



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 : Biotechnologies

Spécialité : Bioinformatique

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Exploitation des données d'expression pour la recherche des gènes impliqués dans la réponse à la mycorhization chez la plante modèle *Medicago truncatula*

Présenté par : BOUABDALLAH Amina Malak Rayene.
MOUMENE Wafa.

Le : 10 Juin 2024

Jury d'évaluation :

Président : Mr. DAAS Mohamed Skander (MCA- UConstantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Mr. TEMAGOULT Mahmoud (MAA– U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examineur(s) : Mr. KELLOU Kamel (MAA- UConstantine 1 Frères Mentouri).

**Année Universitaire
2023 – 2024**

Dédicace :

À mes chères parents **Saïd** et **Farida**

À mon trésor

Ton départ avant quelques années a laissé un vide immense à l'intérieur de moi, Ton influence sur ma vie est éternelle en me rappelant de tes conseils en or, de ta tendresse et ta gentillesse, Papa Ton amour et ta sagesse ont façonné la personne que je suis aujourd'hui, Ce mémoire est dédié à toi, avec toute ma gratitude et mon amour infini. Tu es et tu resteras toujours mon idole et ma source de motivation et de puissance, que Dieu t'accorde la miséricorde infinie et t'accueille dans son vaste paradis.

À ma maman

Nulles dédicaces ne peuvent exprimer ce que je te dois, par ta prière, ta patience, ton amour et tes sacrifices infinis. Tu es une grande femme que je n'arrive jamais à trouver les mots pour te décrire ; Que cette réussite te rend assez fière de moi et que Dieu te garde pour nous tous ma précieuse.

À ma très chère sœur **Hiba**

Qui m'a donné tant de courage pour accomplir cette mission et qui a été toujours à mes côtés pour me soutenir jusqu'au bout que Dieu te donne une vie pleine de bonheur avec ta petite famille et te garde pour ton petit ange, ma chère nièce Letissia.

À mes oncles et mes tantes que Dieu leur donne que du bonheur.

Également à

Mon amie intime Amira avec qui je n'ai connu que de pur moment de bonheur et de joie, je te souhaite une vie joyeuse comme ta personne. Ainsi que mes amies adorables Lyna, Aya qui sont une amitié estimée avec leurs encouragements constants qui ont rendu chaque défi plus facile à surmonter. Et au dernier ma chère binôme Malak qui m'a accompagné durant mon parcours. Ta collaboration, ta persévérance et ta camaraderie ont rendu cette expérience non seulement productive mais aussi agréable ; Merci pour ton engagement, ta patience et ta précieuse amitié.

Merci à vous tous !

Wafa.

Dédicace :

À mon cher Papa NOFAYL

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es.

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

À ma chère maman Wafa

Ton amour inconditionnel, Ton soutien indéfectible et ta sagesse infinie ont illuminé chaque étape de mon parcours. Tu as été ma source d'inspiration, mon refuge et ma meilleure alliée dans toutes les épreuves. Sans Toi, ce mémoire n'aurait jamais vu le jour. Votre foi en moi a été le fondement de toutes mes réussites. Merci de m'avoir montré la force du courage et la valeur du travail acharné. Ce mémoire est dédié à toi, avec toute ma gratitude et mon amour éternel.

À ma petite sœur May

Grandir à tes côtés a été l'un des plus grands bonheurs de ma vie. Ta joie de vivre, ton sourire éclatant et ta curiosité sans fin m'inspirent chaque jour. Ce mémoire est dédié à toi, non seulement pour l'amour et le soutien que tu m'as apportés, mais aussi pour te rappeler que tout est possible avec du travail acharné et de la détermination. Egalement, que ce travail te serve de preuve que les rêves peuvent devenir réalité. Continue de briller, de croire en toi

À la douce mémoire de mes deux grands-pères et de ma grand-mère

PAPI, DJEDOU et MIMI

Votre départ en si peu de temps ma bouleversé mais votre amour et vos enseignements ont éclairé mon chemin et continuent de guider mes pas même après votre départ. Vous avez chacun laissé une empreinte indélébile sur mon cœur et sur mon esprit, m'inspirant à poursuivre mes rêves avec courage et détermination.

Votre sagesse, votre bienveillance et votre force restent gravées en moi. Ce mémoire est dédié à votre mémoire, en témoignage de ma gratitude éternelle pour tout ce que vous avez

apporté à ma vie. Que dieu vous accueille dans son vaste paradis, et que votre lumière continue de briller à travers ce travail et au-delà.

*A ma chère grand-mère **MANOU***

Il est des personnes qui illuminent notre vie par leur simple présence, et tu es l'une d'elles. Ta sagesse, ton amour inconditionnel et ta bienveillance ont toujours été des sources d'inspiration pour moi. Je te dédie ce travail, avec tout mon amour et ma gratitude.

*A mes chers oncles **CHARAF RAFIK, RIAD et WAHID***

*A ma chère tante **CHOUCHOU***

*À travers les méandres du temps, vos sourires ont illuminé les pages de ma vie, chaque instant partagé gravé dans les souvenirs de mon cœur. Vos conseils sages et vos étreintes chaleureuses ont été des phares dans les tempêtes, guidant ma route avec tendresse et bienveillance. Dans les recoins de ma mémoire, vos histoires et vos rires résonnent encore, tissant un précieux tissu d'amour familial qui me réconforte et m'inspire. Votre présence a été un cadeau inestimable, une boussole dans les moments d'incertitude et une source infinie de soutien. Je remercie en particulier **CHARAF** sans ton aide ce travail n'aurait jamais vu ce jour.*

*A **NAZLI***

*À mes adorables petits cousins **KENZI ILYANE NIBRAS** et **RISSEL**, les étoiles les plus brillantes dans le ciel de ma vie*

*A ma petite princesse **NELYA**, mon rayon de soleil, l'étoile brillante dans mon ciel*

*A mes adorable amies **DYNA, LYNA** et **LILYA***

Dans les méandres de la vie, vous avez été mes phares, vous êtes les piliers de mon univers les éclats de lumière dans mes jours sombres, les gardiennes de mes secrets les plus précieux. Ensemble, nous avons tissé une toile de souvenirs inoubliables, tressant nos rires, nos larmes et nos rêves dans un éclatant tapis d'amitié. Votre soutien indéfectible a été ma force dans les moments de doute, et votre amour inconditionnel a été ma boussole dans les tempêtes de la vie. Que notre amitié perdure comme un précieux trésor, traversant les saisons et les années avec la même tendresse et la même complicité. À vous, mes sœurs de cœur, je dédie ces mots avec une profonde gratitude et un amour infini.

A ma chère binôme

Ton soutien indéfectible et ta précieuse amitié ont été des piliers tout au long de cette aventure académique. Ensemble, nous avons surmonté les défis et célébré les réussites, et c'est grâce à toi que ce chemin a été si enrichissant et mémorable. Ta détermination, ton intelligence et ta bonne humeur m'ont inspirée chaque jour. Merci pour les éclats de rire, les discussions profondes et les innombrables heures de travail partagées. Ce mémoire est autant le tien que le mien, et je suis honorée de l'avoir écrit à tes côtés.

And FREE PALESTINE

Merci à vous tous !

MALAK.

Remerciement

«يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ»

L'homme propose mais Dieu dispose, dans cette vie il est impossible de réaliser tout travail sans l'aide du plus puissant. Tout d'abord, nous exprimons notre gratitude envers notre créateur qui nous a accordé la force, le courage, la volonté et la santé nécessaires pour en être là aujourd'hui et réaliser ce modeste travail.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude envers notre encadrant,

« Monsieur TAMAGHOULT Mahmoud »,

Qui a supervisé ce travail. Il s'est toujours montré attentif et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire. Nous vous remercions également pour votre inspiration, votre aide et vos précieux conseils qui ont contribué à l'accomplissement de ce modeste travail. Nous apprécions également sa patience.

Nous remercions les membres du jury pour leur présence honorable afin d'évaluer ce travail modeste,

« Monsieur DAAS Mohamed Skander »

Pour présider le jury et d'apporter ses regards d'expert sur ce travail et

« Monsieur KELLOU Kamel »

Pour l'examen et le jugement de ce travail. Nous sommes très honorées que vous acceptiez de juger ce travail.

Afin de n'oublier personne, nous tenons à exprimer notre sincère gratitude envers tous ceux qui nous ont soutenus dans la réalisation de ce mémoire.

SOMMAIRE

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Listes des tableaux	
Introduction	1
Chapitre - I : Revue Bibliographique	
I.1	Présentation du modèle Biologique. 2
I.1.1	Origine 2
I.1.2	Distribution géographique 2
I.1.3	<i>M.truncatula</i> plante modèle 3
I.1.4	Botanique 4
I.1.5	Systématique et classification. 5
I.1.6	Cycle de vie 6
I.1.7	L'intérêt de cette plante modèle 6
a)	L'intérêt économique 6
b)	L'intérêt scientifique : <i>Medicago Truncatula</i> comme modèle biologique pour l'étude Des légumineuses :. 7
I.2	Définition de la symbiose. 7
I.2.1	Les différents types de la symbiose 7
I.2.1.1	Une symbiose mutuelle 7
I.2.1.2	Une symbiose commensale 7
I.2.1.3	Une symbiose parasitaire 7
I.2.1.4	Une symbiose chez les plantes 7
I.3	Définition de la <i>mycorrhization</i> 7
I.4	Les mycorhizes 8
a)	Les endomycorhizes 9
a.1)	Les arbuscules 9
b)	Les ectomycorhizes 10
I.4.1	Le rôle des mycorhizes. 11
I.4.2	Les effets de la mycorrhization 11
a)	L'amélioration de l'absorption des nutriments. 11
b)	La réponse transcriptionnelle aux stress 12
I.4.3	Les avantages de la mycorhizes. 12
I.5	Description du gène d'intérêt PHR2 12
I.5.1	L'intérêt et le rôle du gène PHR2 13
a)	Régulation de la Réponse à la Carence en Phosphate. 13
b)	Interaction avec la Symbiose Mycorhizienne 13
c)	Amélioration de la Croissance et du Rendement des Plantes 13
I.6	Le but du travail. 14
Chapitre - II : Matériels et Méthode	
II	Matériels et Méthodes 15
II.1	Matériel 15
II.2	Méthode 16
II.2.1	Recherche du Probs et ID correspondant au gène PHR2 16

II.2.2	Collecte des données d'expression du gène PHR2 en conditions de mycorhization	18
II.2.3	Les conditions relatives aux interactions plantes migroorganismes	20
II.2.4	Collecte des données d'expression de gènes relatives à la mycorhization	20
II.2.5	Calcule de distance par python	21

Chapitre - III : Résultats et discussion

III	Résultats et discussion.	
III.1	Résultats.	26
III.2	Discussions.	28
	Conclusion et perspectives.	30
	Références bibliographiques	31

Résumé :

Exploitation des données d'expression pour la recherche des gènes impliqués dans la réponse à la mycorhization chez la plante modèle *Medicago truncatula*.

L'objectif du présent travail est la recherche des gènes impliqués dans la réponse à la mycorhization, dans la racine du modèle biologique *M.truncatula* par une analyse *in silico* de données de transcription issues de puces *Affymetrix* ,Et en utilisant un gène clé dans la solubilisation du phosphore comme gène de référence PHR2.

Le heatMap donné par le programme python montre que les 20 gènes sont proches du gène de référence PHR2 avec des distances données.

Les résultats obtenus montrent que les gènes impliqués dans la réponse de la mycorhization sont très proches d'une distance approximative.

Mot clés: Mycorhization, Symbiose, *Medicagotruncatula*, PHR2, Phosphore.

Abstract:

Exploitation of Expression Data for the Search of Genes Involved in the Mycorrhization Response in the Model Plant *Medicago truncatula*.

The objective of this work is to search for genes involved in the mycorrhization response in the roots of the biological model *M. truncatula* through an in silico analysis of transcription data from *Affymetrix* microarrays, using a key gene in phosphorus solubilization, PHR2, as a reference gene.

The heatmap provided by the Python program shows that the 20 genes are close to the reference gene PHR2 with given distances.

The results obtained show that the genes involved in the mycorrhization response are very close at an approximate distance.

Keywords: Mycorrhization, Symbiosis, *Medicagotruncatula*, PHR2, Phosphorus.

ملخص

استغلال بيانات التعبير للبحث عن الجينات المشاركة في الاستجابة للتكافل الفطري عند النبات النموذجي
Medicago truncatula.

هدف هذا العمل هو البحث عن الجينات المشاركة في الاستجابة للتكافل الفطري في جذور النموذج البيولوجي
M. truncatula من خلال تحليل بيانات النسخ الناتجة عن شرائح *Affymetrix* باستخدام جين رئيسي في إذابة
الفسفور كجين مرجعي PHR2 .
يُظهر خريطة الحرارة المقدمة من برنامج بايثون أن الجينات العشرين قريبة من الجين المرجعي PHR2 مع
مسافات محددة.
النتائج التي تم الحصول عليها تظهر أن الجينات المشاركة في الاستجابة للتكافل الفطري قريبة جداً من مسافة
تقريبية.

الكلمات المفتاحية : التكافل الفطري، التعايش، *Medicago truncatula*، PHR2، الفوسفور

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN :	Acide désoxyribonucléique.
AM :	Mycorhize arbusculaire.
ATP :	adénosine triphosphate
BLAST :	Basic Local Alignment Search Tool.
CVI :	Craig Venter.
DPU :	Distnace to PHR2 upstream
GI :	<i>Glomus intraradices</i>
GM :	<i>Glomus mousseae</i>
IDLE :	Integrated Development and Learning Environment.
LEGOO :	Medicagotruncatula knowledge base.
Mm :	Micromoles
MPU :	Modulation proximity to PHR2 upstream
MTGEA :	<i>Medicago truncatula</i> Gene Expression Atlas.
MYC :	Mycorhization
P :	Phosphore
PHR2 :	Phosphate starvationresponse 2.
PHT1 :	Phosphate transporter 1.
PI :	phosphore inorganique
RNAm :	Acide ribonucléique messenger.
RNAseq :	Séquençage de l'ARN.
TAIR :	The Arabidopsis Information Resource
Um :	Millimoles
WK :	Week

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Distribution géographique de <i>M. truncatula</i> .	3
Figure 2	La fleur (a) et le fruit (b) de <i>M. truncatula</i> .	4
Figure 3	Aspect morphologique de <i>M. truncatula</i> .	5
Figure 4	Mycorhizes sur racine	8
Figure 5	Photographie de mycorhize au microscope Gx400.	8
Figure 6	Endomycorhize	9
Figure 7	Ectomycorhizes	10
Figure 8	Schéma d'une ectomycorhize et d'une endomycorhize	10
Figure 9	Schème d'une mycorhization.	11
Figure 10	Interface du moteur de recherche LeGOO.	17
Figure 11	Interface du moteur de recherche MtGEA.	18
Figure 12	Interface du moteur de recherche d'ID du gène PHR2.	19
Figure 13	Le profil d'expression du gène PHR2 sur MtGEA.	19
Figure 14	Heatmap donnée par le programme python qui montre les 20 gènes les plus proches avec leurs distances	26

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Représentation des divers identifiants du gène PHR2.	16
Tableau 2	Représentation d'identifiant probset ID du gène PHR2 de <i>M. truncatula</i> .	17
Tableau 3	Les données relatives aux interactions	20
Tableau 4	Les données des gènes relatives à la mycorhization.	20
Tableau 5	Les probSet des 20 gènes les plus proche avec leur distance	27

INTRODUCTION

Introduction

La dynamique des écosystèmes terrestres repose sur les interactions entre les plantes et les microorganismes tels que les champignons. Ces interactions sont souvent complexes et variées et qui jouent un rôle important dans la santé, la croissance et la maturation des plantes ; Parmi ces influences réciproques, la mycorhization se distingue par son importance écologique et agronomique.

Les données concernant la mycorhization et le rôle du gène PHR2 (Phosphate Starvation Response 2) peuvent être interprétées en utilisant différents outils informatiques, Et de cette combinaison interdisciplinaire est née la bio-informatique qui trouve son champ d'application dans l'analyse et l'interprétation des données biologiques, en utilisant des techniques informatiques pour réduire le temps et les dépenses des projets de recherche.

L'utilisation de la plante *Medicago truncatula*, qui est un organisme modèle de la famille des légumineuses, A pour but de saisir ces processus symbiotiques. En particulier en raison de sa capacité à créer des liens bénéfiques avec des champignons mycorhiziens. Dans ce contexte, la réponse de la plante à la carence en phosphore est régulée par le gène PHR2, qui est un élément nutritif essentiel souvent insuffisant dans les sols.

Dans cette optique, cette étude vise à identifier les gènes qui jouent un rôle dans les interactions entre les plantes et microorganismes dans la racine du modèle biologique *M. truncatula*, en utilisant une analyse in silico des données de transcription provenant de puces Affymetrix.

Ce mémoire est donc organisé en trois principaux chapitres :

- ❖ Un chapitre introductif qui présente une synthèse bibliographique sur le sujet du projet.
- ❖ Un chapitre supplémentaire consacré à la présentation du matériel et des diverses techniques employées.
- ❖ Le chapitre suivant portera sur la gestion des résultats obtenus et leur échange.

Enfin, une conclusion avec la mise en lumière de quelques points de vue.

CHAPITRE - I

Revue Bibliographique

I.1 Présentation du modèle biologique : *Medicago truncatula*

I.1.1 Origine :

Medicago truncatula est une espèce végétale herbacée des régions méditerranéennes exactement en Afrique du Nord, plus précisément l'Algérie, les formes les plus anciennes des espèces de *Medicago* auraient été pérennes probablement ligneuse et allogames, Il est reconnu que les aires d'origine de toutes les espèces du genre *Medicago* sont originaire du Croissant Fertile. Le nom "*Medicago truncatula*" est dérivé du latin "*truncatulus*", qui signifie "Tronqué" ou "écourté", en référence aux gousses écourtées de la plante. Cette espèce est largement utilisée en recherche en tant que modèle pour l'étude des légumineuses, en raison de son temps de génération court, de sa petite taille, de sa production abondante de petites graines, de sa capacité à être transformée génétiquement et de sa proximité génétique avec les légumineuses cultivées en Europe.

I.1.2 Distribution géographique :

La distribution géographique de *M. truncatula* comprend plusieurs régions, notamment l'Algérie où cette espèce est originaire. C'est une espèce localisée principalement dans les zones méditerranéennes chaudes et de basse altitude, Elle est également présente dans d'autres pays, contribuant à des collections mondiales de ressources génétiques tels qu'en Turquie, Iran, Irak, sud du Caucase. Au XIXe siècle le *Medicago* envahie d'autres parties du monde sur le continent Américain et en Australie, Dans ce dernier *M. truncatula* occupe une place importante dans les systèmes prairiaux, avec plus de 4,5 millions d'hectares cultivés. Cette espèce est largement étudiée en tant qu'espèce modèle pour la recherche génomique sur les légumineuses d'intérêt agronomique (**Delalande et al, 2007**).

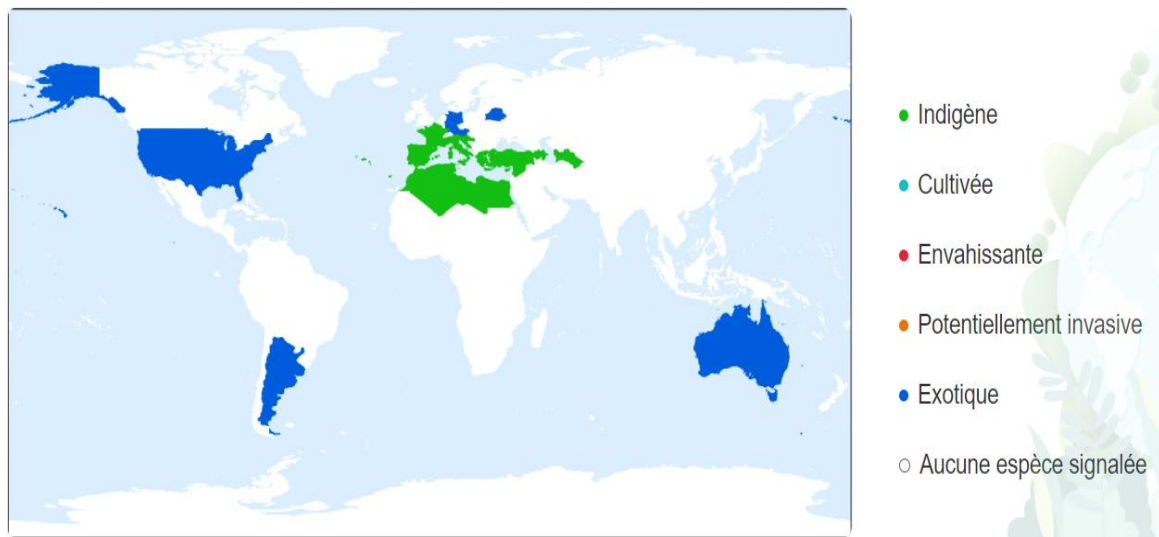


Figure 1 : Distribution géographique de *M. Truncatula*

I.13 *M. truncatula* plante modèle

Les caractéristiques de *M. truncatula* permettent et facilitent les analyses génétiques et moléculaires : autogamie, faible niveau de ploïdie, embryogenèse somatique et transgénèse, transformation agrobacterium tumefaciens, ainsi qu'une bonne capacité à s'associer à *Sinorhizobium* ou à la symbiose endomycorhizienne (**Denarie et Gamas, 2001**). De plus, elle abrite de nombreux agents pathogènes tels que des champignons, des virus, des bactéries et des oomycètes qui attaquent les légumineuses cultivées (**Tivoli et al., 2006 et Rose, 2008**). Par ailleurs, le temps nécessaire pour générer des gaines à graine est relativement court et la production est élevée, ce qui garantit une disponibilité rapide du matériel.

Medicago est une espèce de légumineuses cultivées qui est diploïde ($2n = 16$), contrairement à d'autres espèces allogame comme la luzerne (*M. sativa*). Son génome est petit : on estime qu'il a 500 à 550 Mbp, soit 3 à 4 fois plus grand que celui d'*A. thaliana*, équivalent à celui du riz et environ dix fois moins grand que celui du pois (**Denarie et Gamas, 2001 ; Young et al., 2003**).

Une coordination mondiale est créée, qui organise et concerne les efforts de recherche à l'échelle mondiale sur *M. truncatula*, la plante modelée, à l'instar du réseau de *A. thaliana*. En vue de l'approfondissement des connaissances physiologiques, moléculaires et génétiques de cette famille de plantes.

I.1.4 Botanique

M. truncatula est une espèce végétale herbacée, également connue sous le nom de luzerne tronquée ou encore la luzerne sauvage, fait partie des luzernes surnommées « Medics ». Cette une plante annuelle appartenant à la famille botanique des Fabacées, plus couramment nommées Légumineuses ou Papilionacées (Doyle and Luckow, 2003).

Le nom *M. truncatula* vient du genre *Medicago*, qui est dérivé du mot grec "medikos" signifiant "guérison" ou "curatif", faisant référence aux propriétés médicinales de certaines espèces de ce genre. Le terme spécifique "truncatula" est dérivé du mot latin "truncus" signifiant "tronc" ou "tige", et du suffixe "-ula" signifiant "petit", en référence à l'apparence tronquée du fruit de cette espèce. Ce nom a été donné à l'espèce en raison de l'apparence tronquée de son fruit, qui est une caractéristique distinctive de cette espèce.

La plante mesure généralement 20-40 cm de hauteur, couchée ou ascendante, pubescente, couverte de poils fins, porte des feuilles trifoliolées obovales à bords dentés. Les fleurs sont petites et jaunes groupées en racèmes et portées sur de courts pédoncules généralement plus courts que les feuilles. La fleur hermaphrodite a une longueur comprise entre 5 et 8 mm, contient 10 ovules, des étamines diadelphes. Le fruit est une grande gousse subcylindrique en forme de vrilles, glabres, très dures, comprenant 2 à 8 spires jointives et serrées, aux épines recourbées, souvent perpendiculaires au plan de spires. Elles contiennent de 3 à 12 graines Le poids de 1 000 graines varie de 3.3 à 6 g (Huguet T et al, 1995), (Lesins et Lesins, 1979).



(a)



(b)

Figure 2 : La fleur (a) et le fruit (b) de *Medicago truncatula*

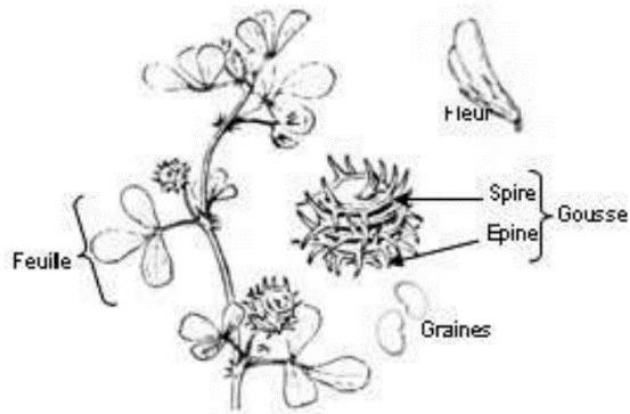


Figure 3 : Aspects morphologiques de *Medicago truncatula*

I.1.5 Systématique et Classification : :

M. truncatula appartient à l'ordre des *Fabales* et à la famille des *Fabaceae* (ex légumineuses), cette famille comprend plus de 14 000 espèces réparties en trois sous-familles : les Césalpiniées, les Mimosacées et les Papilionacées. Les Papilionacées renferment deux clades : les *Phaseolides* d'origine tropicale (ex. le soja *Glycine max*) et les *Galégoïdes* d'origine tempérée de l'hémisphère nord comme les pois et la luzerne (**Doyle et al, 2003**).

Règne : *Plantae*.

Division : *Magnoliophyta*.

Classe : *Magnoliopsida*.

Ordre : *Fabales*.

Famille : *Fabaceae*.

Sous-famille : *Papilionoideae*.

Tribu : *Trifolieae*.

Genre : *Medicago*.

Espèce : *Medicago truncatula*.

I.1.6 Cycle de vie :

Le modelé *M. Truncatula* est une légumineuse annuelle à cycle de vie court connue pour sa production autogame avec un temps de génération de 10 à 12 semaines avec et une capacité à produire abondamment des graines (500 à 1000 par plante).

Le cycle débute par la germination de la graine, donnant naissance à une plantule fragile avec des cotylédons, Cette dernière se développe ensuite et donne une plante robuste, portant des feuilles composées et une tige ramifiée, Quelques semaines Après, la plante fleurit, produisant de petites fleurs violacées, les fleurs fécondées se transforment en gousses, ces derniers grossissent et mûrissent, contenant chacune plusieurs graines. À maturité, les gousses sèchent et s'ouvrent, libérant les graines dans l'environnement.

I.1.7 L'intérêt de cette plante modelé :

a) Intérêt économique :

M. Truncatula a souvent des populations spontanées qui sont fréquemment exploités dans les zones de parcours Cette espèce est très peu cultivée dans le bassin méditerranéen. Contrairement à cela, dans les systèmes prairiaux australiens, *M. Truncatula* joue un rôle essentiel avec plus de 4,5 millions d'hectares cultivés, ce qui en fait l'espèce la plus cultivée parmi les médics. Les cultivars choisis en Australie se distinguent principalement par leur précocité et leur aptitude à s'adapter aux conditions pédoclimatiques. (Nair et al, 2006).

Selon Le Gall (1993), *M. Truncatula* réduit les pertes de nitrate par lessivage, améliore la structure des sols et prévient l'érosion. Elle contient une grande quantité d'acides aminés (indispensables pour les protéines végétales), ainsi que de minéraux tels que les minéraux.

b) intérêt scientifique

La spécifié de la famille des légumineuses est leur aptitude à fixer l'azote atmosphérique grâce à une symbiose avec microorganismes du sol. Cette famille botanique a un important intérêt génomique que nous allons exposer brièvement parmi les légumineuses cultivées on compte : les légumineuses à graines et légumineuses à fourragères utilisés à tout environnement comme par exemple : la diminution de la fertilisation azotée chimique et par conséquent la réduction de la pollution , la diversification dans les rotations

agricoles prévenant les développements des adventices et parasites , leurs système racinaire développé favorise la conservation du sol et assure une production de matière organique importante (**Ahmed et al .1984**).

I.2 Définition de la symbiose

La symbiose est une relation durable et bénéfique entre deux organismes hétérospécifiques (organismes différents). Elle peut être nécessaire ou optionnelle (la symbiose est souvent observée entre les micro-organismes appelés "symbiotes" et les plantes ou les animaux). Ainsi, cette association peut présenter des avantages pour les deux organismes, tels que la "symbiose mutuelle", la "symbiose commensale", ou la "symbiose parasitaire", qui est bénéfique pour un organisme et neutre pour l'autre.

1.2.1 Les différents types de la symbiose

1.2.1.1 Une symbiose mutuelle : les deux organismes bénéficient de la relation. Par exemple, chez l'homme, les bactéries intestinales contribuent à la digestion des aliments, ce qui leur permet de profiter d'un environnement stable et de nutriments fournis par l'hôte.

1.2.1.2 Une symbiose commensale : Par exemple, les bactéries présentes dans l'intestin humain contribuent à la digestion des aliments, ce qui leur permet de profiter d'un environnement stable et de nutriments fournis par l'hôte.

1.2.1.3 Une symbiose parasitaire : un organisme bénéficie de la relation aux dépens de l'autre. Par exemple, les tiques se nourrissent du sang d'animaux ou d'humains, ce qui peut entraîner des maladies ou des infections chez l'hôte.

1.2.1.4 La Symbiose chez les plantes : La symbiose chez les plantes peut prendre différentes formes et peut impliquer une variété d'organismes, notamment des champignons, des bactéries et même d'autres plantes.

1.3 Définition de La mycorhization :

La mycorhization est la formation de mycorhizes sur les racines d'une plante, ou encore l'inoculation des racines d'une plante avec un système mycorhizien. 95 % des plantes vasculaires forment cette association de symbiose avec la mycorhizosphère.

Myco = champignon, rhizo = racine.

Ce processus de Mycorhization implique la coexistence des racines d'une plante avec des souches de champignons préalablement sélectionnés. Cette « **association** » a pour objectif de créer une symbiose entre la plante et le champignon.

Signification "mycorhization" publiée le 11/05/2021 (mise à jour le 17/03/2023).



Figure 4 : Mycorhizes sur racine (©Wikimedia Commons, André-PH, D. Picard)

1.4 Les Mycorhizes :

Le mycorhize résulte d'une cohabitation entre un champignon et une plante commune. La symbiose correspond à un type de relation entre deux organismes à « bénéfice mutuel », c'est-à-dire que les deux organismes bénéficient de l'union.

Le champignon va coloniser les racines de la plante par ses hyphes, de fins filaments capables d'explorer un grand volume de sol.



Figure 5 : Photographie de mycorhize prise au microscope G x400

a) Endomycorhize

Ce phénomène est très fréquent lorsque le champignon se développe à l'intérieur des cellules de la racine : environ 80 % des plantes vasculaires sont associées en endomycorhize.

La formation de mycorhizes crée une voie mycorhizienne arbusculaire pour l'absorption de Pi (MPU), qui interagit avec le DPU (Smith et al., 2003, 20042004).

Les champignons mycorhiziens à Arbuscules (AM) (Glomus, un champignon endomycorhizien, est bénéfique pour les végétaux cultivés) sont les plus répandus dans le sol. Leur nom découle des structures qu'ils forment dans les cellules racinaires des plantes.

a.1) Les arbuscules

Des structures très ramifiées qui se forment au sein d'une cellule et qui constituent un important site d'échange métabolique entre la plante et le champignon. Certaines espèces de champignons à arbuscules présentent également des vésicules. Il s'agit de sacs, qui se forment à partir d'hyphes, qui sont des organes de stockage de lipides.



Figure 6 : Endomycorhize

b) Ectomycorhizes

Les champignons ectomycorhiziens sont également présents dans la nature, notamment dans les écosystèmes forestiers. Au pied des arbres qu'ils colonisent, ces champignons peuvent créer des structures reproductives visibles (champignons). Entre les cellules racinaires, les champignons ectomycorhiziens se développent sans les envahir. Leurs hyphes s'étendent à l'extérieur, créant un enroulement dense appelé manteau fongique.



Figure 7 : Ectomycorhizes

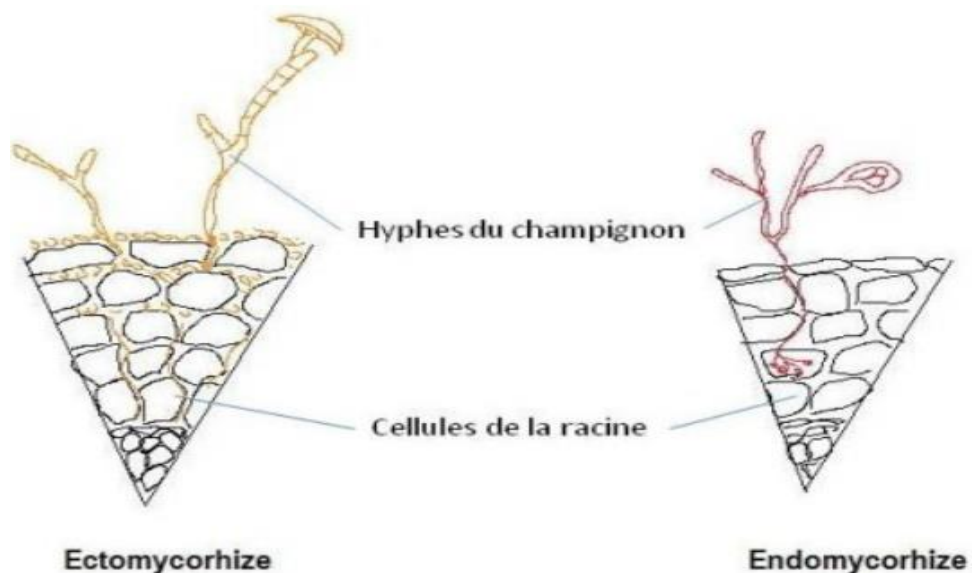


Figure 8 : Schéma d'une ectomycorhize et d'une endomycorhize

(Nil-the-Frogg, Wikimedia Commons)

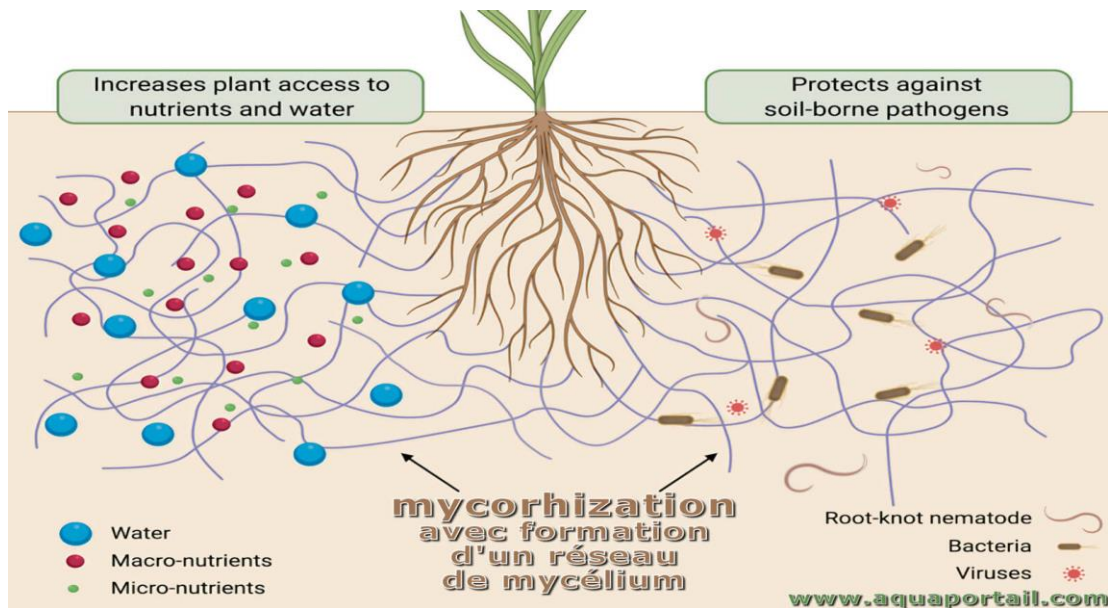


Figure 9 : Schéma d'une mycorhization

1.4.1 Le rôle des mycorhizes :

Le phosphore soluble est peu disponible dans le sol, les mycorhizes jouent un rôle essentiel dans la **mise à disposition de cet élément pour la plante**. Elles libèrent du Pi (phosphate inorganique) à partir de formes insolubles du sol et sont plus efficaces pour son absorption que la plante elle-même. Le réseau d'hyphes permet une meilleure exploration du sol. Enfin, les mycorhizes sont également un lieu de stockage de polyphosphates qui seront dégradés et transférés à l'hôte en cas de besoin.

De manière générale, la symbiose permet une amélioration de la nutrition hydrique et azotée, une accumulation de métaux lourds et une augmentation de la résistance aux pathogènes.

1.4.2 les effets de la mycorhization :

a) L'amélioration de l'absorption des nutriments

Les champignons mycorhiziens arbusculaires (AM) Renforce l'absorption de phosphore par *M. Truncatula*, ce qui améliore la croissance et la santé globale de la plante. Cette interaction symbiotique permet une meilleure exploitation des ressources en phosphore dans le sol (**Frontiers in Plant Science, 2014**).

b) la réponse transcriptionnelle aux stress :

M. Truncatula montre des réponses transcriptionnelles significatives lorsqu'elle est associée à des champignons mycorhiziens, en particulier en cas de carence en soufre. Ces réponses incluent l'activation de gènes liés à l'absorption et au métabolisme du soufre, améliorant ainsi la résilience de la plante face aux stress nutritionnels (**Frontiers in Plant Science, 2014**)

1.4.3 Les avantages des mycorhizes :

Les champignons mycorhiziens favorisent l'absorption de plus de nutriments et d'eau présents dans le sol par les plantes. Ils renforcent également la capacité à faire face aux divers stress environnementaux. Ces champignons ont également un rôle essentiel dans l'aggrégation des particules du sol et favorisent l'activité microbienne. La mycorhization présente des bénéfices pour les végétaux et l'environnement en fonction de l'espèce, des pratiques et des conditions de culture.

- ✓ Produit des plantes plus énergiques et en bonne santé.
- ✓ Apporte une meilleure stabilité aux plantes et leur longévité lors du semis ou de la transplantation.
- ✓ Optimise la productivité et la qualité des récoltes.
- ✓ Améliore la résistance à la sécheresse, ce qui permet de diminuer les arrosages.
- ✓ Améliore la croissance des fleurs et des fruits.
- ✓ Facilite l'emploi des fertilisants, en particulier du phosphore.
- ✓ Élargit la capacité du sol à supporter la salinité Réduit la fréquence des maladies.
- ✓ Contribue à préserver la qualité du sol et au cycle des nutriments.
- ✓ Assiste à la maîtrise de l'érosion du sol.

1.5 Description du gène PHR2 :

PHR2 (Phosphate Starvation Response 2)

Le gène PHR2 joue un rôle crucial dans la gestion de la pénurie de phosphate chez les végétaux. En régulant l'activité des transporteurs de phosphate et en favorisant la coexistence avec les mycorhizes, PHR2 favorise une meilleure absorption et utilisation de ce nutriment essentiel, ce qui favorise leur croissance et leur développement optimal.

En ce qui concerne la mycorhization, l'association symbiotique entre les racines des plantes et les champignons mycorhiziens, PHR2 joue également un rôle important, car les mycorhizes permettent aux plantes d'absorber plus efficacement les nutriments du sol, y compris le phosphate.

1.5.1 L'intérêt et le rôle du gène PHR2 :

A) Régulation de la Réponse à la Carence en Phosphate :

A.1) Activation de gènes cibles :

Un facteur de transcription appelé PHR2 s'active lorsqu'il y a une faible disponibilité de phosphate. Son interaction avec des éléments particuliers dans les promoteurs de gènes cibles entraîne une augmentation de leur expression.

A.2) Expression des transporteurs de phosphate :

L'expression de transporteurs de phosphate de haute affinité (tels que PHT1) est stimulée par PHR2, ce qui facilite l'absorption du phosphate du sol par les racines, surtout dans des conditions où ce nutriment est rarement disponible.

B) Interaction avec la Symbiose Mycorhizienne :

B.1) Promotion de la mycorhization :

PHR2 joue un rôle clé dans la facilitation de la symbiose mycorhizienne, une association bénéfique entre les racines des plantes et les champignons mycorhiziens. Cette symbiose améliore l'absorption des nutriments, y compris le phosphate.

B.2) Régulation de gènes symbiotiques :

L'expression des gènes essentiels à la mise en place et au maintien de cette symbiose est coordonnée par PHR2, ce qui accroît la capacité des plantes à consommer du phosphate à travers leurs partenaires mycorhiziens.

C) Amélioration de la Croissance et du Rendement des Plantes :

C.1) Adaptation aux sols pauvres en phosphate :

En contrôlant la réaction des plantes face à une pénurie de phosphate, PHR2 favorise une meilleure adaptation et une survie des plantes dans des sols dépourvus de ce nutriment.

1.6 Le but de ce travail :

Le but de ce travail est la recherche de gènes impliqués dans la réponse à la mycorhization par rapport à un gène de référence. A l'aide des outils bioinformatique on va chercher les gènes qui ont le même profil d'expression que de notre gène de référence et qui s'activent dans les mêmes conditions de la réponse à la mycorhization et jouent un rôle dans ce dernier.

CHAPITRE - II

Matériels et Méthode

II. Matériels et méthode :

II.1 Matériel :

L'utilisation d'un ensemble de données d'expression de gènes provenant de puces de type Affymetrix souvent simplement appelées **puces à ADN Affymetrix** ou **puces GeneChip** (leur nom commercial) ou bien **microarrays**.

Affymetrix était une entreprise leader dans le domaine des puces à ADN, mais elle a été rachetée par Thermo Fisher Scientific en 2011. Les puces GeneChipsont toujours produites et commercialisées sous la marque Thermo Fisher Scientific.

Il s'agit d'outils performants employés pour étudier l'expression génique. Elles offrent la possibilité d'évaluer en même temps l'expression de milliers de gènes dans un échantillon spécifique, qui sont disponibles en ligne sur la base de données Mtgea.

Les puces à ADN Affymetrix se distinguent des autres types de puces à ADN principalement par leur méthode de fabrication.

En théorie, On peut mesurer l'abondance absolue de chaque ARNm transcrit en utilisant des puces à oligonucléotides de type Affymetrix. Ses derniers utilisent la synthèse in situ, où des centaines de milliers des séquences d'oligonucléotides de petite taille sont fixées par photolithographie et chimie combinatoire sur une matrice de verre ou silicium à des emplacements spécifiques.

On amplifie, fragmente et marque les ARNm de l'échantillon à analyser à l'aide d'un système de couplage biotines-treptavidine pour l'hybridation sur la puce. Une quinzaine de sondes représentent chaque gène sur la puce, composées d'oligonucléotides courts de 20 à 25 bases qui correspondent à des portions spécifiques du gène. Chaque collection d'oligonucléotides est désignée sous le nom de ProbSet et à elle est associé un identifiant (ProbSet ID). Il est possible d'obtenir une estimation directe du niveau d'expression de chaque gène en calculant le signal moyen sur toutes les sondes représentant le gène.

II.2 Méthodes :

L'approche de travail commence par la recherche de notre gène de référence d'abord et de son identification Probset, puis la collecte des informations nécessaires sur l'expression de notre gène référant PHR2. Après cela, il faut recueillir et trier les données d'expression des gènes liées aux interactions plantes-microorganisme qui ont le profil d'expression que notre gène. Et se conclut par une étude statistique réalisée par notre outil de programmation PYTHON.

II.2.1 Recherche du Probset ID correspondant au gène PHR2 :

L'orthologue (deux séquences homologues de deux espèces différentes) du gène PHR2 dans le génome d'*A. thaliana* est représenté par la séquence nucléotidique utilisée. Cette séquence a été récupérée sur la banque de données Genbank à partir du moteur de recherche TAIR, sous l'identifiant «AT2G47590».

On a effectué un blast « N » sur la banque de données pour récupérer la séquence correspondante sur le génome de *M. truncatula* en partant de cette séquence de base.

Tableau 1 : Représentation des divers identifiants du gène PHR2

PHR2	TAIR	Genbank	Craig Venter
Organisme	<i>A. thaliana</i>	<i>A. thaliana</i>	<i>M. truncatula</i>
Identifiant	AT2G47590	NM_130327.4	Medtr7g098250

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

L'identifiant obtenu sur CVI a permis de trouver la ProbSet ID correspondante sur le moteur de recherche LeGOO. Le *Medicago truncatula* Knowledge Base, également connu sous le nom de LeGOO, est une base de données approfondie dans le domaine du modèle de légumineuse *M. truncatula*. L'objectif de cette base de données est d'assister la communauté de *Medicago* et de légumineuses dans l'exploitation optimale des données collectées sur cette

espèce. Les informations disponibles sur LeGOO comprennent l'annotation fonctionnelle des gènes, l'expression génique, le méthylome, la diversité naturelle et les mutants d'insertion disponibles. En outre, LeGOO offre des outils de navigation permettant d'explorer diverses espèces. Cette base de connaissances est conçue pour récupérer et représenter des informations biologiques à partir de publications exploitées par des paires. Les informations sont modélisées à l'aide d'une base de données orientée graphique, avec plus de 200 000 relations provenant de 298 publications. En bref, LeGOO constitue une ressource précieuse qui offre une multitude d'informations sur *M. truncatula* et facilite l'analyse des données produites pour cette espèce.

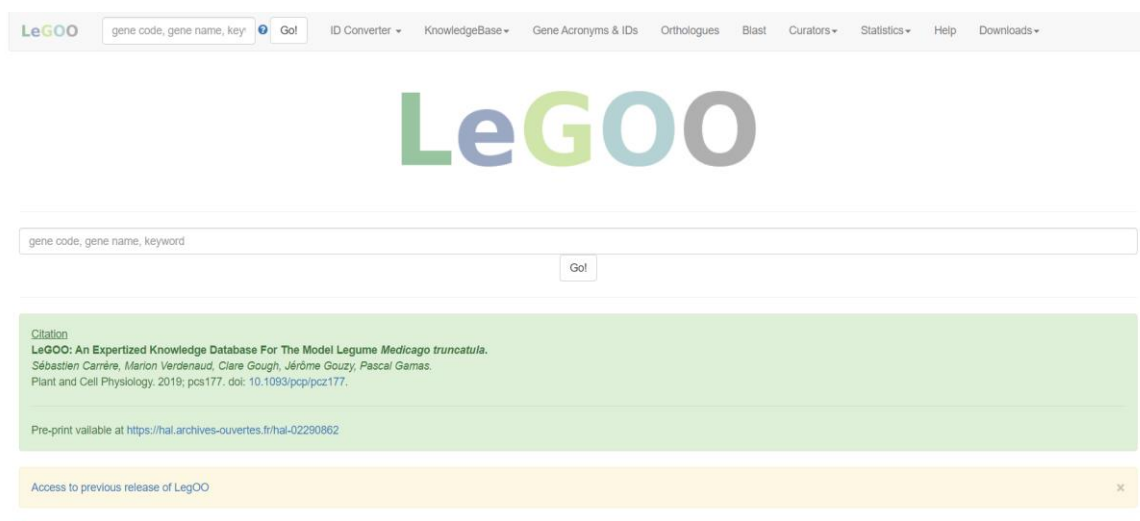


Figure10 : Interface du moteur de recherche LeGOO

Tableau 2 : Représentation d'identifiant probset ID du gène PHR2 de *M. truncatula*

PHR2	CVI	LEGOO
Organisme	<i>M.truncatula</i>	<i>M.truncatula</i>
Identifiant	Medtr7g098250	Mtr.23852.1.S1_at


II.2.2 Collecte des données d'expression du gène PHR2 en conditions de mycorhization :

Medicago truncatula Gene Expression Atlas(MtGEA) est la ressource bioinformatique qui rassemble et intègre les informations et les données d'expression génique provenant du séquençage d'ARN (RNAseq) et des puces à ADN (GeneChip) pour le modèle de légumineuse *M. truncatula*.

Medicago truncatula Gene Expression Atlas
LIPME - INRAE/CNRS


Citation

MtExpress, a Comprehensive and Curated RNAseq-based Gene Expression Atlas for the Model Legume *Medicago truncatula*.
Sebastien Carrere, Jerome Verdier, Pascal Gamas.
Plant Cell Physiol. 2021 Jul 10;pcab110. doi: [10.1093/pcp/pcab110](https://doi.org/10.1093/pcp/pcab110) PMID: [34245304](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34245304/). BioRxiv: Preprint



The *Medicago truncatula* Gene Expression Atlas (MtGEA) Project ←

Noble Research Institute legacy Gene Atlas V3 dataset
Legacy Affymetrix *Medicago* Gene Chip RMA dataset curated by LIPME Team
Citation: Vagner Benedito, Ivone Torez-Jerez, Jeremy Murray, Andry Andrianakaja, Stacey Allen, Klementina Kakar, Maren Wandrey, Jerome Verdier, Helene Zuber, Thomas Ott, Sandra Moreau, Andreas Niebel, Tancred Frickey, Georg Weiller, Ji He, Xinbin Dai, Patrick Zhao, Yuhong Tang, and Michael Udvardi. "A gene expression atlas of the model legume *Medicago truncatula*". *The Plant Journal*. 2008, 55(3):504-513.



***Medicago truncatula* RNA-seq Gene Expression Atlas Project** ←

Published RNA-seq dataset gene atlas
RNA-seq datasets with a publication in a peer-reviewed journal mapped onto release *M. truncatula* 5.1.9 using nf-core/maseq 3.0 pipeline
Authors: Sébastien Carrere, Jérôme Verdier & Pascal Gamas

- Current Release: [MtExpress V3](#)
- Previous Releases:




Figure 11 : Interface du moteur de recherche MtGEA.

L'objectif de cette plateforme est de donner une perspective globale sur l'expression des gènes dans diverses conditions et tissus/organes pour cette espèce. La mise à jour régulière de MtGEA permet de suivre le rythme rapide des publications de données RNAseq sur *M. truncatula*, ainsi que les améliorations constantes de l'annotation génomique. Il accueille aussi des informations sur l'expression des gènes provenant de la plateforme MtGEA, qui sont perçues comme une ressource précieuse et auxiliaire.

Le moteur de recherche MtGEA offre plusieurs fonctionnalités intéressantes parmi ses fonctionnalités, le développement du profil d'expression qui est présenté sous la forme d'un graphe et d'un tableau. Chaque variation d'expression est associée à une identification probset correspondant au gène étudié.

De cette manière, en utilisant le probset ID correspondant au gène PHR2 (Mtr.23852.1.S1_at) comme suit :

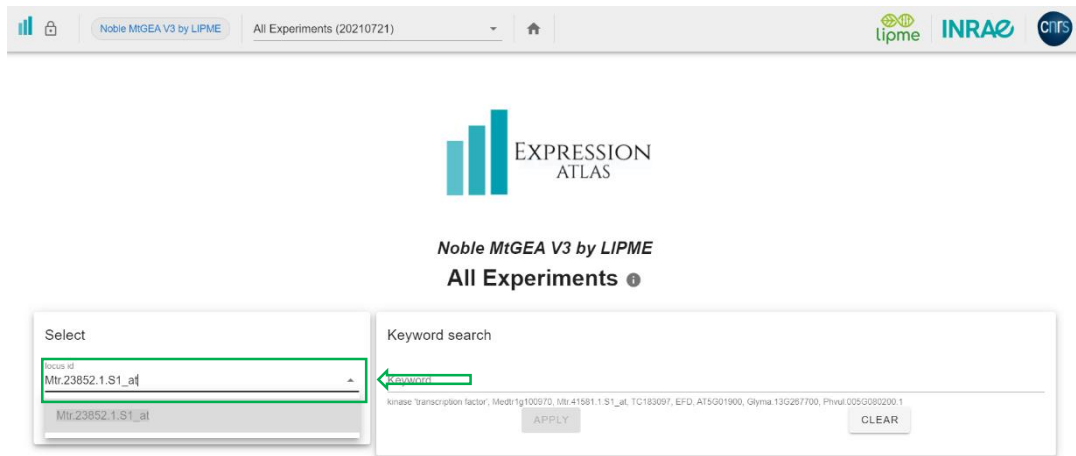


Figure 12 : Interface du moteur de recherche d'ID du gène PHR2

Et on a pu obtenir le profil d'expression suivant :

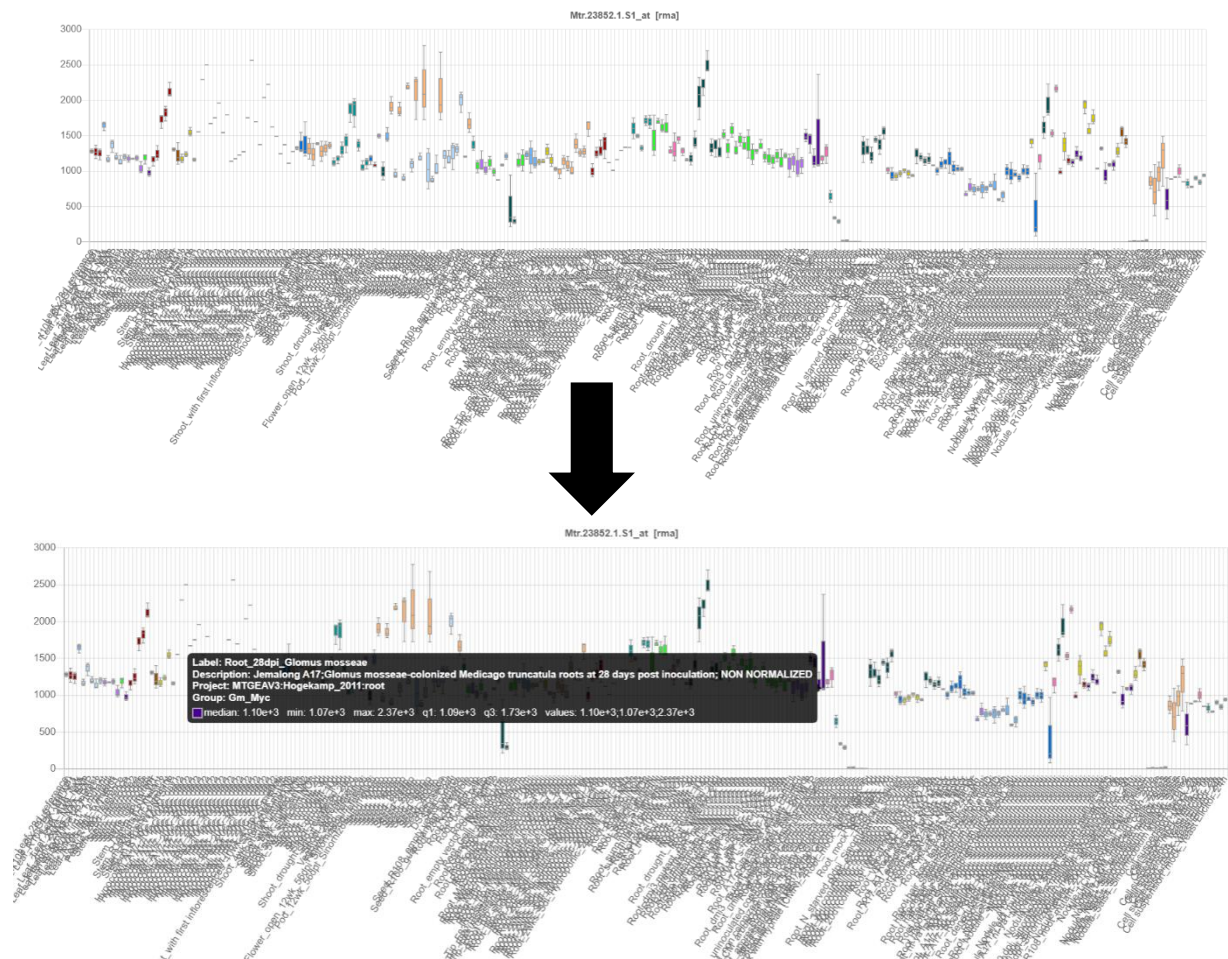


Figure 13 : Le profil d'expression du gène PHR2 sur MtGEA

II.2.3 Les condition relatives aux interaction plantes microorganismes :

Cheque condition de ces quatre conditions à trois répétition on a calculer la moyenne des 3 répétitions

La moyenne de chaque condition de l'interaction entre plante microorganisme est représentée par les valeurs d'expression correspondantes. Par la suite, ces valeurs seront employées pour identifier d'autres profils d'expression les plus proche à celui du PHR2.

Tableau 3 : Les données relatives aux interactions

Condition	Root,Gi_Myc	Root,Gm_Myc	Root_non_Myc _6wk_2_mM_ P	Root_non_Myc _control_6wk_ 20_uM_P
Moyenne	1164,965	1513,767	1495,443	1427,68

II.2.4 Collecte des données d’expression de gènes relatives à la mycorhization :

Après l’analyse et la visualisations du profile d’expression de notre gène on a pu trouver et sélectionner plusieurs conditions par rapport à une condition cible. Les données d’expression sont fournies en format de fichier Excel.

Tableau 4 : Les données des gènes relatives à la mycorhization.

#locus_tag	root,Gi_Myc	root,Gm_Myc	Root_non_Myc_6wk_2_mM_P	Root_non_Myc_control_6wk_20_uM_P
Mtr_18691,1,51_s_at	2234,969938	1424,478573	1116,312667	1631,69
Mtr_42869,1,51_at	1596,03716	1425,51767	981,542667	1733,36667
Mtr_39892,1,51_at	1077,280791	1425,87419	1288,913333	1116,706667
Mtr_41596,1,51_at	1435,856986	1425,924558	2361,166667	1702,313333
Mtr_50705,1,51_s_at	1537,012323	1426,181024	1659,983333	1215,506667
Mtr_37462,1,51_at	1588,027928	1426,509243	1666,503333	1253,23
Mtr_14809,1,51_at	1140,161419	1426,807234	1422,3	1310,366667
Mtr_4873,1,51_at	1234,908935	1427,90429	1740,133333	1848,963333
Mtr_41033,1,51_at	1552,118621	1428,133347	2369,87	2161,473333
Msa_1364,1,51_at	1527,74203	1428,377155	1787,33	1571,713333
Mtr_38416,1,51_at	1600,549884	1428,924288	2258,693333	2105,473333
Mtr_8482,1,51_at	1317,635351	1428,924288	1653,633333	1779,5
Mtr_33457,1,51_s_at	2442,843839	1429,111688	3333,986667	3895,31
Mtr_13206,1,51_at	902,128643	1429,456561	517,1083333	579,4403333
Mtr_45053,1,51_at	820,1750749	1429,634333	1422,03	2363,613333
Mtr_13453,1,51_at	642,4197282	1429,639802	579,8693333	2395,773333
Mtr_37647,1,51_at	1111,631407	1430,612986	1052,213333	1037,55
Mtr_43614,1,51_at	2145,800675	1431,329342	1385,516667	1786,596667
Mtr_10955,1,51_at	1293,849798	1431,604517	1787,646667	2076,866667
Mtr_10873,1,51_at	1651,555264	1431,656841	1849,106667	1993,76
Mtr_27228,1,51_at	626,0161473	1431,830705	13,82563333	484,219
Mtr_44364,1,51_at	1300,392627	1431,897713	1817,916667	2074,06
Mtr_40460,1,51_at	1046,548501	1432,103876	1533,646667	1743,226667
Mtr_38516,1,51_at	1302,438341	1432,412894	1552,22	1243,366667
Mtr_27904,1,51_at	1163,08366	1434,115446	687,8986667	772,035
Mtr_39807,1,51_at	1361,338357	1434,434063	1337,403333	1431,113333
Mtr_46130,1,51_at	954,0542542	1434,853474	749,3526667	1689,606667

On a calculé la moyenne des conditions de chaque gène, les données sont dans le tableau 5) et on a pris les 250 gènes avant notre gène de référence et 250 autres gènes après.

II.2.5 Calcule de distance par PYTHON :

Python est un langage de programmation de haut niveau qui a été créé en 1989 par Guido van Rossum, aux Pays Bas.

Python, un langage de programmation de niveau supérieur, interprété et à typage dynamique, est connu pour sa syntaxe claire et facile à comprendre, un langage de programmation avancé, axé sur l'objet, qui permet de prendre en compte d'autres types de programmation tels que la programmation structurée et fonctionnelle.

On l'utilise dans différents domaines tels que le développement web, l'analyse de données, l'intelligence artificielle et l'automatisation. Il est polyvalent. Python offre une vaste gamme de paradigmes de programmation, une bibliothèque standard étendue et une communauté active.

En outre, il est portable et open source, ce qui rend son usage et sa distribution plus aisés sur divers systèmes d'exploitation.

En général, les résultats du code Python sont affichés dans la console ou le terminal, affichant directement les valeurs ou les messages générés par les instructions du programme. Prenons l'exemple d'un programme qui calcule la somme de deux nombres et imprime le résultat. Ce dernier apparaîtra immédiatement après l'exécution du code. En fonction des bibliothèques utilisées, Python peut également générer des fichiers, des graphiques ou interagir avec des interfaces utilisateur. Cependant, le résultat le plus courant et le plus simple est une ligne de texte ou une série de lignes affichées dans l'environnement de développement intégré (IDE) ou le terminal de commande.

L'emploi de Python offre de nombreux bénéfices :

- ✓ **Lisibilité et Simplicité** : La syntaxe de Python est claire et facile à comprendre, ce qui facilite l'apprentissage et réduit les erreurs de programmation.
- ✓ **Grande Communauté et Support** : Un large réseau de développeurs offre un soutien continu et une multitude de ressources, telles que des bibliothèques et des frameworks pour pratiquement tous les besoins.

- ✓ **Polyvalence** : Python convient à divers domaines tels que le développement web, l'analyse de données, l'intelligence artificielle, l'apprentissage automatique, l'automatisation, et bien d'autres encore.
- ✓ **Bibliothèque Standard Étendue** : La bibliothèque standard de Python propose une vaste gamme de fonctionnalités, ce qui permet de réduire le besoin de recréer la roue.
- ✓ **Portabilité** : Python est multiplateforme, ce qui signifie que le code écrit en Python peut s'exécuter sur différents systèmes d'exploitation (Linux, Mac OS X ou Windows) sans modification.
- ✓ **Automatisation et Scripting** : Python est idéal pour l'écriture de scripts pour automatiser des tâches répétitives, augmentant ainsi l'efficacité.
- ✓ **Intégration Facile** : Python est parfaitement compatible avec d'autres langages et technologies, ce qui rend son utilisation plus facile dans des environnements de développement complexes.
- ✓ **Développement Rapide** : Python offre une syntaxe simple et des bibliothèques puissantes qui facilitent le développement et le prototypage.
- ✓ **Open Source** : Python est gratuit et open source, ce qui permet une large adoption et une contribution continue de la communauté.

Avec un programme PYTHON on a calculé la distance entre notre gène de référence PHR2 qui porte le probset (Mtr.23852.1.S1_at) et les 500 autres gènes puis on a sélectionné les 20 gènes les plus proches à notre gène selon le résultat qu'on a eu c.-à-d. la distance entre les gènes, cela veut dire qu'on cherche les gènes qui sont semblable à notre gènes et qui ont le même profil d'expression, le code se présente comme suit :

```
import pandas as pd
from scipy.spatial.distance import cdist
import matplotlib.pyplot as plt
import seaborn as sns
```

En premier lieu on a importées des bibliothèques qui sont couramment utilisées dans l'analyse des données


```
# Load your TSV file into a pandas DataFrame
file_path = 'MtGEAV3.log2_rma.tsv' # Replace with your file path
data = pd.read_csv(file_path, sep='\t', index_col=0)
```

En deuxième lieu cette ligne de code est utilisée pour lire un fichier TSV (notre fichier qui contient les données) dans un DataFrame

```
# Define the lists of conditions for filtering columns
condition_1 = [
    'MTGEAV3:Hogekamp_2011:root.Gm_Myc_R1',
    'MTGEAV3:Hogekamp_2011:root.Gm_Myc_R2',
    'MTGEAV3:Hogekamp_2011:root.Gm_Myc_R3'
]

condition_2 = [
    'MTGEAV3:Hogekamp_2011:root.Gi_Myc_R1',
    'MTGEAV3:Hogekamp_2011:root.Gi_Myc_R2',
    'MTGEAV3:Hogekamp_2011:root.Gi_Myc_R3'
]

condition_3 = [
    'MTGEAV3:Hogekamp_2011:root.Root_non_Myc_6wk_2_mM_P_R1',
    'MTGEAV3:Hogekamp_2011:root.Root_non_Myc_6wk_2_mM_P_R2',
    'MTGEAV3:Hogekamp_2011:root.Root_non_Myc_6wk_2_mM_P_R3'
]

condition_4 = [
    'MTGEAV3:Hogekamp_2011:root.Root_non_Myc_control_6wk_20_uM_P_R1',
    'MTGEAV3:Hogekamp_2011:root.Root_non_Myc_control_6wk_20_uM_P_R2',
    'MTGEAV3:Hogekamp_2011:root.Root_non_Myc_control_6wk_20_uM_P_R3'
]
```

Ensuite on a défini des listes de conditions nécessaires pour filtrer des colonnes spécifiques de notre DataFrame.

```
# Compute the mean value of repetitions (R1, R2, R3) for each condition
mean_data = pd.DataFrame()
mean_data['Gm_Myc'] = data[condition_1].mean(axis=1)
mean_data['Gi_Myc'] = data[condition_2].mean(axis=1)
mean_data['Root_non_Myc_2mM_P'] = data[condition_3].mean(axis=1)
mean_data['Root_non_Myc_control_20uM_P'] = data[condition_4].mean(axis=1)

mean_data
```


Après on calcule les moyennes d'expression génique pour chaque condition et les combine dans un DataFrame

```
# Define the probeset of interest
probeset_of_interest = 'Mtr.23852.1.S1_at' # Replace with your probeset ID

# Verify if the probeset of interest exists in the filtered data
if probeset_of_interest not in mean_data.index:
    raise ValueError(f"Probeset {probeset_of_interest} is not present in the data.")
```

Ensuite on s'assure que l'ID probeset de notre gène est présent dans le DataFrame et on demande un affichage d'un message d'erreur dans le cas contraire

```
# 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()
```

Dans cette partie du code on calcule les distances euclidiennes entre notre probeset d'intérêt et tous les autres probesets, de les trier en fonction de leur distance et d'afficher que les 20 les plus proches à notre probeset d'intérêt

```
# 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()
```

Enfin les dernières lignes servent à créer une heatmap à partir des distances euclidiennes entre le probeset d'intérêt et les probesets les plus proches.

CHAPITRE - III

Résultats & Discussion

III Résultats et discussion :

III.1 Résultats :

Suite à l'analyse statistique effectuée sur l'ensemble des données concernant la mycorhization, le programme qu'on a utilisé nous a permis de choisir les 20 gènes qui convergent avec notre gène de référence PHR2 parmi les 500 autres gènes en fonction d'un calcul de distance euclidienne,

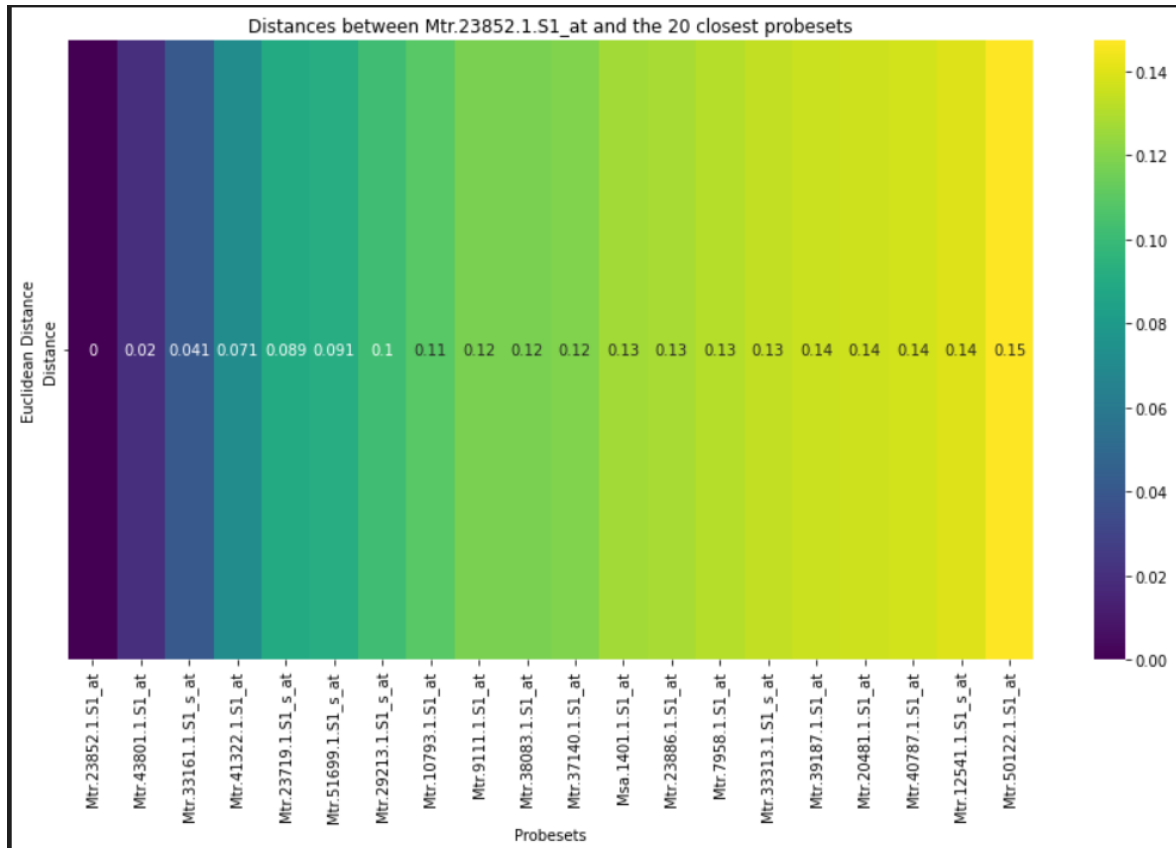


Figure 14 : Heatmap donnée par le programme python qui montre les 20 gènes les plus proches avec leurs distances

Tableau 5 : Les probSet des 20 gènes les plus proches avec leurs distances

ProbSet des gènes	Annotation	Distance
Mtr.23852.1.S1_at	Putative transcription factor MYB	0.0000
Mtr.43801.1.S1_at	Lipolytic enzyme, family;GDS Putative sinapine esterase	0.019769
Mtr.33161.1.S1_s_at	PUTATIVE DSBA oxidoreductase	0.040704
Mtr.41322.1.S1_at	PUTATIVE;IPR019955:Ubiquitin	0.071164
Mtr.23719.1.S1_s_at	Putative oxidoreductase	0.089479
Mtr.51699.1.S1_s_at	Putative Agenet-like domain- containing	0.091466
Mtr.29213.1.S1_s_at	Chitinase, vacuole processing enzyme Legumain,	0.102136
Mtr.10793.1.S1_at	Mov34 family;associated molecule with the SH3 domain of STAM 1;Putative ubiquitinyl hydrolase 1	0.109234
Mtr.9111.1.S1_at	Putative DNA helicase chromatin remodeling SNF2 family	0.117496
Mtr.38083.1.S1_at	Putative chromatin regulator PHD family	0.117615
Mtr.37140.1.S1_at	Putative BSD	0.119477
Msa.1401.1.S1_at	Short-chain dehydrogenase	0.126676
Mtr.23886.1.S1_at	Dimethylmenaquinone methyltransferase	0.128044
Mtr.7958.1.S1_at	Putative transcription factor & lipid binding HD-SAD family	0.131038
Mtr.33313.1.S1_s_at	Putative chromatin regulator PHD	0.133795
Mtr.39187.1.S1_at	Putative CWC16	0.135718
Mtr.20481.1.S1_at	DNA-DIRECTED RNA POLYMERASE II 19 KDA POLYPEPTIDE RNA binding S1	0.136318
Mtr.40787.1.S1_at	Putative aminoacyltransferase	0.137369
Mtr.12541.1.S1_s_at	Putative hydro-lyase	0.139523
Mtr.50122.1.S1_at	Putative thiamine phosphate synthase	0.147261

III.2 Discussion :

Les plantes sont confrontées à des conditions environnementales extrêmes, comme le manque de nutriments essentiels à leur vie, ce manque peut entraîner des réactions qui sont régulées à l'origine par les voies de signalisation, qui sont elles-mêmes influencées par les changements dans l'expression des gènes.

Ainsi, lors de la présente étude qui a porté sur le recherche des gènes impliqués dans la réponse à la mycorhization, nous avons pu définir, selon la fonction, plusieurs gènes qui peuvent réagir

On peut donc distinguer 5 familles de gènes

- **Famille des régulateurs de réponse au phosphore**

Chez les plantes, la famille des régulateurs de réponse au phosphore (PHR) regroupe des gènes qui sont responsables de la transcription de facteurs de régulation des réponses au phosphate. Ces gènes sont impliqués dans l'absorption, le transport et l'utilisation du phosphore sont contrôlés par ces facteurs de transcription, qui agissent comme des interrupteurs moléculaires (**Cong et al., 2020**).

- **Famille des phosphatases acide**

La famille des phosphatases qui participe au métabolisme du phosphore en hydrolysant les esters de phosphate afin de libérer du phosphore inorganique disponible pour la plante. Il est essentiel que ces enzymes jouent un rôle essentiel dans l'adaptation des plantes à des conditions de pénurie de phosphate, en favorisant la mobilisation et le recyclage du phosphore dans tissus végétaux (**Plaxton, W.C., & Tran, H.T. (2011)**)

- **Famille de ribonucléase T2**

Les ribonucléases T2 sont indispensables au métabolisme de l'ARN, notamment dans la dégradation des ARN inutiles ou endommagés, et peuvent réguler la disponibilité du phosphore par la dégradation des acides ribonucléiques et la libération de phosphore inorganique (**Carbonnel, M. (2014)**).

- **Famille de kinase de protéine**

Les kinases de protéines peuvent jouer un rôle dans les voies de signalisation qui réagissent aux niveaux de phosphate disponibles, modifiant ainsi l'expression des gènes impliqués dans l'absorption et l'utilisation du phosphore mais aussi en phosphorylant des enzymes spécifiques, les kinases peuvent réguler l'activité des enzymes directement impliquées dans le métabolisme du phosphore (**Smith, J., et al**).

- **Famille des transporteurs de phosphore**

Élaborée à partir de protéines membranaires qui permettent le passage actif ou passif du phosphate à travers les cellules. La fonction de ces transporteurs est essentielle dans le métabolisme du phosphate, car ils facilitent son absorption à partir du sol chez les plantes, son transport à travers les tissus et sa répartition dans les différentes parties de la cellule. Ces transporteurs jouent un rôle crucial dans la fourniture de phosphate aux cellules et aux tissus, ce qui est indispensable pour de nombreux processus biologiques, tels que la production d'ADN et d'ARN, la signalisation cellulaire, la production d'énergie et la croissance des plantes (**Rausch, C., et al**).

Et donc on peut dire que les 20 gènes qu'on a trouvés sont des gènes qui dépendent aussi à la mycorhization.

En résumé le phosphore est un macroélément qui joue un rôle essentiel dans le développement et la croissance des plantes, jouant un rôle crucial dans divers processus biologiques essentiels mais il a aussi un rôle essentiel dans les molécules d'ADN et d'ARN, qui sont nécessaires à la vie cellulaire et à la transmission des données génétiques. En outre, le phosphore joue un rôle essentiel dans la conservation et le transfert d'énergie par l'ATP, ce qui est essentiel pour les réactions biochimiques de la photosynthèse et de la respiration. Il aide aussi à développer les racines, à fleurir, à former des graines et à renforcer les tiges, ce qui favorise une meilleure résistance aux stress milieux. Ainsi, une pénurie de phosphore peut causer un ralentissement de la croissance, une formation des fruits médiocre et une diminution de la qualité et de la qualité mais peut aussi entraîner un stress oxydatif.

Grace a la BIOINFORMATIQUE qui est un domaine interdisciplinaire nous avons pu traiter de grandes quantités de données et sélectionner des gènes qui convergent avec notre gène de référence PHR2 parmi des milliers d'autre gènes

CONCLUSIONS

&

PERSPECTIVES

Conclusions et perspectives

La réaction des plantes face à une carence en phosphore implique plusieurs mécanismes physiologiques accompagnés par des modifications dans le profil d'expression des gènes. Dans le but de rechercher des gènes impliqués dans la réponse à la mycorhization chez le modèle biologique *Medicago truncatula*, nous avons réalisé une analyse in silico de données de transcriptomique issus de puces de type *Affymetrix*.

Au terme de notre travail. Les résultats obtenus montrent que les 20 gènes sont convergés avec notre gène de référence PHR2 parmi les 500 autres ; Ces 20 gènes montrent qu'ils sont également impliqués dans la réponse de la mycorhization, ce qui suggère qu'ils peuvent être activés en cas de carence en phosphore.

Ainsi que chaque groupe de ces gènes peuvent faire partis d'une même famille suivant leurs rôles qu'ils jouent, telle que la famille des régulateurs de réponse en phosphore, La famille en phosphate acide, famille de ribonucléase T2, famille de kinase de protéine et famille des transporteurs de phosphore.

Cette découverte ouvre la voie à des recherches plus approfondies pour comprendre les rôles spécifiques de ces gènes et leurs interactions dans la symbiose mycorhizienne, contribuant ainsi à améliorer la gestion de la nutrition phosphorée chez les plantes.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Cook, D. R. (1999):

Medicagotruncatula – A model in the making! *Current Opinion in Plant Biology*, 2(4), 301-304. Doi :10.1016/S1369-5266(99)80051-2.

2. Young, N. D., & Udvardi, M. (2009).

Translating *Medicagotruncatula* genomics to crop legumes. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(2), 193-201. Doi :10.1016/j.pbi.2008.12.005.

3. Denarie et Gamas (2001) :

Titre : Denarie, J., & Gamas, P. (2001). Legume Genomics: Towards New Crops and New Symbioses. *Current Opinion in Plant Biology*, 4(4), 321-328. Doi:10.1016/S1369-5266(00)00188-9.

Tivoli et al. (2006) :

Titre : Tivoli, B., Baranger, A., Avila, C. M., Banniza, S., Barbetti, M., Chen, W., ... & Rubiales, D. (2006). Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes. *Euphytica*, 147(1-2), 223-253. doi:10.1007/s10681-006-3131-0.

Rose (2008) :

Titre: Rose, L. E. (2008). *Medicagotruncatula* as a model system for studying disease resistance. *Annals of Botany*, 102(4), 647-656. doi:10.1093/aob/mcn139.

Young et al. (2003) :

Titre : Young, N. D., Mudge, J., & Ellis, T. H. (2003). Legume genomics: From Mendel to the *Medicago* genome. *Current Opinion in Plant Biology*, 6(2), 199-204. doi:10.1016/S1369-5266(03)00014-3.

4. Doyle and Luckow (2003) :

Titre : Doyle, J. J., & Luckow, M. A. (2003). The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiology*, 131(3), 900-910. doi:10.1104/pp.102.018150.

Huguet T et al. (1995) :

Titre : Huguet, T., Chiapello, H., & Gherardi, M. (1995). *Medicagotruncatula* as a model plant for studying the molecular genetics of the rhizobium-legume symbiosis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 33(3), 299-308.

Lesins and Lesins (1979) :

Titre : Lesins, K. A., & Lesins, I. (1979). Genus *Medicago* (Leguminosae): a taxogenetic study. Dr. W. Junk b.v. Publishers, The Hague, Netherlands

5. **Barker, D. G., Bianchi, S., Blondon, F., Dattée, Y., Duc, G., Essad, S., ... & Huguet, T. (1990) :

Medicago truncatula, a model plant for studying the molecular genetics of the Rhizobium-legume symbiosis. *Plant Molecular Biology Reporter*, 8(1), 40-49. doi:10.1007/BF02668712.

6. Nair et al. (2006) :

Titre : Nair, R. M., Yang, R. Y., Easdown, W. J., Thavarajah, D., Thavarajah, P., Hughes, J. A., & Keatinge, J. D. (2006). Biofortification of mungbean (*Vigna radiata*) as a whole food to enhance human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(15), 2546-2553. doi:10.1002/jsfa.2630.

7. Ahmed et al. (1984) :

Titre : Ahmed, S., Blum, A., Eissenstat, D. M., Eissenstat, D. M., Eissenstat, D. M., & Hartwig, U. A. (1984). Roots and nitrogen uptake of field grown winter wheat and barley as affected by soil temperature. *Journal of Experimental Botany*, 35(152), 225-236. Doi:10.1093/jxb/35.2.225.

8. Douglas, A. E. (2014):

Symbiosis as a general principle in eukaryotic evolution. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(2), a016113. doi :10.1101/cshperspect.a016113.

9. Margulis, L., & Fester, R. (1991):

Symbiosis as A Source of Evolutionary Innovation: Speciation and Morphogenesis. The MIT Press.

10. Smith, S.E., & Read, D.J. (2008):

Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press.

Brundrett, M.C. (2009):

Mycorrhizal associations and other means of nutrition Of land plants. *Mycorrhiza*, 19(7), 363-367.

Van der Heijden, M.G.A., & Sanders, I.R. (2002):

Mycorrhizal Ecology. Springer-Verlag.

11. Smith, S.E., & Read, D.J. (2008)l

Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press.

Brundrett, M.C. (2009):

Mycorrhizal associations and other means of nutrition Of land plants. *Mycorrhiza*, 19(7), 363-367.

Van der Heijden, M.G.A., & Sanders, I.R. (2002):

Mycorrhizal Ecology Springer-Verlag.

12. Smith, S.E., Jakobsen, I., Grønlund, M., & Smith, F.A. (2014):

Frontiers in Plant Science, 5, 337. Doi :10.3389/fpls.2014.00337.

Bucher, M. (2014):

Functional Biology of Plant Phosphate Uptake at Root and Mycorrhiza Interfaces. *Frontiers in Science*,5,608.doi:10.3389/fpls.2014.00608.

13. Zhou, J., Jiao, X., Wu, H., Guo, L., et al. (2011):

OsPHR2, a phosphate starvation response regulator, plays an important role in phosphate signaling and homeostasis in rice. *Plant Physiology*, 156(3), 1164-1175. doi:10

14. Zhou, J., Jiao, F., Wu, Z., Li, Y., Wang, X., He, X., ... & Deng, X.

(2008)..1104/pp.111.176180

15. Cong WF, Suriyagoda BLD, Lambers H (2020) Resserrer le cycle du phosphore

grâce à des génotypes de cultures efficaces en phosphore.*Tendances Plant Sci* 25 (dix) :967–975

16. Plaxton, W.C., & Tran, H.T. (2011). Metabolic adaptations of phosphate-starved

plants. *Plant Physiology*, 156(3), 1006-1015.

17. Hsieh, L.-C., Lin, S.-I., Shih, A.C.-C., Chen, J.-W., Lin, W.-Y., Tseng, C.-Y., ...

Chiou, T.-J. (2009). Uncovering Small RNA-Mediated Responses to Phosphate Deficiency in Arabidopsis by Deep Sequencing. *Plant Physiology*, 151(4), 2120–2132.

18. Khan, G.A., Bouraine, S., Wege, S., Li, Y., & de Carbonnel, M. (2014). Berthomieu,

P., & Poirier, Y. Coordination between zinc and phosphate homeostasis involves the transcription factor PHR1, the phosphate exporter PHO1, and its homologue PHO1;H3 in Arabidopsis. *Journal of Experimental Botany*, 65(3), 871-884.

19. Smith, J., et al Journal of Biological Chemistry Protein Kinases in Phosphorus Signaling

Pathways: Regulation of Gene Expression and Enzyme Activity"

20. Rausch, C., et al. Annual Review of Plant Biology

<p align="center">Année Universitaire : 2023-2024</p>	<p>Présenté par : BOUABDALLAH Amina Malak Rayene MOUMENE Wafa</p>
<p align="center">Exploitation des données d'expression pour la recherche des gènes impliqués dans la réponse à la mycorhization chez la plante modèle <i>Medicago truncatula</i></p>	
<p align="center">Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Bioinformatique</p>	
<p>L'objectif du présent travail est la recherche des gènes impliqués dans la réponse à la mycorhization, dans la racine du modèle biologique <i>M.truncatula</i> par une analyse <i>in silico</i> de données de transcription issues de puces <i>Affymetrix</i> ,Et en utilisant un gène clé dans la solubilisation du phosphore comme gène de référence PHR2.</p> <p>Le heatMap donné par le programme python montre que les 20 gènes sont proches du gène de référence PHR2 avec des distances données.</p> <p>Les résultats obtenus montrent que les gènes impliqués dans la réponse de la mycorhization sont très proches d'une distance approximative.</p>	
<p>Mots-clés: Mycorhization,Symbiose, <i>Medicago truncatula</i>, PHR2, Phosphore.</p>	
<p>Président du jury : Dr. DAAS Mohamed Skander (MCA- UConstantine1 Frères Mentouri). Encadrant : Dr. TEMAGOULT Mahmoud (MAA- UFM Constantine 1). Examineur(s) : Dr. KELLOUKamel (MAA- UFM Constantine 1).</p>	