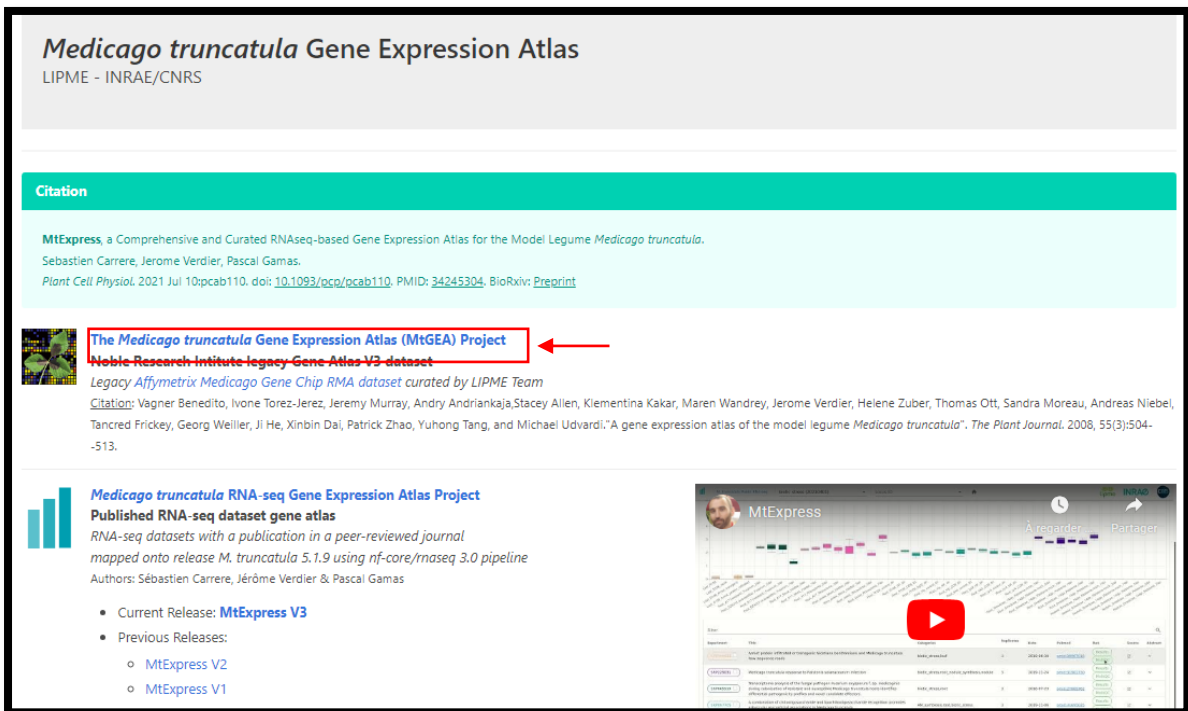


Figure 5 : Interface du moteur de recherche MtGEA

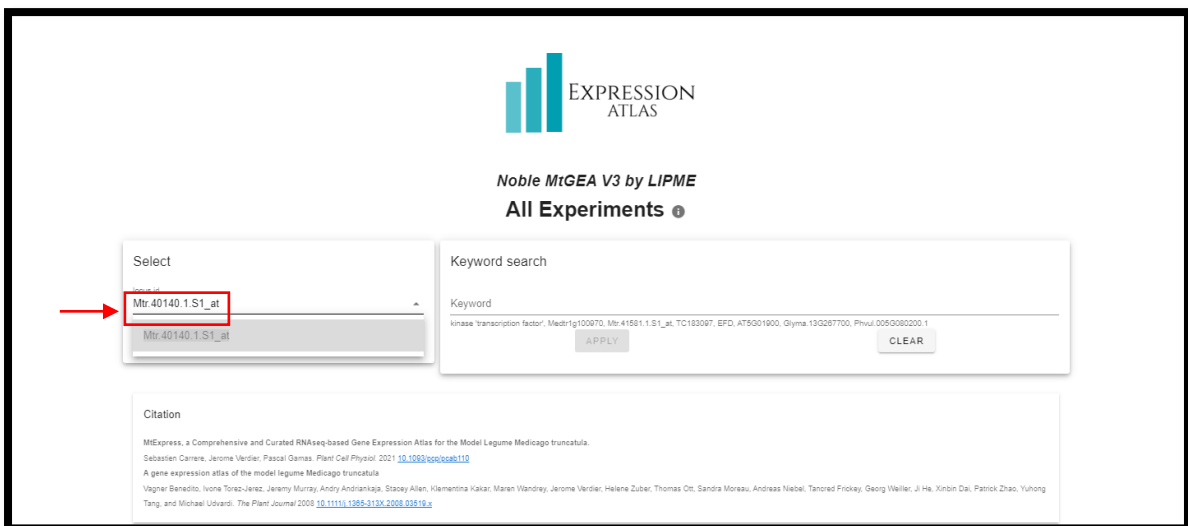
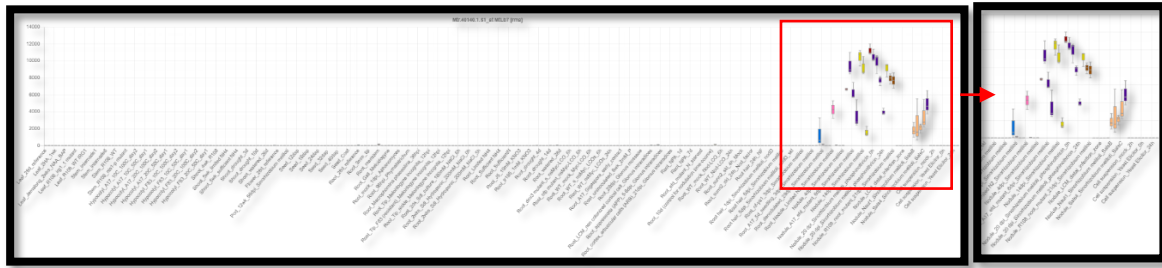


Figure 6 : Recherche du profil d'expression du gène sur MtGEA

La présentation du profil d'expression sous forme de graphe et de tableau est l'une des fonctionnalités proposées par le moteur de recherche MtGEA. Chaque variation d'expression est associée à une identification *probset* correspondant au gène étudié.



En utilisant l'identification du *probset* correspondant au gène *MTLB7* (Mtr.40140.1. S1\_at), nous avons pu obtenir le profil d'expression suivant :



**Figure 7 :** Le profil d'expression du gène *MTLB7* sur *MtGEA*

Les tableaux présentent les valeurs d'expression correspondantes à chaque traitement (interaction l'interaction symbiotique *Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti*). Par la suite, ces valeurs seront employées pour identifier d'autres profils d'expression similaires à celui du *MTLB7*.

**Tableau 3 :** les données relatives à l'interaction symbiotique *Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti*.

Nodule_6dpi_Sinorh izobium meliloli	Nodule_10dpi_Sinorh izobium meliloli	Nodule_14dpi_Sinorh izobium meliloli	Nodule_20dpi_Sinorh izobium meliloli
6658,5	10455,3	9256,2	11265,3

### II.2.3 Collecte des données d'expression de gènes relatives à l'interaction symbiotique *Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti*:

Grâce à la fonction *Differential Expression Analysis*, le moteur de recherche *MtGEA* permet de choisir une ou plusieurs conditions par rapport à une condition actuelle. Le format des données d'expression est le texte (.txt).

**Tableau 4 :** conditions sélectionnées pour l'interaction symbiotique *Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti*.

	Condition cible	Condition stressante
Interaction plante- microbe	<i>Nodule_6dpi_Sinorhizobium meliloti</i>	<i>Nodule_10dpi_Sinorhizobium meliloti</i>

**Tableau 5 :** Les données des gènes relatives à l'interaction symbiotique *Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti*.

Enfin, dans le cadre de l'analyse statistique, les données obtenues ont été classées (**Tableau 5**), et les 250 premiers et 250 derniers gènes ont été sélectionnés.

### II.2.4 Etude statistique par Python :

Ce code effectue une analyse sur un fichier de données TSV contenant des interactions plante-microbe. Il filtre les données en fonction de certaines conditions, extrait un *probsset* d'intérêt, calcule les distances euclidiennes entre ce *probsset* et les autres *probssets*, et affiche les *probssets* les plus liés en termes de distance euclidienne. Le code visualise également ces distances à l'aide d'une carte thermique.

### II.2.4.1 Les étapes du code :

- Importer les bibliothèques nécessaires.
- Charger le fichier TSV dans un *DataFrame pandas*.
- Définir et appliquer les conditions pour filtrer les colonnes.
- Vérifier l'existence du *probset* d'intérêt et extraire ses données.
- Calculer les distances euclidiennes entre le *probset* d'intérêt et les autres *probsets*.
- Afficher les *probsets* les plus proches et enregistrer le résultat dans un fichier CSV.
- Visualiser les distances avec une carte thermique.

```

+ Code + Markdown | ▶ Run All | Clear All Outputs | Outline ... Python 3.12.1
import seaborn as sns

# Définir le nombre de probsets à afficher
num_probsets_to_display = 20 # Remplacez par le nombre de probsets que vous souhaitez afficher

# Filtrer pour ne garder que les probsets les plus proches
top_related_probsets = related_probsets.head(num_probsets_to_display)

# Afficher les probsets les plus proches
print(f"Top {num_probsets_to_display} probsets liés à {probset_of_interest},")
print(top_related_probsets)

# Enregistrer le résultat dans un fichier CSV si nécessaire
top_related_probsets.to_csv('related_probsets.csv')

# Visualiser les distances avec un heatmap
plt.figure(figsize=(12, 8))
sns.heatmap(top_related_probsets.T, cmap='viridis', annot=True, cbar=True)
plt.xlabel('Probsets')
plt.ylabel('Distance Euclidienne')
plt.title(f'Distances entre {probset_of_interest} et les {num_probsets_to_display} probsets les plus proches')
plt.xticks(rotation=90)
plt.tight_layout()
plt.show()

```

Figure 8 : Code python de calcul des distances entre l'expression des *probsets* « partie 1 »

```

+ Code + Markdown Python 3.12.1
# Define the lists of conditions for filtering columns
condition_1 = [
    "MTGEAV3:Carvalho:nodule.Nod_6dpi_R1",
    "MTGEAV3:Carvalho:nodule.Nod_6dpi_R2",
    "MTGEAV3:Carvalho:nodule.Nod_6dpi_R3",
]

# Lists below are commented as conditions names can't be found in the dataset !

# condition_2 = [
#     "MTGEAV3:Carvalho:nodule.Nod_10dpi_R1",
#     "MTGEAV3:Carvalho:nodule.Nod_10dpi_R2",
#     "MTGEAV3:Carvalho:nodule.Nod_10dpi_R3",
# ]

# condition_3 = [
#     "MTGEAV3:Carvalho:nodule.Nod_14dpi_R1",
#     "MTGEAV3:Carvalho:nodule.Nod_14dpi_R2",
#     "MTGEAV3:Carvalho:nodule.Nod_14dpi_R3",
# ]

condition_4 = [
    "MTGEAV3:Carvalho:nodule.Nod_20dpi_R1",
    "MTGEAV3:Carvalho:nodule.Nod_20dpi_R2",
    "MTGEAV3:Carvalho:nodule.Nod_20dpi_R3",
]

```

Figure 9 : Code python de calcul des distances entre l'expression des *probsets* « partie 2 »

```

+ Code + Markdown | ▶ Run All | Clear All Outputs | Outline ... Python 3.12.1
# Extract the row for the probeset of interest
probeset_data = mean_data.loc[[probeset_of_interest]]

# Calculate the distances between the probeset of interest and all other probesets
distances = cdist(probeset_data, mean_data, metric='euclidean').flatten()

# Create a DataFrame with the distances
distance_df = pd.DataFrame(distances, index=mean_data.index, columns=['Distance'])

# Sort the distances to find the related probesets
related_probesets = distance_df.sort_values(by='Distance')

# Define the number of probesets to display
num_probesets_to_display = 20 # Replace with the number of probesets you want to display

# Filter to keep only the closest probesets
top_related_probesets = related_probesets.head(num_probesets_to_display)

top_related_probesets
[16]
...

```

Figure 10 : Code python de calcule les distances entre l'expression des *probesets* « partie 3 »

```

+ Code + Markdown | ▶ Run All | Clear All Outputs | Outline ... Python 3.12.1
# Display the related probesets
print(f'Top {num_probesets_to_display} probesets related to', probeset_of_interest, ":")
print(top_related_probesets)

# Save the result to a CSV file if necessary
top_related_probesets.to_csv('related_probesets.csv')

# Visualize the distances with a heatmap
plt.figure(figsize=(12, 8))
sns.heatmap(top_related_probesets.T, cmap='viridis', annot=True, cbar=True)
plt.xlabel('Probesets')
plt.ylabel('Euclidean Distance')
plt.title(f'Distances between {probeset_of_interest} and the {num_probesets_to_display} closest probesets')
plt.xticks(rotation=90)
plt.tight_layout()
plt.show()
[17]

```

Figure 11 : Code python de calcule les distances entre l'expression des *probesets* « partie 4 »

#### II.2.4.2 Commandes et Formules utilisées :

- Lecture du fichier CSV avec pandas

```
pd.read_csv(file_path, sep='\\t', index_col=0)
```

- Calculer les distances avec scipy

```
cdist(probeset_data, filtered_data, metric='euclidean')
```

- Visualisation des données avec seaborn et matplotlib

```

sns.heatmap(top_related_probesets.T, cmap='viridis', annot=True, cbar=True)
plt.show()
```

```

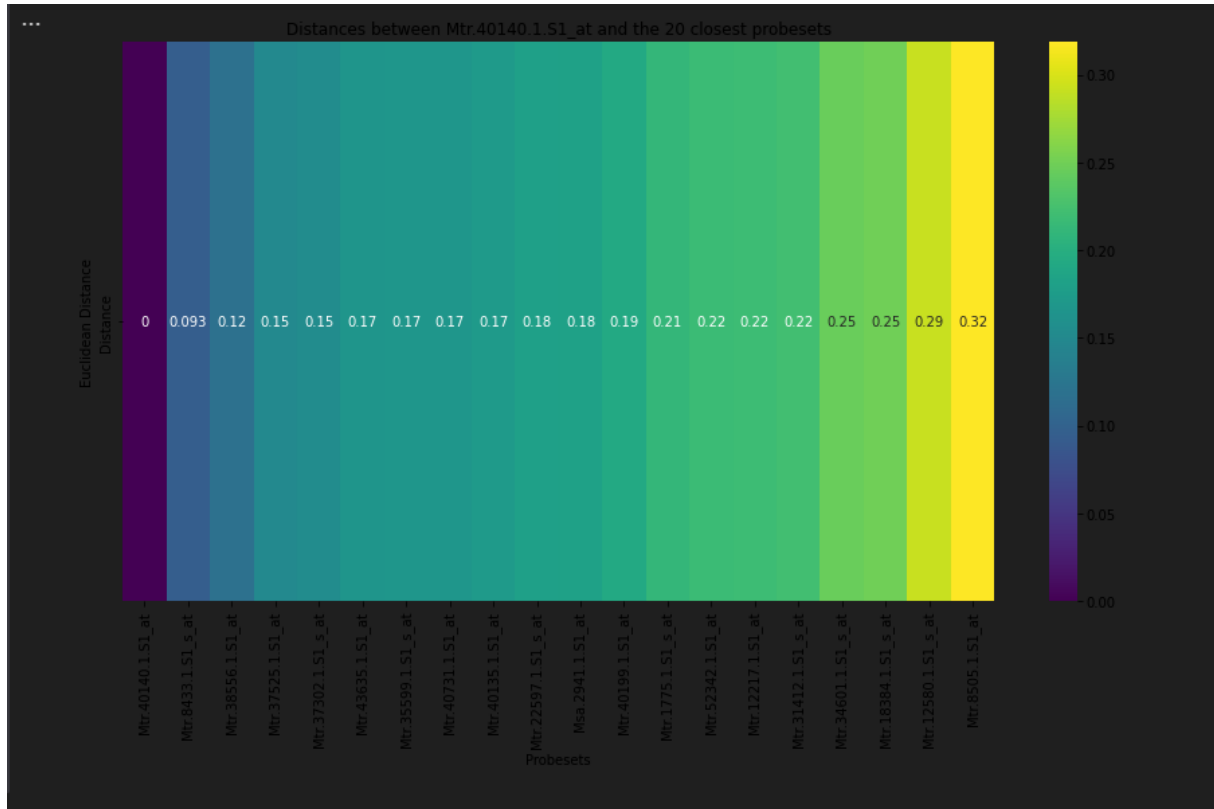
# **Chapitre III :**

## **Résultats et discussions**

### III. Résultats et discussion :

#### III.1 Résultats :

Une fois que les données relatives à l'interaction symbiotique *Medicago truncatula-Sinorhizobium meliloti* ont été analysées statistiquement, le programme nous a fourni les résultats sous forme d'une carte thermique et a choisi les 20 gènes les plus proches des gènes *MTLB7*.



**Figure 12 :** Carte thermique des distances euclidiennes entre Mtr.40140.1.S1\_at et les 20 *Probesets* les plus proches.

**Tableau 6 :** Distance euclidiennes entre *Mtr.401440.1.S1\_at* et les 20 *probesets* les plus proches avec leurs Annotations.

| Probeset           | Distance | Annotation                                                                |
|--------------------|----------|---------------------------------------------------------------------------|
| Mtr.8433.1.S1_s_at | 0.093363 | <i>Ubiquitin-40S ribosomal protein S27a</i> ;PROBABLE<br><i>UBIQUITIN</i> |

|                      |          |                                                                                                                  |
|----------------------|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Mtr.38556.1. S1_at   | 0.117747 | <i>Nodule-specific Cysteine-Rich peptide<br/>Putative Late nodulin</i>                                           |
| Mtr.37525.1. S1_at   | 0.149297 | <i>MAJOR INTRINSIC PROTEIN (NODULIN26-LIKE) MIP family; Putative major intrinsic protein</i>                     |
| Mtr.37302.1. S1_s_at | 0.153155 | <i>Putative Late nodulin</i>                                                                                     |
| Mtr.43635.1. S1_at   | 0.166477 | <i>Nodule-specific Cysteine-Rich peptide<br/>Putative Late nodulin</i>                                           |
| Mtr.35599.1. S1_s_at | 0.167078 | <i>Late nodulin</i>                                                                                              |
| Mtr.40731.1. S1_at   | 0.167522 | <i>PUTATIVE Calmodulin-like protein Calcium-binding [PUTATIVE NODULIN]</i>                                       |
| Mtr.40135.1. S1_at   | 0.171792 | <i>Nodule-specific Cysteine-Rich peptide HYPOTHETICAL conserved cysteine clusters PsENOD3 late nodulin famil</i> |
| Mtr.22597.1. S1_s_at | 0.179427 | <i>Pyridoxal phosphate-dependent transferase</i>                                                                 |
| Msa.2941.1. S1_at    | 0.181884 | <i>Papain cysteine protease</i>                                                                                  |
| Mtr.40199.1. S1_at   | 0.192011 | <i>Aluminium induced protein with YGL and LRDR motifs, Putative nucleophile aminohydrolase</i>                   |
| Mtr.1775.1. S1_s_at  | 0.210786 | <i>Putative Late nodulin;HYPOTHETICAL</i>                                                                        |
| Mtr.52342.1. S1_at   | 0.217238 | <i>Nodule-specific Cysteine-Rich peptide<br/>Putative Late, Armadillo-like</i>                                   |

|                      |          |                                                                                                      |
|----------------------|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                      |          | <i>helical;PUTATIVE Nodulin 3 family-related (Cys conserved)</i>                                     |
| Mtr.12217.1. S1_at   | 0.217820 | <i>CYSTEINE PROTEINASE PRECURSOR Papain cysteine protease</i>                                        |
| Mtr.31412.1. S1_s_at | 0.221905 | <i>Nodule-specific Cysteine-Rich peptide Putative Late</i>                                           |
| Mtr.34601.1. S1_s_at | 0.246173 | <i>ASPARTIC PROTEINASE PRECURSOR Aspartic protease A1</i>                                            |
| Mtr.18384.1. S1_s_at | 0.249269 | <i>Late nodulin;hypothetical protein</i>                                                             |
| Mtr.12580.1. S1_s_at | 0.291890 | <i>Disease resistance protein;PUTATIVE Vfnod-CCP5 conserved Cysteine cluster late nodulin family</i> |
| Mtr.8505.1. S1_at    | 0.318473 | <i>BURP domain;EARLY NODULIN 20 PRECURSOR</i>                                                        |

### III.2 Discussion :

Chez *Medicago truncatula*, la nodulation est un processus complexe qui est contrôlé par de nombreux gènes. L'analyse des probsets les plus proches de Mtr.40140.1. S1\_at a mis en évidence différentes familles de gènes contribuant à la nodulation. Chaque famille joue un rôle particulier et crucial dans la formation et la fonction des nodules. Le rôle des gènes des familles identifiées dans le processus de nodulation est abordé dans cette section.

#### III.2.1 Famille des *Peptides Riches en Cystéine Spécifiques aux Nodules (NCR)* :

Mtr.38556.1. S1\_at, Mtr.43635.1. S1\_at, Mtr.40135.1. S1\_at, Mtr.52342.1. S1\_at, Mtr.31412.1. S1\_s\_at. Ils font partie de la catégorie des peptides cystéiniques spécifiques aux nodules (NCR). La formation et le maintien des nodules sont influencés par ces peptides qui régulent la différenciation et la persistance des bactéries symbiotiques à l'intérieur des cellules



végétales. La perméabilité membranaire et la réponse immunitaire de la plante sont également influencées par les NCR, ce qui favorise une symbiose efficace (Van de Velde et al., 2010).

### III.2.2 Famille des Nodulines Tardives :

La famille des nodulines tardives comprend les gènes Mtr.37302.1. S1\_s\_at, Mtr.35599.1. S1\_s\_at, Mtr.40731.1. S1\_at, Mtr.1775.1. S1\_s\_at, Mtr.18384.1. S1\_s\_at, Mtr.12580.1. S1\_s\_at. En général, ces gènes sont présents à des stades plus avancés de la formation des nodules et jouent un rôle dans leur maturation et leur fonctionnement. La fixation de l'azote, la protection contre le stress oxydatif et la gestion des métaux lourds sont des fonctions essentielles des nodulines tardives pour une symbiose durable et efficace (Mergaert et al., 2003).

### III.2.3 Famille des Protéines à Domaine Papain Cystéine Protéase :

Les gènes Msa.2941.1. S1\_at et Mtr.12217.1. S1\_at sont liés à la famille des protéines à domaine papain cystéine protéase. Ces protéines ont un rôle essentiel dans la dégradation des protéines et la régulation du cycle cellulaire, ce qui est crucial pour la formation des nodules et le recyclage des protéines dans les cellules végétales. Elles jouent également un rôle dans la réaction de la plante face aux stress biologiques et abiotiques (Beers et al., 2004).

### III.2.4 Famille des Protéines à Domaine BURP et Aspartic Protéinase :

La famille des protéines à domaine BURP et aspartic protéinase comprend respectivement les gènes Mtr.8505.1. S1\_at et Mtr.34601.1. S1\_s\_at. La régulation de la croissance et de la morphogénèse des nodules est influencée par les protéines à domaine BURP. Les protéinases aspartiques participent à la maturation des protéines et à la réponse immunitaire de la plante, ce qui leur permet de se défendre contre les pathogènes et de réguler les processus de nodulation (Bateman et al., 2004 ; Mutuku and Nose, 2012).

### III.2.5 Protéines Ubiquitin et Liées au Métabolisme :

Les gènes Mtr.8433.1. S1\_s\_at, Mtr.37525.1. S1\_s\_at, Mtr.40199.1. S1\_s\_at et Mtr.22597.1. S1\_s\_at sont responsables de la conception de protéines qui jouent un rôle dans différents aspects du métabolisme cellulaire et le contrôle des protéines. Le ciblage des protéines pour la dégradation est effectué par l'ubiquitine et les protéines ribosomales, ce qui permet de réguler la quantité et la qualité des protéines disponibles pour la nodulation (Callis, 2014). Selon Maurel et al. (2008) et Tamura et al. (2003), les protéines de la famille MIP (major intrinsic protein) et les protéines induites par l'aluminium jouent un rôle dans la

régulation de l'osmolarité cellulaire et la protection contre le stress, ce qui favorise le développement des nodules.

En résumé, les gènes repérés dans cette recherche font partie de différentes familles fonctionnelles, chacune ayant un rôle spécifique dans la nodulation de *Medicago truncatula*. Il est indispensable de contrôler l'expression de ces gènes et leurs interactions complexes afin d'assurer une symbiose efficace et pérenne. Une meilleure compréhension des mécanismes qui sous-tendent l'expression et la fonction de ces gènes pourrait ouvrir de nouvelles perspectives pour améliorer la symbiose fixatrice d'azote, avec des conséquences significatives pour l'agriculture et la gestion des sols.

# **Conclusion et perspective**

## Conclusion et perspectives

La symbiose entre *Medicago truncatula* et *Sinorhizobium meliloti* est un processus complexe, contrôlé par plusieurs gènes. L'étude des gènes les plus proches de Mtr.40140.1. S1\_at a révélé diverses familles de gènes qui jouent un rôle essentiel dans la nodulation. Les peptides riches en cystéine spécifiques aux nodules (NCR) ont un rôle essentiel dans la régulation de la différenciation et de la persistance des bactéries symbiotiques, ce qui a un impact sur la perméabilité membranaire et la réponse immunitaire de la plante. Les nodulines tardives jouent un rôle crucial dans la maturation des nodules et la fixation de l'azote, tout en protégeant contre le stress oxydatif. Les protéines du domaine Papain Cystéine Protéase jouent un rôle dans la dégradation des protéines et la réponse au stress, tandis que les protéines du domaine BURP et Aspartic Protéinase régulent la formation des nodules et contribuent à la réponse immunitaire de la plante. Finalement, l'ubiquitin et les protéines liées au métabolisme cellulaire jouent un rôle essentiel dans la régulation des protéines et la régulation de l'osmolarité cellulaire, ce qui favorise le développement des nodules.

Cette étude offre une meilleure compréhension des fonctions spécifiques des différentes familles de gènes dans la nodulation de *Medicago truncatula*. Cependant, pour optimiser les bénéfices de cette symbiose pour l'agriculture et la gestion des sols, plusieurs éléments nécessitent une analyse approfondie. Il y a les points de vue suivants : Faire des analyses fonctionnelles supplémentaires en utilisant des techniques avancées comme CRISPR-Cas9 afin de confirmer les fonctions des gènes identifiés ; étudier les interactions entre ces gènes et d'autres gènes symbiotiques ou de réponse au stress afin de détecter des interactions cruciales qui impactent la nodulation ; prendre en compte des données transcriptomiques, protéomiques et métabolomiques afin d'avoir une vision globale des mécanismes de nodulation. Appliquer les connaissances acquises afin de développer des variétés de légumineuses qui favorisent une symbiose optimale.

En conclusion, cette étude ouvre la voie à des recherches futures prometteuses, approfondissant notre compréhension de la relation entre les légumineuses et les bactéries, et proposant des solutions pratiques pour améliorer la productivité agricole et la santé des sols.

# **Références bibliographique**

## Références bibliographiques

1. Bena, G. (2001). "Molecular phylogeny supports the morphologically based taxonomic transfer of the "medicagoid" *Trigonella* species to the genus *Medicago* L.". *\*Plant Systematics and Evolution\**, 229, 217-236.  
<https://doi.org/10.1007/s006060170025>
2. Bennett, M. A., Chapman, G. P., Ford, J. E., Haydock, R. J., Hughes, C. E., Irving, M. T., ... & Williams, J. T. (1973). Structure and Composition of the Seeds of *Trifolium Subterraneum* L. *Annals of Botany*, 37(3), 483-493.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a083222>
3. Breakspear, S., Bennett, M., Benedito, V., Couzigoure, K., Del Pozo, A., Duque, M., ... & Oldroyd, G. (2014). Root Development and Architecture in Legumes. *Plant Physiology*, 165(2), 706-717. <https://doi.org/10.1104/pp.113.227058>
4. Breakspear, S., Bennett, M., Benedito, V., Couzigoure, K., Del Pozo, A., Duque, M., ... & Oldroyd, G. (2014). Root Development and Architecture in Legumes. *Plant Physiology*, 165(2), 706-717. <https://doi.org/10.1104/pp.113.227058>
5. Berendsen, R. L., Pieterse, C. M., & Bakker, P. A. (2012). Dévoiler les interactions au-dessus et en dessous du sol dans la rhizosphère. *Trends in Ecology & Evolution*, 27(4), 242-251.
6. Berrabah F., "Contrôle symbiotique de l'immunité au cours des étapes tardives de la symbiose *Medicago*-*Sinorhizobium*," Univ. Paris-SACLAY, pp. 6-10, 2016.
7. Berrabah F, Hosseyn E, Salem A, Garmier M, Ratet P., "The Multiple Faces of the *Medicago*-*Sinorhizobium* Symbiosis," *Functional Genomics in *Medicago truncatula**, pp 241-260, 2018.
8. Benedito VA, Torres-jerez I, Murray JD., "A gene expression atlas of the model legume *Medicago truncatula*," *The Plant Journal*, vol. 55(3), pp. 504- 513, 2008.
9. Bio R., "Les principaux types de fertilisants Les fertilisants destinés à enrichir le sol en humus," <http://www.revuebio.fr/types-fertilisants>, 2018. <http://dspace.univ-djelfa.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3280/Caract%C3%A9risation%20de%20la%20famille%20des%20PRs%20chez%20Medicago%20truncatula%20et%20leur%20implication%20dans%20l'E2%80%99immunit%C3%A9%20et%20la%20symbiose..pdf?sequence=1&isAllowed=y>
10. Beers, E.P., et al. (2004). "Plant proteolytic enzymes: possible roles during programmed cell death." *Plant Molecular Biology*, 44(4), 399-415.

11. Bateman, A., et al. (2004). "The BURP domain: a ubiquitous signalling domain." *Trends in Biochemical Sciences*, 29(9), 505-507.
12. Cook, D. *The Medicago truncatula Handbook*. USA: Springer; 2012.
13. Choi, J., Young, M. J., Stacey, G., & Kiss, G. B. (2004). Role of Phosphorus Deficiency in Regulation of Flowering Time in *Medicago truncatula*. *Plant Physiology*, 136(3), 3265-3274. <https://doi.org/10.1104/pp.104.044313>
14. Cook, D. R. (1999). Model Organisms - New Opportunities for Old Friends. *Nature Biotechnology*, 17(5), 423-424. <https://doi.org/10.1038/nbt0599-423>
15. Compant, S., Clément, C., Sessitsch, A., & Barka, E. (2016). Le microbiote phyllosphérique : un réservoir de traits bénéfiques pour la promotion de la croissance des plantes ? *FEMS microbiology reviews*, 40(5), 663-689.
16. Cook, D. R. (1999). Organismes modèles - nouvelles opportunités pour les anciens amis. *Nature biotechnology*, 17(5), 423-424.
17. Capela, D., Barloy-Hubler, F., Gouzy, J., Bothe, G., Ampe, F., Batut, J., Boistard, P., Becker, A., Boutry, M., Cadieu, E., Dréano, S., Gloux, S., Godrie, T., Goffeau, A., Kahn, D., Kiss, E., Lelaure, V., Masuy, D., Pohl, T., Portetelle, D., Pühler, A., Purnelle, B., Ramsperger, U., Renard, C., Thébault, P., Vandenberg, M., Weidner, S. and Galibert, F. (2001) 'Analysis of the chromosome sequence of the legume symbiont *Sinorhizobium meliloti* strain 1021', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(17), pp. 9877-82.
18. cherki GH., Oufdou kh . 2012. Rôle des microorganismes symbiotiques (cas de rhizobia) dans l'amélioration de la production agricole de *Phaseolus vulgaris* sous stress salin (thèse).
19. Callis, J. (2014). "The ubiquitination machinery of the ubiquitin system." *The Arabidopsis Book*, 12, e0174.
20. Downie, J. A. (2014). Introduction au numéro spécial : 'Légumineuses'. *New Phytologist*, 203(2), 403-404.
21. Franklin, K. A., Whitelam, G. C., Weller, J. L., & Watson, S. M. (2003). Photomorphogenesis. In *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)* (pp. 1-10). John Wiley & Sons Ltd.
22. Gómez-Bombarelli, R., et al. (2013). "Domestication of *Medicago truncatula* in the Mediterranean basin". *Science*, 340(6134), 1257-1260. <https://doi.org/10.1126/science.1203122>

23. Gourion B, Berrabah F, Ratet P, Stacey G. 2014. Rhizobium legume symbioses: the crucial role of plant immunity. *Trends Plant Sci.*, 20(3): 186-194. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.11.008>
24. Heaton T., “ Isotopic studies of nitrogen pollution in the hydrosphere and atmosphere, ” *Chim Geol Isot Geosceience Sect.*, vol. 59,pp. 87-102, 1986.
25. <https://www.publish.csiro.au/fp/pdf/FP07297>
26. <https://fr.scribd.com/document/406747951/Manuel-de-Grandes-Cultures-Le-gumineuses-Alimentaires-pdf>
27. <https://plants.usda.gov/home>
28. <https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=METR10>
29. <https://plants.usda.gov/home/classification/81234>
30. <https://www.nrcs.usda.gov/plantmaterials/capmctn13333.pdf>
31. Kovács, J., et al. (2018). "Evidence for human introduction of \*Medicago truncatula\* into Europe". *\*PLOS ONE\**, 13(1), e0192174. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192174>
32. Lipid transfer proteins in plants dedense.auteurs :kavita singh et al .journal :journal of experimental botany,2014. <https://academic.oup.com/jxb/article/65/14/3789/1112413>
33. Li,X ., Wang,Y .,Chen,L et al,(2016) .L’interaction MtLB7-MtNPR1 active la défense de Medicago truncatula en réponse à la perception du microbe. *Le New Phytologiste*,212(3),605-618 .
34. La peyronie A. (1982). Les productions fourragères méditerranéennes - technique agricole et Production méditerranéenne. Maisonneuve et Larose. Paris. 8: 307-315.
35. Markó, I., Szombath, É., Czégény, Z., Kereszt, A., & Kondorosi, É. (2000). Analysis of symbiotic nitrogen fixation genes in Medicago truncatula suggests the existence of two independent nodulation signalling pathways. *Plant Journal*, 23(3), 247-255. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2000.00590.x>
36. Mathesius, U. (2018). Medicago Is a Systemic Signal That Primes Defense Against Herbivores in Medicago truncatula. *Plant Physiology*, 177(2), 663-674. <https://doi.org/10.1104/pp.18.00220>
37. Maxwell, P. C., Brechenmacher, L., James, E. K., Fisher, R. F., Denny, P. W., & Long, S. P. (2012). Analyse quantitative de la variation spatiale de la composition des communautés bactériennes du sol de prairies natives le long de gradients édaphiques et topographiques. *Applied and environmental microbiology*, 78(24), 8794-8802.



38. Medicago truncatula lipid transfer protein7,mtlp7,Is involved in nodulation and mycorrhization.auteur :Estelle duplessis et al.journal :the plant cell,2003.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC150064/>
39. Medicago truncatula lipid transfer protein7,mtltp7,is involved in nodulation and mycorrhization .auteur :Estelle duplessis et al.journal :the plant cell,2003.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC150064/>
40. Mergaert, P., et al. (2003). "Nodulation, bacteroid development and nodule structure." *Journal of Plant Physiology*, 160(5), 521-527.
41. Mutuku, J.M., and Nose, A. (2012). "Changes in the expression of aspartic proteinase genes in rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress." *Journal of Plant Physiology*, 169(5), 565-569.
42. Maurel, C., et al. (2008). "The cellular dynamics of plant aquaporin expression and functions." *Current Opinion in Plant Biology*, 11(6), 690-698.
43. Ortega-Aznar, R., Mathews, M., Laurie, D. A., Grant, A. R., Robertson, M., Wilson, M. H., ... & Turner, J. G. (2004). Conservation of the Molecular Mechanism Underlying Flowering Time Control Across Angiosperms: Comparisons Between Arabidopsis, Barley, Pea, and Rice. *Plant Journal*, 38(3), 317-329.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02005.x>
44. Oldroyd, G. E., Broughton, W. J., Murray, J. D., Noel, K. D., Downie, J. A., & Day, D. A. (2011). Symbiotic nitrogen fixation and plant domestication. *Trends in Plant Science*, 16(1), 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.09.008>
45. Ortega-Aznar, R., Mathews, M., Laurie, D. A., Grant, A. R., Robertson, M., Wilson, M. H., ... & Turner, J. G. (2004). Conservation of the Molecular Mechanism Underlying Flowering Time Control Across Angiosperms: Comparisons Between Arabidopsis, Barley, Pea, and Rice. *Plant Journal*, 38(3), 317-329.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02005.x>
46. Oldroyd, G. E., Broughton, W. J., Murray, J. D., Noel, K. D., Downie, J. A., & Day, D. A. (2011). Fixation symbiotique de l'azote et domestication des plantes. *Trends in Plant Science*, 16(1), 15-23.
47. Parkinson, K., Breakspear, S., Huguet, T., Torres-Jerez, I., Amorós, J., Mulligan, B., ... & Ellis, R. J. (2007). Leaf Morphological Diversity and Evolution in *Medicago* Species. *Planta*, 225(5), 971-982. <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0544-7>

48. Penmetsa, R. V., & Cook, D. R. (2000). Mutagenesis and Reverse Genetics Tools for Functional Genomics Studies in *Medicago truncatula*. *Current Opinion in Plant Biology*, 3(6), 479-487. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(00\)00144-5](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)00144-5)
49. Prell, J. M., & Poole, P. S. (2006). Régulation métallico du transport des protéines de fer dans les bactéroïdes du symbiote des légumineuses *Sinorhizobium meliloti*. *Journal of bacteriology*, 188(21), 7696-7705.
50. Plant lipid-transfer proteins. auteurs : jorge garcia-olmedo et al. revue : trends in plant science, 2001. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1360138501020759>
51. Prospero J. M., Isabelle O., Angevain M., Génier G., Nansat P. (1993) Diversité génétique, Conservation et utilisation des ressources génétiques des luzernes méditerranéennes. Laboratoire de Ressources génétiques et d'Amélioration des luzernes méditerranéennes. INRA. Mauguio. N°4 : 1-5.
52. Prolea D (2002) Espèces et utilisations, des ressources en protéines à redécouvrir : les plantes fourragères prairiales – la luzerne. Institut du Végétal et de l'Institut de l'Élevage. GNIS, Paris. pp. 4-7.
53. Pauline Blanquet. Étude de protéines de *sinorhizobium meliloti* impliquées dans le contrôle du niveau de NO : modulation de la sénescence des nodules de *Medicago truncatula*. Sciences agricoles. Université Paul Sabatier – Toulouse III, 2015. Français. NNT :2015TOU30283. Tel-01630203
54. Rodriguez-Navarro, S., Perez-Martin, A., Molina, A., & Fernandez-Marcos, P. (2006). Cold Acclimation Increases Thermo-inhibition Resistance But Does Not Change the Temperature Requirement for Radicle Elongation in Lettuce Seeds. *Environmental and Experimental Botany*, 55(1), 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.envir.2005.08.005>
55. Roy S, Liu W, Nandety RS, Crook A, Mysore KS, Pislariu CI, Frugoli J, Dickstein R, Udvardi MK. 2020. Celebrating 20 Years of Genetic Discoveries in Legume Nodulation and Symbiotic Nitrogen Fixation. *The Plant Cell.*, 32(1): 15-41. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00279>
56. Shimizu-Sato, K., Shoji, Y., Tamura, M., Nagatani, A., & Okada, K. (2005). Reduced Sensitivity to Phytochrome B-Mediated Inhibition of Hypocotyl Elongation in

- Mutants Deficient in Cryptochrome 1 and Cry2. *Plant and Cell Physiology*, 46(5), 706-714. <https://doi.org/10.1093/pcp/pci065>
57. Schlaeppi, K., & Bulgarelli, D. (2015). Comment les microbiomes végétaux pourraient contribuer à la fitness de l'holobionte végétal. *Trends in microbiology*, 23(11), 629-641.
58. Svistoonoff S, Hocher V, Gherbi H. 2014. Actinorhizal root nodule symbioses : What is signalling telling on the origins of nodulation? *Curr. Opin. Plant Biol.*, 20: 11-18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.03.001>
59. Song ,W . ,Li,P . ,Wang,x . et al .(2014) .Le gène MtlB7 de *Medicago truncatula* est essentiel pour la résistance aux bactéries pathogènes. *Journal of Integrative Plant Biology*, 56(11),1067-1078 .
60. Tang Y, et al. An improved genome release (version Mt5.0) for the model legume *Medicago truncatula*. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(D1):D1069-D1076. doi: 10.1093/nar/gkz936
61. Timmons, C. R., Chai, Y., Cheng, H., Cooper, B., Deveau, A., Graham, I., ... & Young, N. D. (2009). The *Medicago truncatula* Reference Genome Sequence. *Nature Genetics*, 41(1), 1065-1069. <https://doi.org/10.1038/ng.361>
62. Thomas, H., Van Der Hoorn, R. A., & Jones, J. D. (2003). Protease Inhibitors in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 54, 279-307. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.135003>
63. Tonne, E. F., Mitchell, R. E., Johnson, A. A., McCoy, J. M., & Somers, D. A. (2014). Advancing the use of the model legume *Medicago truncatula* in breeding improved cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 5, 568. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00568>
64. the *medicago truncatula* ltp1 gene encoding a lipid transfer protein is involved in nodulation and mycorrhization .auteurs :estelle duplessis et al.journal :molecular plant-microbe interaction,2005. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1342343/>
65. Tamura, K., et al. (2003). "Functional analyses of an aluminum-induced putative oxalyl-CoA decarboxylase gene in *Arabidopsis*." *Plant Physiology*, 133(1), 73-83.
66. Udvardi, M. K., & Scheidle, A. (2012). Ingénierie métabolique chez les diazotrophes symbiotiques. *Plant science*, 192-193, 12-23.
67. Van de Velde, W., et al. (2010). "Nodule-specific cysteine-rich peptides from *Medicago truncatula* enhance the growth of symbiotic bacteria." *Science*, 327(5969), 1126-1129.

68. Wang, J., Chen, Q., Li, M. et al. (2015). Reconnaissance des signaux microbiens par MtLB7 dans *Medicago truncatula*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 28(8), 987-996.
69. Weller, J. L., Franklin, K. A., Smith, H., & Watson, S. M. (2009). Control of Flowering Time by the Autonomous Pathway. In *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)* (pp. 1-11). John Wiley & Sons Ltd.
70. Young, N. D., et al. (2011). "*Medicago truncatula*—the rising star of legume genomics". *Journal of Integrative Plant Biology*, 53(8), 580-599.  
<https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2011.01044.x>
71. Yan, J., He, X., Penfield, S., Niwa, Y., Takahashi, H., Yamashino, S., ... & Poethig, R. S. (2004). Integration of Environmental and Endogenous Cues at the Transition to Flowering in *Arabidopsis*. *Science*, 303(5659), 833-836.
72. <https://doi.org/10.1126/science.1091961>
73. Zhao, X., Han, Y., Li, X., Wang, Z., Lu, Y., Wu, J., ... & Wang, Y. (2016). Des réseaux de régulation génique complexes déterminent la compatibilité symbiotique chez les légumineuses. *Molécules végétales*, 9(4), 537-552.
74. Zipfel C, Oldroyd GED. 2017. Plant signalling in symbiosis and immunity. *Nat.*, 543: 328–336. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature22009>.

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : BILFANE HADDA

LAIB CHOUMAÏSSA

## Etude bioinformatique des gènes liés à l'interaction symbiotique « *Medicago truncatula* – *Sinorhizobium meliloti* »

### Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Bioinformatique

L'objectif du présent travail est la recherche de gènes impliqués dans la réponse aux interactions plante-microbe du l'interaction symbiotique du modèle biologique *medicago truncatula* – *sinorhizobium meliloti* par une analyse in silico de données de transcription issues de puces affymetrix et en utilisant un gène clé MTLB7 comme gène de référence.

Nous utilisons les données d'expression génique des puces Affymetrix, accessibles via la base de données Mtgea expliquant le processus de sélection des données, d'identification des gènes d'intérêt et d'analyse statistique réalisée à l'aide de Python. Il démontre également l'utilisation de MTGEA pour explorer les profils d'expression génique de *Medicago truncatula*, ainsi qu'un code qui analyse les interactions plante-microbe en filtrant les données, en calculant les distances euclidiennes entre les gènes et en produisant une visualisation sous la forme d'une carte thermique.

Les résultats obtenus montrent que les gènes impliqués dans cette réponse sont différents et appartiennent à plusieurs groupes comme : famille des nodulines tardives, famille des peptides riches en cystéine spécifiques aux nodules, protéines ubiquitin et liées au métabolisme et d'autres.

**Mots-clefs:** *Medicago truncatula*, *Sinorhizobium meliloti*, *Mtlb7*, interaction plante-microbe

**Président du jury** BOUHALOUF Habiba (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrant :** TEMAGHOULT Mahmoud (MAA – U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Examineur(s) :** KELLO Kamel (MAA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Date de soutenance : 10/06/2024**

