



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 :

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 : Bioinformatique.

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Recherche in silico des gènes liés à la réponse aux stress salin chez le modèle *Medicago truncatula*.

Présenté par : Sadaoui Hadil

Le : 10/06/2024

Laib Nahla

Jury d'évaluation :

Président: HAMIDECHI Med Abdelhafid (Pr)

Encadrant : TEMAGOULT Mahmoud (MAA)

Examineur(s): AMINE KHODJA Ihsene (MAB)

**Année universitaire
2023 - 2024**

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : Laib Nahla

Sadaoui hadil

Recherche in silico des gènes liés à la réponse aux stress salin chez le modèle *Medicago truncatula*.

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

Mots-clefs : Medicago Truncatula, stress salin NaCl, gène de CSE.

Président du jury : HAMIDECHI Med Abdelhafid (Pr)

Encadrant : TEMAGOULT Mahmoud (MAA).

Examineur(s) : AMINE KHODJA Ihsene (MAB).

Résumé :

L'objectif de ce travail est de réaliser une analyse bio-informatique sur les gènes impliqués dans la réponse du modèle biologique *M.truncatula* lors des concentrations élevées du stress salin.

par une analyse *in silico* de données de transcription qui provient des puces Affymetrix, après l'utilisation d'un gène clé de la voie de signalisation comme le gène référence LOC11422042.

Le regroupement des gènes étudiés montre la similarité de leur profil d'expression au gène référence LOC11422042 par rapport aux distances trouvées.

L'étude a permis de constater que les gènes impliqués dans cette réaction sont extrêmement variés et appartiennent à différents groupes

telles que : les gènes codant pour des protéines de type LEA, des facteurs de transcription, des facteurs de virulence, ainsi que des gènes qui codent pour d'autres fonctions.

Les mots clés :

Medicago Truncatula, stress salin NaCl, gène de CSE.

Abstract

The objective of this work is to carry out a bioinformatics analysis on the genes involved in the response of the biological model *M.truncatula* during high concentrations of salt stress, through an in silico analysis of transcription data coming from Affymetrix chips, after the use of a key gene in the signaling pathway such as the reference gene LOC11422042.

The grouping of the genes studied shows the similarity of their expression profile to the reference gene LOC11422042. by contribution to the distances found.

The study revealed that the genes involved in this reaction are extremely varied and belong to different groups such as: genes coding for LEA type proteins, transcription factor , virulence factor , also gene which code for d other function.

Keywords:

Medicago Truncatula, stress salin NaCl, gene of CSE.

ملخص:

الهدف من هذا العمل هو إجراء تحليل المعلوماتية الحيوية على الجينات المشاركة في استجابة النموذج البيولوجي M.truncatula أثناء التركيزات العالية من الإجهاد الملحي، من خلال تحليل سيليكو لبيانات النسخ القادمة من رقائق Affymetrix، بعد استخدام جين رئيسي في مسار الإشارة مثل الجين المرجعي LOC11422042.

يُظهر تجميع الجينات التي تمت دراستها تشابه ملف تعريف التعبير الخاص بها مع الجين المرجعي LOC11422042 من خلال المساهمة في المسافات الموجودة.

كشفت الدراسة أن الجينات المشاركة في هذا التفاعل متنوعة للغاية وتنتمي إلى مجموعات مختلفة مثل: الجينات التي ترمز للبروتينات من نوع LEA، وعوامل النسخ، وعوامل الفوعة، وكذلك الجينات التي ترمز لوظيفة أخرى.

الكلمات المفتاحية :

Medicago truncatula، الإجهاد المائي، NaCl، الجين CSE

REMERCIEMENTS :

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination .Ses années ont permis de bien comprendre la signification de cette phrase toute simple.

La présentation de ce modeste travail nous offre aussi l'occasion d'exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude à l'encadreur de ce mémoire Monsieur ' Temagoult Mahmoud ' professeur a l'université Constantine 1 pour sa patience , sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils ,qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

On Remercie également Monsieur Hamidechi AbdelHafid professeur a l'université de constantine 1 d'avoir présider le jury de notre thèse et un grand merci pour vous monsieur pour toute les facilites accordées et votre soutien permanent , que Madame Amine Khoudja et membre du jury trouve ici l'expression de notre gratitude.

Enfin nous remercions tout nos professeurs en bio-informatique qui nous ont fournis les outils nécessaires pour notre réussite, durant toute notre cursus universitaire.

Merci à vous tous .

Dédicaces :

بعد بسم الله الرحمن الرحيم: "وقل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله و المؤمنون" سورة التوبة _ الآية 105

نحن لا نسعى حيثما اردنا انما نسعى أينما شاء الله فاللحمد لله الذي وفقنا لتمام هذا العمل ، اللهم

انه خالص لوجهك فتقبله منا يا الله و اجعل لنا من خيره ما يسرنا .

Page | 1

La realisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma reconnaissance. Tout d'abord je dédie ce modeste travail:

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse:
« Mon adorable maman »*

A l'homme, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect, « Mon papa »

A Mon adorable petit frère « Nassim » qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille .

Merci pour leur amour et leur encouragement.

‘Nahla laib’

Dédicaces :

Avant de dédier ce travail on tient d'abord à remercier "ALLAH", le tout puissant qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail .

À celui dont le front était couvert de sueur et à celui qui m'a appris que le succès ne vient qu'avec la patience et la persévérance. À la lumière qui a éclairé mon chemin et à la lampe dont la lumière ne s'éteindra jamais dans mon cœur à « mon cher père ».

Page | 1

À celle qui a mis le paradis sous ses pieds et m'a facilité l'adversité par ses prières. À la personne formidable que j'ai toujours voulu me voir dans ce lieu, « ma chère mère ».

À mes frères « Rachid, walid, Achraf », qui non pas cessé de conseiller ; encourager et soutenir au long de mes études À mon adorable grande sœur « Samira » et ses enfants « djabar et raid » et , a quelqu'un qui me tient à cœur, « mon beau destin F » Sans oublier Mon amie et ma sœur de sang « cheima » Et ma belle famille que me donne le courage , mes cousins « rawnek, rahma , aya, hadjer, anfel » .

'Sadaoui Hadil'

Sommaire

	introduction	1
I	<i>Chapitre :Revue bibliographique</i>	
I.1	Présentation du modèle biologique <i>Medicago truncatula</i>	3
I.1.1	l'origine d'espèce	3
I.2	botanique	4
I.2.1	la morphologie	4
I.2.2	classification	5
I.2.2.1	Classification APG III (2003)	6
I.2.2.2	Classification scientifique	6
I.3	Biologie de <i>Medicago truncatula</i>	7
I.3.1	Cycle de vie	7
I.3.2	Les exigences de vie	7
I.4	La notion stress	8
I.4.1	Présentation du stress salin	10
I.4.2	Effets du stress salin sur la plante	10
I.4.3	Réponses des plantes au stress salin	13
I.5	Quel est le rôle du CSE dans la biosynthèse de la lignine chez l' <i>Arabidopsis thaliana</i> ?	15
II	<i>Chapitre : Matériel et méthodes .</i>	
II.1	Matériel	16
II .2	Méthodes	17
II.2.1	choix du probset ID	17
II.2.2	Recherche du gène correspondant au probset ID	18
II.2.3	Profil d'expérience au stress salin	20
II.2.4	Choix des conditions	21
II.2.5	Etude statistique par pyhton	23
III	<i>Chapitre :Résultats et discussion</i>	

III.1	Résultats.	24
III.2	Discussion	26
	Conclusion et perspectives	30
	Références bibliographique	31

*Liste des abréviations :

- BLAST**: Basic Local Alignment Search Tool.
- Legoo**: Bioinformatics gateway towards integrative legume biology.
- MtGEA**: Medicago truncatula Gene Expression Atlas.
- **python**: langage de programmation.
- NCBI** : National Center for Biotechnology Information.
- **M. truncatula**: *Medicago truncatula*.
- **CSE** : La caféoyl shikimate estérase.
- Na Cl** : Chlorure de sodium.
- **Na⁺**: Ion sodium
- **Cl⁻**: Ions chlore.
- **Ca²⁺**: Ion calcium.
- **Mg²⁺** : Ion magnesium.
- **P5CS** : pyrroline-5-carboxylate synthétase.
- **Heatmap** : Une carte de chaleur.
- **ABA**: acide abscissique.
- CAM4**: Calcium-Modulated Protein, et **4** indiquerait la quatrième isoforme identifiée.
- MYB**: des facteurs de transcription
- MAPK**: Mitogen-Activated Protein Kinase

-CPK3: Calcium-Dependent Protein Kinase 3

-DHN : *Proteines type dehydrine*

-LEA: *ateembryogenesisabundant*

-PR: Pathogenesis-related

-C2H2 : un motif structurel de liaison à l'ADN présent dans les protéines, nommé d'après les résidus cystéine et histidine qui coordonnent un ion zinc.

-PPR: Pentatrigo peptide Repeat.

*** Liste des figures :**

Figure 1 : Medicago truncatula Gaertn

Figure 2: Caractéristiques morphologiques de M. truncatula ; Des feuilles, fleurs, gousses et graines

Figure 3 : Développement de luzerne annuelle M.truncatula.

Figure 4: Les différents stress environnementaux .

Figure 5 : Résistance aux stress abiotiques

Figure 6 : toxicité de stress Salin

Figure 7: La tolérance à la salinité chez quelques espèces végétales

Figure 8 : La caféoyl shikimate estérase (CSE)

Figure 9 : le tableaux des données d'expression du gène du modél M.truncatula

Figure 10: le navigateur legoo

Figure 11 : base de donnés INRA

Figure 12 :

Figure 13 : Interface NCBI (Blast N)

Figure 1 4:

Figure 15 : Interface GenBnk montré le nom du gène

Figure 16 : Le profil d'expression du gène CSE sur MtGEA.

Figure 17:

Figure 18 :

Figure 19 :

Figure 20: Les formules des commandes utilisées dans python

Figure 21: classification des condition

Figure 22: le code pour les calculs des moyennes

Figure 23: le code pour les calculs des distances.

Figure 24: le code pour affichier que les conditions sont remplies

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Classification APG III de *M. truncatula*

Tableau 2 : Classification scientifique de *M. truncatula*

Tableau 3 : les moyennes relatives au stress salin

Tableau 4 : Les identifiants et les annotation et les distance obtenus.

Introduction

Le terme *in silico* est devenu de plus en plus utilisé pour désigner les études biologiques réalisées sur ordinateur, rejoignant ainsi les termes *in vivo* et *in vitro* qui désignent des méthodes d'études expérimentales plus classiques. Pour les biologistes, le terme "*in vitro*" désigne "dans du"

Le terme "*in vitro*" désigne l'utilisation d'un tube à essai ; *in vivo* désigne l'utilisation de la vie, c'est-à-dire dans les organismes vivants. Les premières puces informatiques étaient en silicium, ce qui explique le terme *in silico*. Différentes techniques ne reposent plus sur le silicium, ce qui nous amène à privilégier l'utilisation de termes plutôt que d'algorithmes.

Dès l'invention des ordinateurs, on a pu constater une tendance similaire en biologie, mais celle-ci a considérablement augmenté depuis les dix dernières années grâce au projet génome humain et au séquençage de génomes complets de divers organismes. Le nombre de données expérimentales collectées.

Il est souvent trop important de collecter et d'analyser pour le biologiste seul, qui doit désormais faire appel à l'ordinateur pour gérer ces immenses quantités d'informations. L'informatique joue un rôle bien plus important que le simple stockage et la récupération des données biologiques ; il est désormais envisageable d'étudier les systèmes vivants à l'aide de simulations informatiques. Par exemple, lorsque l'on détermine la séquence d'un ADN, elle peut être sauvegardée sur l'ordinateur, et des programmes peuvent être développés pour repérer des sites de restriction .

Cette étude vise à repérer et à analyser les gènes impliqués dans la réponse aux stress abiotiques chez *Medicago truncatula*, en utilisant une méthode *in silico* basée sur l'analyse de données de transcription. Les stress abiotiques tels que la salinité, la sécheresse et les températures extrêmes sont très préjudiciables à la croissance et au rendement des plantes. Les plantes ont besoin d'une régulation complexe de l'expression génique pour répondre à ces stress .

En utilisant l'approche *in silico*, il est possible d'explorer et de prédire les gènes et les voies de signalisation impliqués dans la réponse aux stress abiotiques, en exploitant les grandes quantités de données de transcription disponibles dans les bases de données publiques.

Grâce à l'utilisation de technologies bio informatiques de pointe, telles que l'analyse de l'expression différentielle, l'expression génique et l'analyse de réseaux, il est réponse au

stress envisageable de détecter des régulateurs essentiels et des voies de signalisation clés dans la Ceste étude a pour but de permettre une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires qui régissent la réponse aux stress abiotiques chez *Medicago truncatula*, ce qui fournit des éléments indispensables pour développer des stratégies d'amélioration de la tolérance au stress chez les plantes cultivées. En identifiant les principaux gènes et voies de signalisation, cette recherche pourrait ouvrir de nouvelles perspectives pour l'ingénierie génétique dans le but d'améliorer la résistance des cultures aux stress environnementaux, ce qui contribuerait à la sécurité alimentaire mondiale dans un contexte de changements climatiques.

Ce document est organisé en trois parties : :

- La première partie est une synthèse de la littérature sur le sujet du projet.
- La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées.
- La troisième partie se concentre sur l'analyse des résultats obtenus et leur discussion.
- Enfin, une conclusion sera présentée avec des perspectives futures

Chapitre I :
Revue
Bibliographique

I. Présentation de Model biologique *Medicago truncatula* :

I.1.l'origine d'espèce :

Medicago truncatula, ou trèfle à barils, est une légumineuse annuelle de la famille des légumineuses de la région méditerranéenne. Feuilles trifoliées, fleurs jaunes seules ou en petites inflorescences de deux à cinq inflorescences. Elle produit un petit fruit épineux. On étudie cette espèce de plante comme modèle pour la biologie des légumineuses, car elle peut être en symbiose avec les rhizobiums fixateurs d'azote et les champignons mycorrhiziens orbiculaire . Ceci en fait un instrument essentiel pour l'analyse de ces processus.

M. truncatula est également connue pour son petit génome diploïde, son auto fertilité, son temps de génération rapide et sa prolifique production de graines, ce qui la rend pratique pour la transformation génétique. Il a aussi été séquencé son génome, ce qui permet aux chercheurs d'analyser la plante à un niveau moléculaire plus approfondi. La revue Nature a publié en 2011 le projet de séquence du génome du cultivar A17 de *M. truncatula*. Un groupe international de laboratoires de recherche a collaboré à la réalisation de ce projet, avec des chercheurs de l'institut J. Aux États-Unis, Craig Venter, du Genoscope en France et du Centre Sanger au Royaume-Uni. Grâce à cette publication, les chercheurs du monde entier ont pu approfondir leur compréhension de la biologie de cette plante modèle. *M. truncatula* est aussi une espèce fourragère importante pour le bétail en Australie. Cette plante, ayant la capacité de fixer l'azote atmosphérique, produit de grandes quantités de protéines, ce qui en fait une nourriture parfaite pour les animaux. En résumé, la plante *M. truncatula* joue un rôle essentiel dans la biologie des légumineuses et est également employée comme espèce fourragère en Australie. Cette plante est un outil de recherche précieux pour les scientifiques du monde entier, car elle peut former des symbioses avec les rhizobiums et les champignons mycorrhiziens arbusculaires , ainsi que son petit génome diploïde.

M. truncatula est une espèce originaire de la Méditerranée. Parmi les légumineuses, elle a été choisie comme modèle en raison de ses propriétés biologiques bénéfiques. La génération de *M. truncatula* est courte, d'une durée d'environ dix à douze semaines de graine à graine, et elle produit de nombreuses petites graines. L'autogame de cette plante

Chapitre I : Revue bibliographique

implique que les populations sont génétiquement identiques. Elle possède un génome diploïde et petit, d'environ 450 Mb haploïde. *M. truncatula* est plus génétiquement proche des légumineuses cultivées en Europe que d'autres espèces de légumineuses, ce qui en fait un choix privilégié dans de nombreux laboratoires pour des études de recherche



Figure 1 :*Medicago truncatula* Gaertn

I.2.botanique :

I.1.2.la morphologie :

M.truncatula, ou trèfle méditerranéen, possède une morphologie qui présente plusieurs caractéristiques qui en font un modèle biologique intéressant pour la biologie végétale. Cette plante présente quelques caractéristiques morphologiques essentielles :

- 1.Les feuilles de *M. truncatula* présentent généralement trois folioles distinctes, ce qui lui confère une forme trifoliée distinctive. Feuilles alternes le long de la tige, dont la taille et la forme peuvent changer en fonction des conditions de croissance.
- 2. Des tiges latérales se développent à partir des nœuds de la tige principale : *M.truncatula* présente une croissance ramifiée. On peut observer cette ramification dès le début de la croissance de la plante.

Chapitre I : Revue bibliographique

- 3. La particularité de *M. truncatula* réside dans sa capacité à créer des nodules racinaires en collaboration avec des bactéries fixatrices d'azote du genre *Rhizobium*. On peut observer ces nodosités sur les racines, qui sont le lieu où l'azote atmosphérique est fixé, ce qui assure une alimentation en azote indispensable à la croissance de la plante.
- 4. Plantes de Papilionaceae : La structure florale des fleurs de *M. truncatula* est typiquement papilionacée, c'est-à-dire qu'elles présentent une grande pétale supérieure, la vexille, deux pétales latéraux, les ailes, et deux pétales inférieurs unis pour former la carène. Les fleurs sont généralement d'un rose ou d'un violet
- 5- Le fruit de *M. truncatula* : est une gousse, aussi connue sous le nom de légumineuse, qui se forme à partir des fleurs après la pollinisation. En général, les gousses sont allongées et renferment plusieurs graines. *M. truncatula* est un modèle privilégié pour l'étude d'une variété de processus biologiques, tels que la symbiose racinaire, la réaction aux stress environnementaux et le développement végétal. En raison de sa petite taille, de son court cycle de vie et de sa facilité de culture, il constitue un organisme modèle parfait pour les études en biologie végétale.



Figure 2: Caractéristiques morphologiques de *M. truncatula*

Des feuilles, fleurs, gousses et graines

Chapitre I : Revue bibliographique

M. truncatula est un modèle privilégié pour l'analyse de divers processus biologiques, tels que la coexistence des racines, la réaction aux stress environnementaux et le développement des plantes. La petite taille, le court cycle de vie et la facilité de culture en font un organisme modèle idéal pour les études de biologie végétale.

Est également connue sous le nom de luzerne tronquée, est remarquable. Cette plante herbacée annuelle appartient à la famille des Fabaceae, sous-famille des Faboideae, et est originaire du bassin méditerranéen. Elle est étroitement liée à la luzerne cultivée (***Medicago sativa***) et peut atteindre jusqu'à 40 cm de hauteur. Comme toutes les espèces du genre *Medicago*, *M. truncatula* présente des feuilles trifoliées composées de trois folioles,

ce qui la rend facilement identifiable. Mais ce qui la distingue des autres légumineuses, c'est sa capacité à former des associations symbiotiques avec des bactéries du sol pour fixer l'azote atmosphérique. Cette caractéristique en fait une plante modèle des Fabaceae, largement utilisée pour étudier les mécanismes de fixation de l'azote. De nombreux cultivars de *M. truncatula* sont parfois cultivés comme plantes fourragères, car ils sont riches en protéines et en nutriments. En outre, la petite taille et le cycle de vie court de cette plante en font un organisme d'étude privilégié, facile à cultiver et à manipuler en laboratoire. En somme, *M. truncatula* est une légumineuse herbacée annuelle aux caractéristiques uniques, utilisée comme plante modèle grâce à sa capacité à former des nodules fixateurs d'azote. Sa morphologie particulière, sa proximité avec la luzerne cultivée et son utilité pour l'agriculture en font une plante digne d'intérêt pour les chercheurs et les agriculteurs. (**Huguet T et al, 1995**), (**Lesins et Lesins, 1979**).

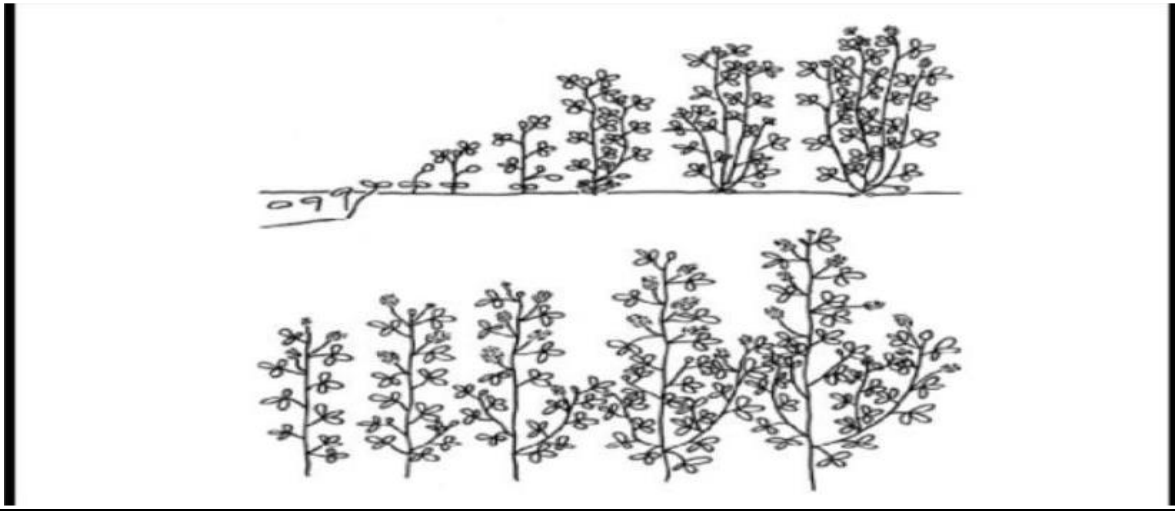


Figure 03: Développement de luzerne annuelle *M.truncatula*

I.2.classification :

I.2.1. Classification APG III (2003) :

Règne	Plantae
Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Noyau des Dicotylédones vraies
Clade	Rosidées
Clade	Fabidées
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Sous-famille	Faboideae
Tribus	Trifolieae

Chapitre I : Revue bibliographique

Genre	Medicago
Espèce	Medicago truncatula

Tableau 1 : Classification APG III de *M. truncatula*

1.2.2 Classification scientifique :

Nom scientifique	Medicago truncatula Gaertn
Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Super division	Dicotylédones
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
sous- classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae (Légumineuses)
Sous-famille	Faboïdeae
Tribus	Trifolieae
Genre	Medicago
Espèce	Medicago truncatula

Tableau 2 : Classification scientifique de *M. truncatula*

1.3. Biologie de Medicago truncatula:

1.3.1.cycle de vie :

Chapitre I : Revue bibliographique

M. truncatula est une plante herbacée annuelle qui a été largement utilisée comme modèle pour étudier le développement des légumineuses. Son cycle de vie est court, d'environ 10 à 12 semaines de graine à graine, ce qui en fait un choix idéal pour les études de développement.

Le processus de fécondation chez *M. truncatula* suit le processus de double fécondation typique des angiospermes. Le gamète mâle féconde l'oosphère pour former l'embryon diploïde, tandis que le second gamète mâle féconde les noyaux polaires de l'ovule pour former l'albumen triploïde. L'albumen joue un rôle crucial dans le développement de la graine en fournissant des nutriments à l'embryon en développement.

Après la fécondation, l'embryon passe par plusieurs stades de développement, notamment le stade globulaire, cordiforme, torpille et cotylédons. Pendant ce temps, l'albumen se développe également pour nourrir l'embryon en développement. La graine mature contient un embryon bien développé avec des cotylédons et une radicule, entouré par un albumen réduit.

En résumé, *M. truncatula* est un modèle utile pour étudier le développement des légumineuses en raison de son cycle de vie court et de sa fécondation suivant le processus typique des angiospermes. L'albumen triploïde joue un rôle important dans le développement de la graine en fournissant des nutriments à l'embryon en développement.

1.3.2. Les exigences de vie :

La plante modèle *M. truncatula* est couramment employée dans les études en raison de son génome séquencé et de ses propriétés propices à l'étude de la symbiose racinaire avec les bactéries fixatrices d'azote. Quant à ses besoins de vie, voici quelques éléments essentiels :

- 1. La plante *M. truncatula* est une plante annuelle qui vit dans le bassin méditerranéen, ce qui signifie qu'elle apprécie un climat tempéré à chaud. Il est possible de la cultiver à différentes températures, mais elle se développe mieux à des températures modérées, comprise entre 20 et 25 °C.

Chapitre I : Revue bibliographique

- 2. La lumière est essentielle pour *M. truncatula*, tout comme la plupart des plantes, afin de pouvoir réaliser la photosynthèse. En plein soleil, elle se développe davantage, mais elle peut supporter une certaine ombre partielle.
- 3. Le sol doit être correctement drainé afin d'éviter la détérioration des racines. On préfère un sol légèrement acide à neutre. La plante est capable de supporter des sols plutôt pauvres en nutriments.
- 4. L'eau est essentielle pour *M. truncatula*, mais elle peut supporter des périodes de sécheresse modérée une fois qu'elle est bien établie. Il est essentiel de limiter l'arrosage afin d'éviter l'engorgement du sol. Comme nous l'avons déjà mentionné, la plante peut supporter des sols relativement pauvres en nutriments. Toutefois, une alimentation équilibrée en engrais peut encourager une croissance dynamique.
- 5-Comme nous l'avons déjà mentionné, la plante peut supporter des sols relativement pauvres en nutriments. Toutefois, une alimentation équilibrée en engrais peut encourager une croissance dynamique.
- 6. L'interaction symbiotique entre *M. truncatula* et des bactéries fixatrices d'azote du genre *Rhizobium* se produit dans les racines, ce qui lui permet de fixer l'azote présent dans l'air. La croissance et le développement de cette interaction sont cruciaux dans des environnements où l'azote est restreint.

En somme, *M. truncatula* a une bonne réputation dans des régions de climat méditerranéen, où il y a une bonne exposition au soleil, un sol bien drainé et des apports d'eau ponctuels. Ses besoins de vie reposent également sur son interaction symbiotique avec les bactéries fixatrices d'azote.

1.4. La notion du stress :

Un stress englobe tous les troubles biologiques causés par une agression quelconque sur un être humain. D'après **Levitt (1980)**, il s'agit d'un élément de l'environnement qui peut engendrer une contrainte potentiellement néfaste sur un être vivant. Les émotions stressantes

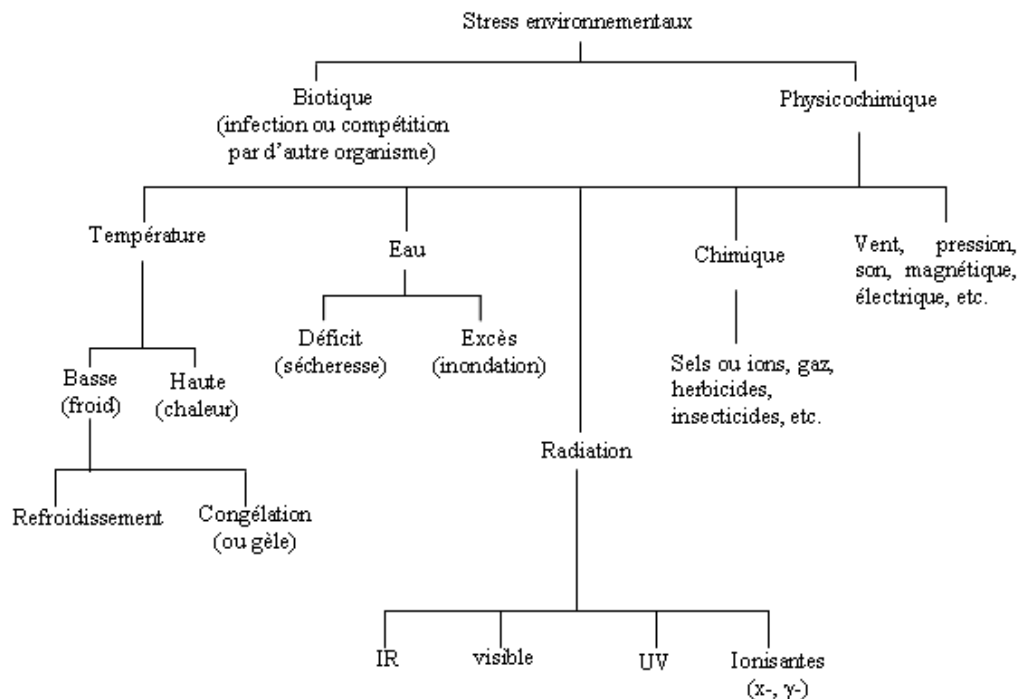


Figure 4 : Les différents stress environnementaux (Levitt, 1980).

Les polluants sont classés en deux catégories en fonction de leur origine.

- Stress biotiques :

Il existe de nombreux types de virus, d'organismes phytophages et de pathogènes. Pour y résister, la plante développe un système de défense qui entraîne une cascade de réactions. Les protéines défensives végétales fabriquées jouent un rôle de protection contre les agents pathogènes.

- Stress abiotiques :

Le stress abiotique peut être provoqué par différentes conditions environnementales : inondations, sécheresse, températures basses ou hautes, salinité excessive des sols ou des eaux, présence d'un minéral inadéquat dans le sol. Les cas des métaux lourds, l'exposition excessive à la lumière qui favorise l'inhibition de la photo, les conditions d'éclairage limitées, les rayons UV, les composés phytotoxiques tels que l'ozone, qui est un réacteur oxydant puissant, la pollution de l'air, les produits oxydés produits par les réactions de pesticides.

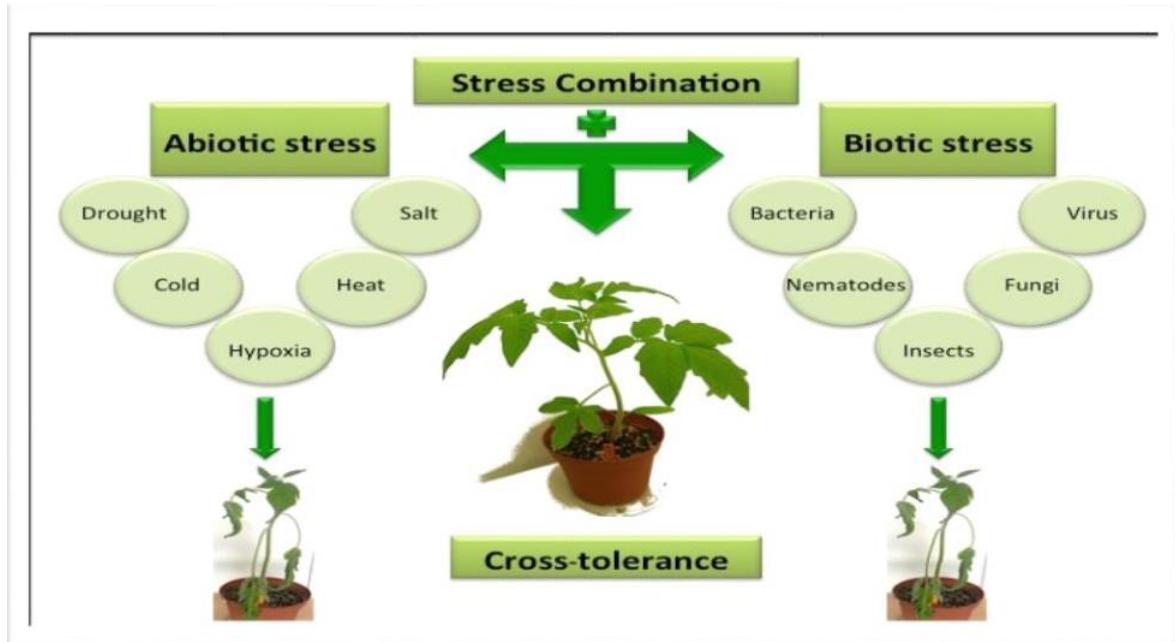


Figure 5 : Résistance aux stress abiotiques.

1.4.2. Présentation du stress salin :

Le stress salin est défini comme une concentration excessive en sel. Le terme stress salin s'applique surtout à un excès des ions, en particulier Na^+ et Cl^- .

1.4.3. Effets du stress salin sur la plante :

La salinité est une contrainte majeure qui affecte la croissance et le développement des plantes :

a) Effets sur la croissance et le développement :

La majorité des plantes présentent une sensibilité accrue à la salinité pendant leurs périodes de germination et de croissance. La variation de l'équilibre hormonal a été mentionnée parmi les raisons de l'inhibition de la germination en présence de sel

Chapitre I : Revue bibliographique

(Ungar,1978etKabar,1986dansBouchoukh,2010).

Malgré la présence d'une forte teneur en sel dans les tissus des halophytes à l'état adulte, leurs graines ne sont pas aussi sensibles au sel lors de la germination.

La salinité du sol limite souvent le stade de germination, qui est le plus sensible que les autres stades.

La salinité aurait un impact sur la croissance de la plante de différentes façons : La forte teneur en Na Cl réduit également l'absorption de Ca^{2+} , ce qui est très important.

*L'augmentation de la concentration en Na^+ dans la plante est associée à une diminution de la concentration en Mg^{2+} , K^+ , N, P et Ca^{2+} (Levitt, 1980). La présence de sel peut entraîner des réductions de croissance lorsque des ions essentiels tels que K^+ , Ca^{2+} ou NO_3^- deviennent limitants (Soltani, 1988 dans Haouala et al, 2004).

*Les effets osmotiques du stress salin peuvent également limiter la croissance des racines, ce qui limite les possibilités d'absorption des éléments nutritifs du so

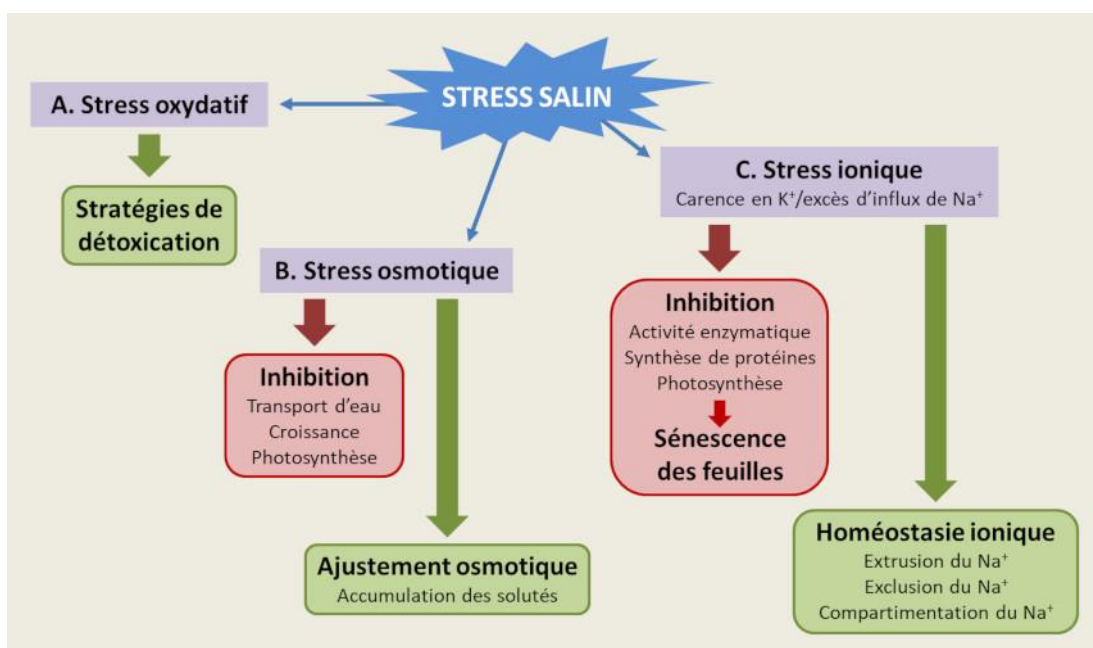


Figure 6: toxicité du stress Salin

b)Évolution de la nutrition :

La salinité a deux effets nutritionnels principaux sur les plantes : la toxicité directe causée par l'accumulation excessive d'ions dans les tissus et un effet de salinité. Équilibre nutritionnel causé par l'accumulation excessive de certains ions. La présence de concentrations salines excessives dans l'environnement entraîne une détérioration de la nutrition minérale des plantes. . La présence d'ions Na⁺ dans la plante restreint l'absorption des cations essentiels comme le K⁺ et le Ca²⁺. Le Na⁺ et le Ca⁺ seraient en concurrence pour les mêmes sites de fixation apoplasmique. Les ions Na⁺ et Ca²⁺ interagissent

c)Contributions à la biochimie de la plante :

Selon **Santiago et al. (2000)**, la présence de salinité diminue la vitesse de la photosynthèse en réduisant la conduction stomatique de CO₂. La lenteur de la photosynthèse est réduite. La déshydratation des membranes cellulaires, qui diminue leur perméabilité au CO₂, la toxicité du sel, ainsi que la diminution de l'approvisionnement en CO₂ en raison de la fermeture des stomates, sont responsables de cela. L'augmentation de la sénescence due à la salinité et à la modification de l'activité des enzymes due à la modification de la structure cytoplasmique. Chez différentes espèces plus ou moins robustes, un taux élevé de sucres totaux à cause d'un blocage de la glycolyse ou du saccharose issu d'une hydrolyse importante de l'amidon.

1.4.4. Réponses des plantes au stress salin :

La physiologie de la plante et le métabolisme sont généralement impactés par des concentrations élevées de Na Cl à divers niveaux (déficit d'eau, toxicité des ions, déséquilibre des nutriments et stress oxydatif) (**Vinocur et Altman, 2005**), avec au moins deux réponses principales. .

Il est possible d'estimer : une réponse protectrice rapide associée à une réponse d'adaptation à long terme. Les changements dans l'architecture de la plante et de sa croissance (pousses et racines), les variations d'épaisseur des feuilles de la cuticule, la

Chapitre I : Revue bibliographique

régulation stomatique, la germination et le taux de photosynthèse sont généralement liés à cette tolérance au sel (**Edmeades et al, 2001**).

Ces changements sont associés à différentes modifications cellulaires, telles que les changements de la membrane et de la stabilité des protéines, une augmentation de la capacité antioxydante et l'activation des voies de signalisation hormonales, en particulier celles qui sont liées à l'hormone synthase .

L'hormone du stress, l'acide abscissique, est responsable de cela (**Vinocur et Altman, 2005**). De nombreux gènes provenant d'une multitude de voies biochimiques jouent un rôle dans des réponses qui permettent de tolérer le sel. Il y a plusieurs voies impliquées dans la transmission du signal, le métabolisme du carbone et la production d'énergie, la protection contre le stress oxydatif, l'absorption, l'exclusion, le transport et la compartimentation des ions sodium, ainsi que les changements dans les éléments de structure des parois et des membranes cellulaires.

De plus, étant donné l'importance de réguler le métabolisme afin d'optimiser la croissance dans un environnement changeant, des recherches ont été menées afin de repérer des métabolites dont l'accumulation peut accroître la tolérance des légumineuses à l'eau salée.

Par exemple, des changements de lipides en réponse à un traitement de sel ont été caractérisés dans les membranes soja profondes (**Surjus et Durand, 1996**) ainsi que l'effet du stress de sel d'acide aminé, un acide organique, et la composition en hydrates de carbone des racines, des bactéroïdes, et cytosol de luzerne (**Medicago sativa** **Fougère et al, 1991**). En réponse au stress salin, le tréhalose a également été proposé comme un smoprotectant dans *Lotus japonicus* (**Lopez et al, 2006**) alors qu'une augmentation de la proline et le contenu de la glycine bêtaïne, ainsi que dans la protéase et les activités ATPase a été décrite dans l'arachide. (**Trinchant et al, 2004**) ont étudié les réponses à long terme de plantes de luzerne nodulées au stress salin, avec un intérêt particulier pour la proline et l'accumulation de bêtaïne, cloisonnement, et le métabolisme. Trigonelline, une bêtaïne de la pyridine, qui fonctionne également comme un régulateur du cycle cellulaire ,accumule dans des feuilles de sel de soja

souligné et la luzerne (Tramontano et Jouve,1997). Cependant, peu d'études métaboliques ont été exécutées dans *Medicago truncatula*.

L'accumulation de proline a été montrée pour induire une tolérance à un stress de sel, et *Medicago truncatula* des plantes transgéniques sur-exprimant la delta (1) -pyrroline-5-carboxylate synthétase (P5CS), et qui accumule donc des niveaux élevés de proline, affichent une amélioration de la tolérance osmotique (Armengaud et al, 2004; Verdoy et al, 2006).

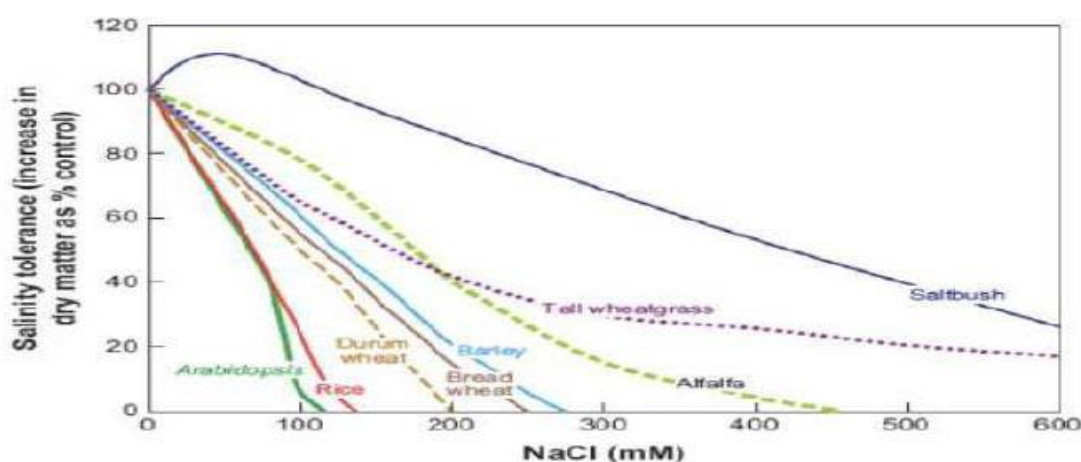


Figure 7: La tolérance à la salinité chez quelques espèces végétales

(Mahajan, 2005)

1.5 Quel est le rôle du CSE dans la biosynthèse de la lignine chez l'*Arabidopsis thaliana* ?

La biosynthèse de la lignine chez l'*Arabidopsis thaliana* joue un rôle essentiel dans la formation et la structure des parois cellulaires végétales comme la résistance au stress salin. Ce dernier peut être influencé par le gène caffeoyl shikimate esterase, qui est une enzyme codant pour la voie de la biosynthèse de la lignine. Le CSE provoque la métamorphose du caffeoyl shikimate en acide caféique, une étape cruciale dans la synthèse des monolignols qui sont les premiers à former de la lignine qui peut avoir un effet protecteur sur la plante en renforçant sa paroi cellulaire et en agissant comme un antioxydant. La perte de

Chapitre I : Revue bibliographique

fonction de CSE provoque un nanisme sévère, un développement altère et une réduction de 75% de la teneur en lignine chez l'Arabidopsis .

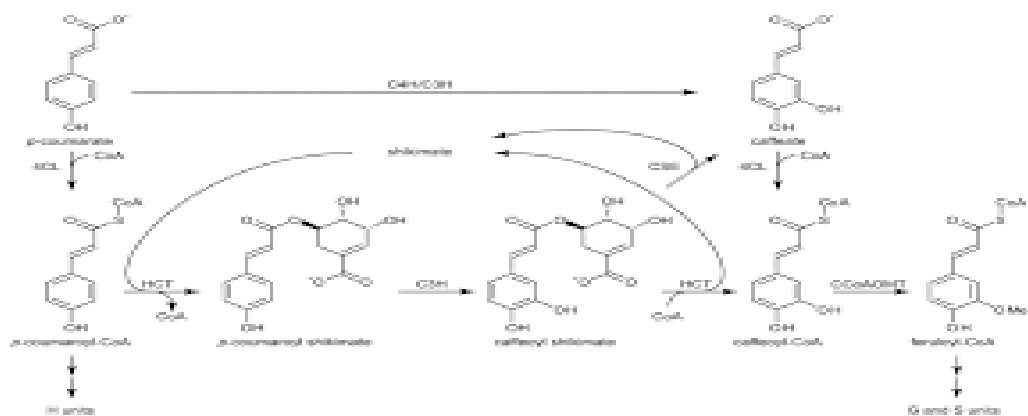


Figure 8 : Composition chimique du La caféoyl shikimate estérase (CSE)

- Examinons à présent l'objectif de cette étude, qui consiste à trouver un gène lié à la protection cellulaire contre le stress salin, et à identifier d'autres gènes présentant un profil d'expression similaire, car ils jouent également un rôle dans le stress salin chez le modèle *Medicago truncatula*.

Chapitre II :

Matériels et Méthodes

II. Matériel et méthodes :

II.1 Matériel :

- **TAIR :** La ressource d'information sur l'Arabidopsis (TAIR) est une base de données contenant des informations génétiques et moléculaires sur la plante Arabidopsis thaliana. Elle inclut la séquence du génome, la structure des gènes, l'expression des gènes, les stocks d'ADN et de semences, les cartes du génome, les marqueurs génétiques et physiques, les publications et les informations sur la communauté de recherche. Les données sont mises à jour chaque semaine à partir des dernières recherches et des contributions de la communauté. TAIR propose également des liens vers d'autres ressources sur l'Arabidopsis
- **INRAE :**
Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement
- **NCBI :**Le National Center for Biotechnology Information (NCBI) est un centre de recherche américain qui fait partie des National Institutes of Health (NIH). Il abrite plusieurs bases de données importantes pour la biotechnologie et la biomédecine..
Il a été utilisé pour identifier le nom du gène et ses informations
- **MTGEA :**
Le Gene Expression Atlas de M.truncatula est une base de données qui permet de créer un atlas des profils d'expression génique pour la plupart des gènes de cette variété de légumineuses. Cette base de données est utilisée car Medicago truncatula est un modèle important pour la génétique, la génomique et la sélection des légumineuses.
- **python:**
Python est un langage de programmation polyvalent utilisé dans une variété de domaines, notamment le développement de logiciels, la science des données, le machine learning et les applications Web.
- **GENBANCK:**

Une base de données de séquence ADN ,contenant les séquences des de nucléotides qui sont accessibles au public et leur traduction en protéines.

- **Excel** : Logiciel tableur.

II.2. Méthodes :

Le processus de travail commence par le choix du probset ID et la collecte des informations sur l'expression du gène de référence LOC11422042 . Ensuite, il y a la collecte et la classification des données relatives au au stress salin. Enfin, l'analyse statistique est effectuée à l'aide de R.

II.2.1. choix du probset ID :

À partir de la base de données Mtgea , on a pue télécharger le tableaux des données d'expression du gène du modél M.truncatula ,qui nous a permis de sélectionner la probset id suivante : Mtr.10127.1.S1_s_at.

	A	B	C	D
2162	Mtr.10126.1.S1_at	4.23867223413523	4.33482567251619	4.88680861922382
2163	Mtr.10127.1.S1_at	4.0939066112317	3.91626643514462	3.50219055215958
2164	Mtr.10127.1.S1_s_at	5.08773013939135	4.35155766245043	5.88484453531888
2165	Mtr.10128.1.S1_at	6.23438827027741	6.45121440941723	7.82722201143335
2166	Mtr.10129.1.S1_at	5.33221024331269	4.37104302435023	4.30399987508599
2167	Mtr.1013.1.S1_at	5.42128726794877	4.73871920581065	5.19498530408097
2168	Mtr.10130.1.S1_at	4.27133602779972	4.20317765946336	4.92141252690347
2169	Mtr.10131.1.S1_at	5.04362447674704	3.53841400208742	3.78262872687662
2170	Mtr.10132.1.S1_at	5.81243147989093	5.39483307455624	5.08381330249185
2171	Mtr.10133.1.S1_at	6.94988505922693	8.17891876290473	8.01410976395637
2172	Mtr.10134.1.S1_at	4.36471949565372	5.74344495352629	5.61420923041811
2173	Mtr.10135.1.S1_at	6.32526227479457	8.52735188887012	4.44451468009311
2174	Mtr.10136.1.S1_at	3.34475181628622	5.745356566915141	3.36194237050534
2175	Mtr.10137.1.S1_at	8.10405878844484	4.63426217724692	3.965442614021
2176	Mtr.10138.1.S1_at	5.77482394996161	6.03155179147624	8.0485571280285
2177	Mtr.10139.1.S1_at	3.39578259606281	4.81227230521908	4.68937185264069
2178	Mtr.1014.1.S1_at	3.87064090142766	5.41153132541996	5.35899749404085
2179	Mtr.10140.1.S1_at	2.58943033455031	3.77340562728254	3.89446856460339
2180	Mtr.10141.1.S1_at	4.40210136795022	6.96802161164853	3.78273355409252
2181	Mtr.10142.1.S1_at	5.30891417306228	8.03185280352043	4.68937185264069

Figure9 : le tableaux des données d’expression du gène du modél M.truncatula

II.2.2. Recherche du gène correspondant au probset ID :

- On a récupéré l'identifiant MtrunA17_Chr1g0195501 et sa séquence CDS par la base de données INRA à partir du moteur de recherche legoo.

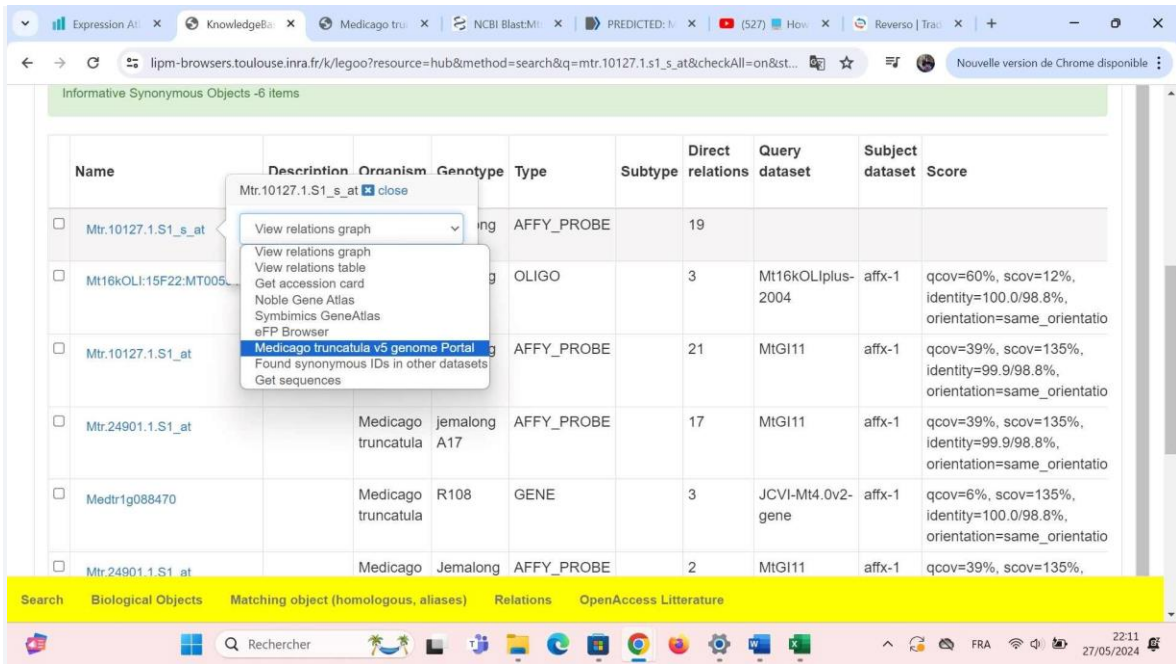


Figure 10: le navigateur legoo

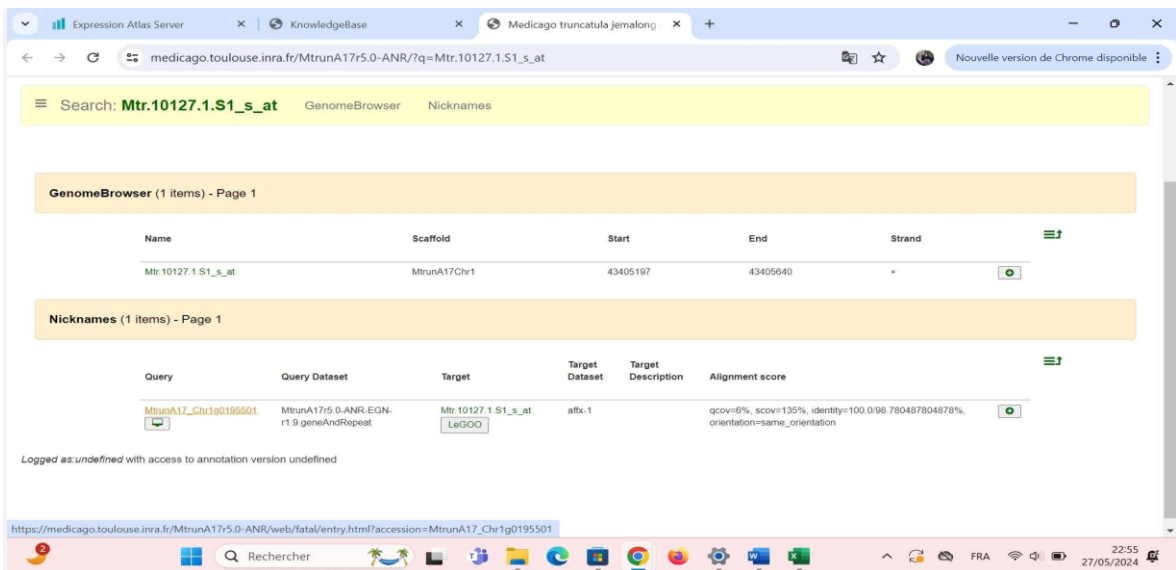


Figure11 :base de données INRA

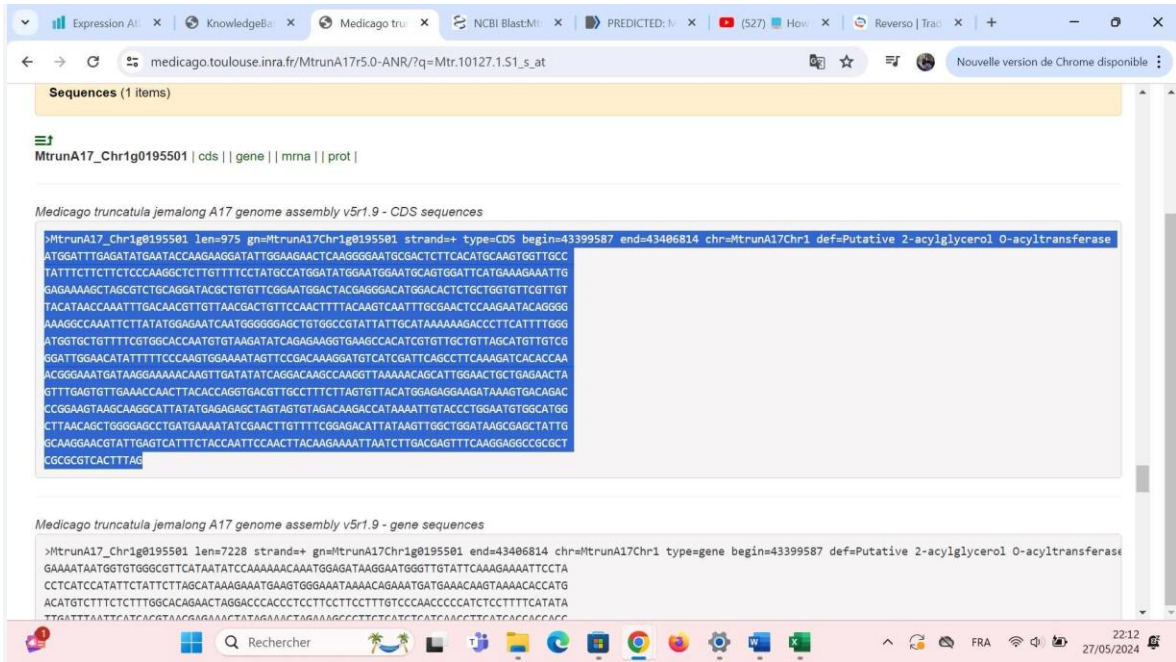


Figure12 : séquence CDS du géné.

- Apres avoir placer la sequence précédente dans la base de données NCBI sur la blast N et cliquez sur la première colonne .
- On va obtenir le nom de notre géné référence Caffeoyl shikimate esterase (LOC11422042).

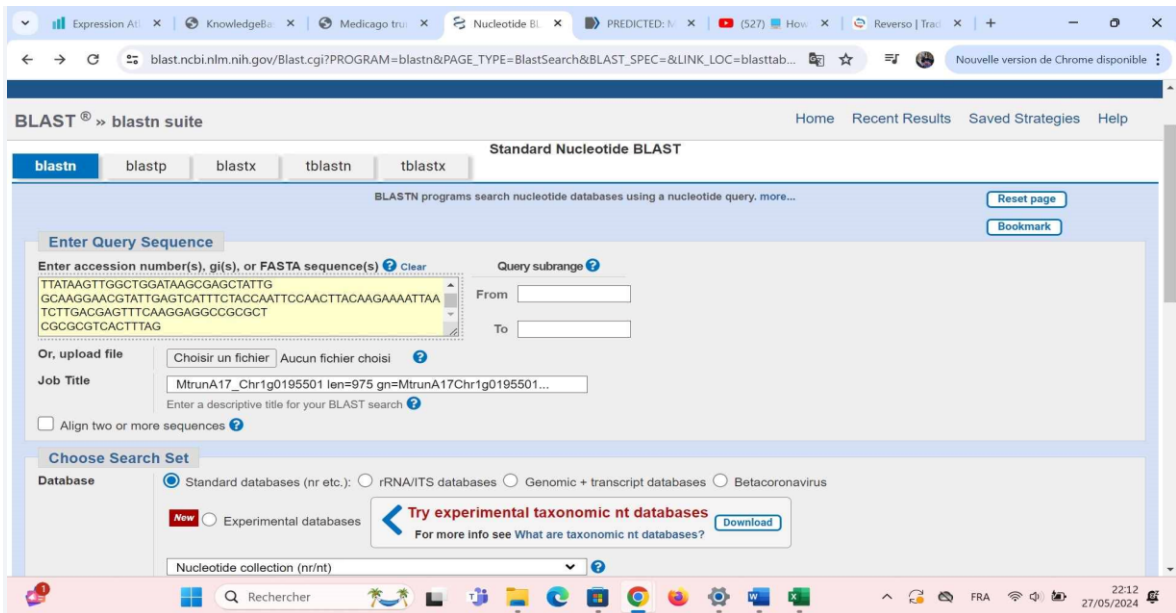


Figure13 :Interface NCBI (Blast N)

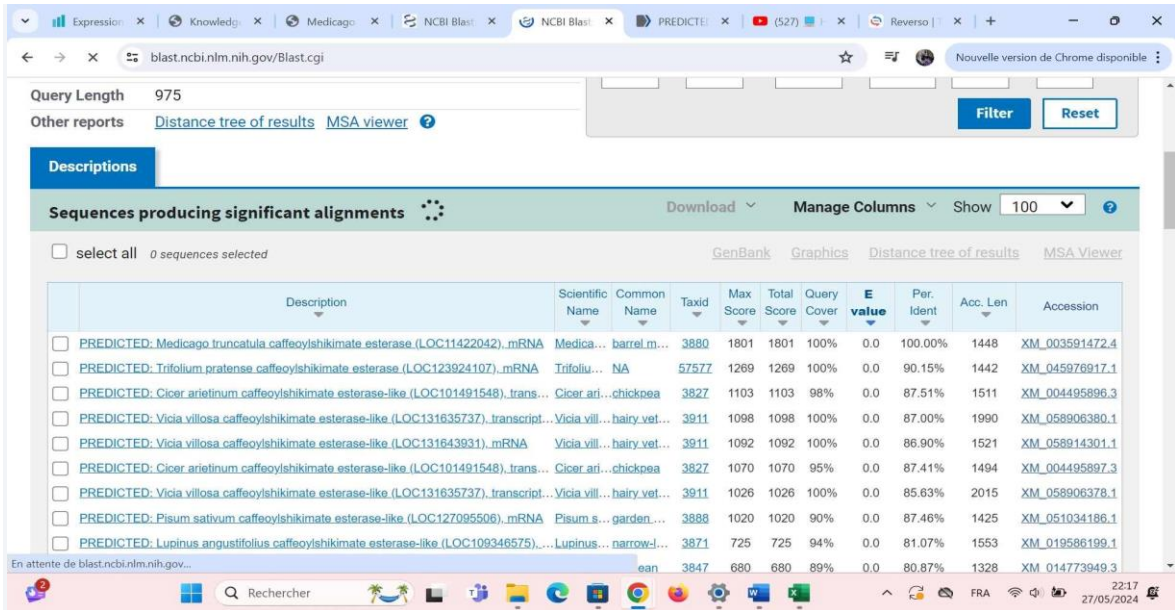


Figure14 : Interface NCBI

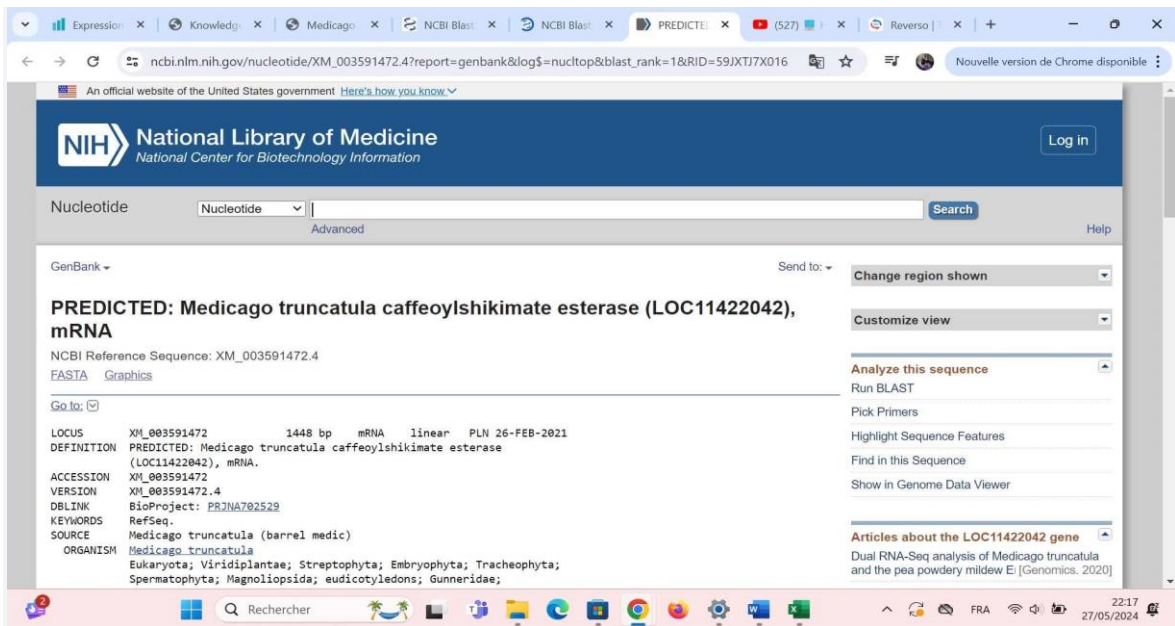


Figure15 : Interface GenBnk montré le nom du gène.

II.2.3 .Profil d'expérience au stress salin :

On à insérer la probset ID du gene LOC11422042 sur la base de données mtgea à fin d'avoir le profil d'expression suivant :

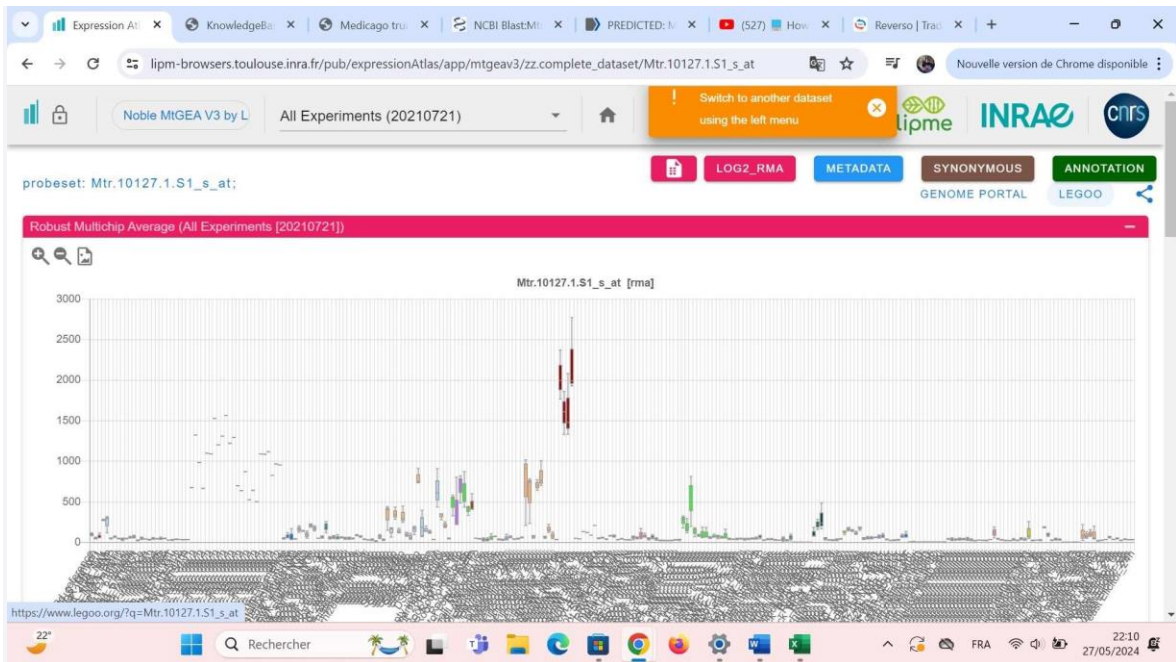


Figure 16 :Le profil d’expression du gène CSE sur MtGEA.

II.2.4 .Choix des conditions :

- Aux niveaux du moteur de recherche MtGea on sélectionne l ensemble des conditions par rapport à leur profil d’expression.

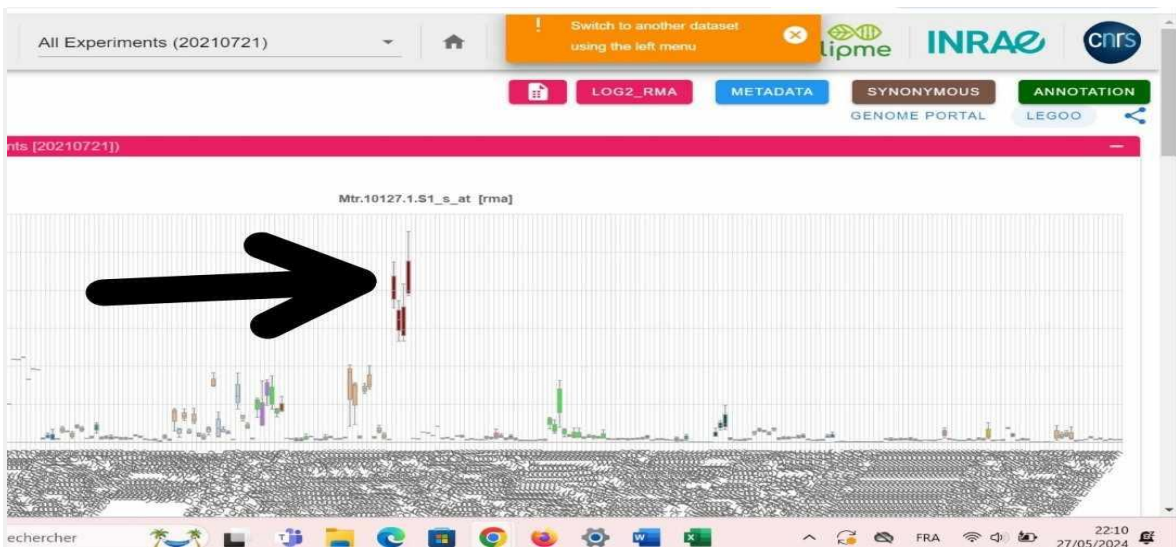


Figure17 : Pique correspondante aux condition sélectionner

- Élimine les conditions indésirables et maintenir les conditions requises dont chaqu’une à 3 Répétition avec leur valeur pour obtenir la moyenne.

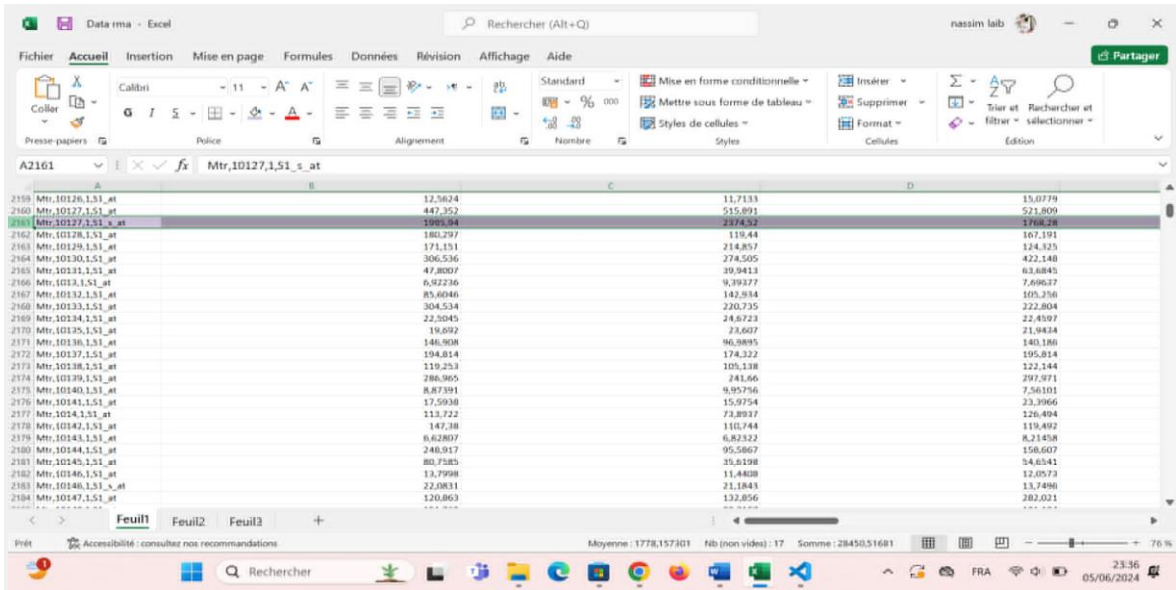


Figure 18: Fichier excel télécharger par MTGEA.

➤ les regrouper dans un nouveau fichier excel avec leur moyenne calculer.

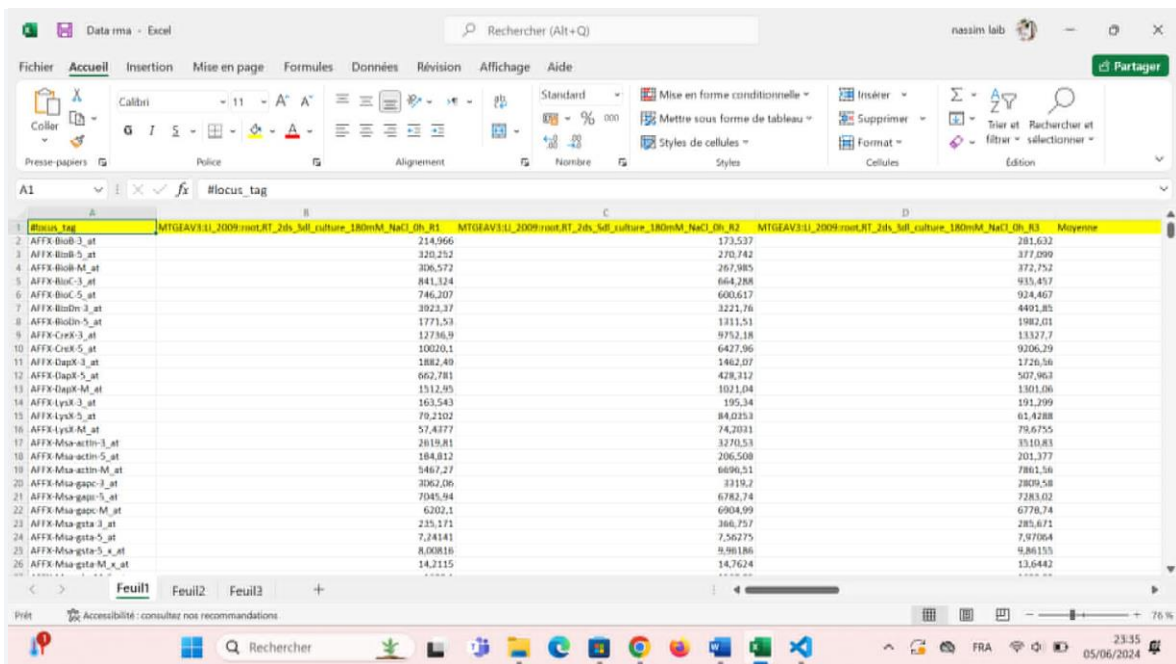


Figure 19 : Fichier excel regroupe les conditions requis et leur moyenne.

root,RT _2ds_Sdl_ culture_ 180mM_ NaCl_ 0h	root,RT_ _2ds_Sdl_ culture_ 180mM_ NaCl_ 6h	root,RT_ _2ds_Sdl_ culture_ 180mM_ NaCl_ 24h	root,RT_ _2ds_Sdl_ culture_ 180mM_ _NaCl_ 48h
2046,24667	7,74014667	1631,23333	2231,55667

Tableaux03 : les moyennes relatives au stress salin .

II. 2.5.Etude statistique par pyhton :

Grace a ce langage de programmation ,nous avons pu créer ce code qui est utilisé pour analyser les données d'expression d'un gène spécifique (probset ID) et de ses ensembles de sondes associés en fonction de leurs distances.

Voici une ventilation étape par étape :

1-Importer des bibliothèques et charger des données : Le code commence par importer les bibliothèques nécessaires :

- ✓ pandas pour la manipulation des données,
- ✓ scipy.spatial.distance pour le calcul des distances, matplotlib.pyplot pour le traçage
- ✓ seaborn pour la visualisation des données.

Il charge ensuite les données d'expression à partir d'un fichier nommé

« MtGEAv3.log2_rma.tsv » à l'aide de pandas.read_csv.

Le fichier est supposé être un fichier de valeurs séparées par des tabulations avec la première colonne comme index.

```

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

# 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)

data

# Define the lists of conditions for filtering columns
condition_1 = ['MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_0h_R1',
               'MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_0h_R2',
               'MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_0h_R3',
               ]
    
```

Figure 20 : Les formules des commandes utilisées dans python .

2- Définir les conditions : Le code définit quatre conditions :

condition_1, condition_2, condition_3 et condition_4. Chaque condition correspond à un instant spécifique (0h, 24h, 48h et 6h) et à un numéro de réplication (R1, R2, R3).

```

# Define the lists of conditions for filtering columns
condition_1 = ['MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_0h_R1',
               'MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_0h_R2',
               'MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_0h_R3',
               ]

condition_2 = ['MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_24h_R1',
               'MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_24h_R2',
               'MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_24h_R3',
               ]

condition_3 = ['MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_48h_R1',
               'MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_48h_R2',
               'MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_48h_R3',
               ]

condition_4 = ['MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_6h_R1',
               'MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_6h_R2',
               'MTGEAV3:Li_2009:root_RT_2ds_Sd1_culture_180mM_NaCl_6h_R3',
               ]

# Compute the mean value of repetitions (R1, R2, R3) for each condition
    
```

Figure 21 : classification des condition

3- Calculer l'expression moyenne : Pour chaque condition, le code calcule l'expression moyenne de tous les ensembles de sondes à l'aide de `data[condition].mean(axis=1)`.

Ceci est stocké dans le DataFrame `Mean_data`.

```

[4]
# Compute the mean value of repetitions (R1, R2, R3) for each condition
mean_data = pd.DataFrame()
mean_data['NaCl_0h'] = data[condition_1].mean(axis=1)
mean_data['NaCl_24h'] = data[condition_2].mean(axis=1)
mean_data['NaCl_48h'] = data[condition_3].mean(axis=1)
mean_data['NaCl_6h'] = data[condition_4].mean(axis=1)

mean_data

[5]
...

# Define the probeset of interest
probeset_of_interest = 'Mtr.10127.1.S1_s_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.")

[6]

```

Figure 22 : le code pour les calculs des moyennes

4-Définir l'ensemble de sondes d'intérêt : Le code définit un jeu de sondes spécifique d'intérêt, « Mtr.10127.1.S1_s_at ».

5- Vérifier l'existence du jeu de sondes : Il vérifie si le jeu de sondes qui vous intéresse existe dans le DataFrame Mean_data.

Si ce n'est pas le cas, une ValueError est générée.

6-Extraire les données du jeu de sondes : Le code extrait les données de l'ensemble de sondes qui vous intéresse à partir de Mean_data.

7-Calculer les distances : Il calcule les distances euclidiennes entre l'ensemble de sondes d'intérêt et tous les autres ensembles de sondes dans Mean_data à l'aide de cdist. Les distances sont stockées dans le tableau distances.

8-Créer un DataFrame de distance : Le code crée un DataFrame distance_df avec les distances et les noms des ensembles de sondes comme noms d'index et de colonne.

9-Trier et filtrer les distances : Il trie les distances par ordre croissant et filtre les premiers ensembles de sondes num_probesets_to_display avec les plus petites distances.

```

# Extract the row for the probe set of interest
probeset_data = mean_data.loc[[probeset_of_interest]]

# Calculate the distances between the probe set of interest and all other probe sets
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 probe sets
related_probesets = distance_df.sort_values(by='Distance')

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

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

top_related_probesets

```

Figure 23 : le code pour les calculs des distances.

10-Afficher les jeux de sondes associés : Le code affiche les principaux ensembles de sondes liés à num_probesets_to_display ainsi que leurs distances et me donne les 20 gènes plus proche.

```

# Display the related probe sets
print(f"Top {num_probesets_to_display} probe sets 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 probe sets')
plt.xticks(rotation=90)
plt.tight_layout()
plt.show()

```

Top 20 probe sets related to Mtr.10127.1.S1_s_at :

Probeset	Distance
Mtr.10127.1.S1_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S2_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S3_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S4_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S5_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S6_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S7_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S8_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S9_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S10_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S11_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S12_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S13_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S14_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S15_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S16_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S17_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S18_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S19_s_at	0.000000
Mtr.10127.1.S20_s_at	0.000000

Figure 24 : le code pour afficher que les conditions sont remplies.

Cette analyse permet d'identifier les ensembles de sondes les plus similaires à l'ensemble de sondes d'intérêt en fonction de leurs modèles d'expression.

Chapitre III :

Résultats et

discussion

III Résultats et discussion :

III.1 Résultats :

En analysant les données d'expression de 20 gènes sélectionnés par le logiciel python , nous avons pu observer les résultats suivant :

Une carte de chaleur, également connue sous le nom de heatmap,qui est un outil de visualisation de données ,on utilisant des couleurs pour représenter les zones les plus visitées et les moins visitées

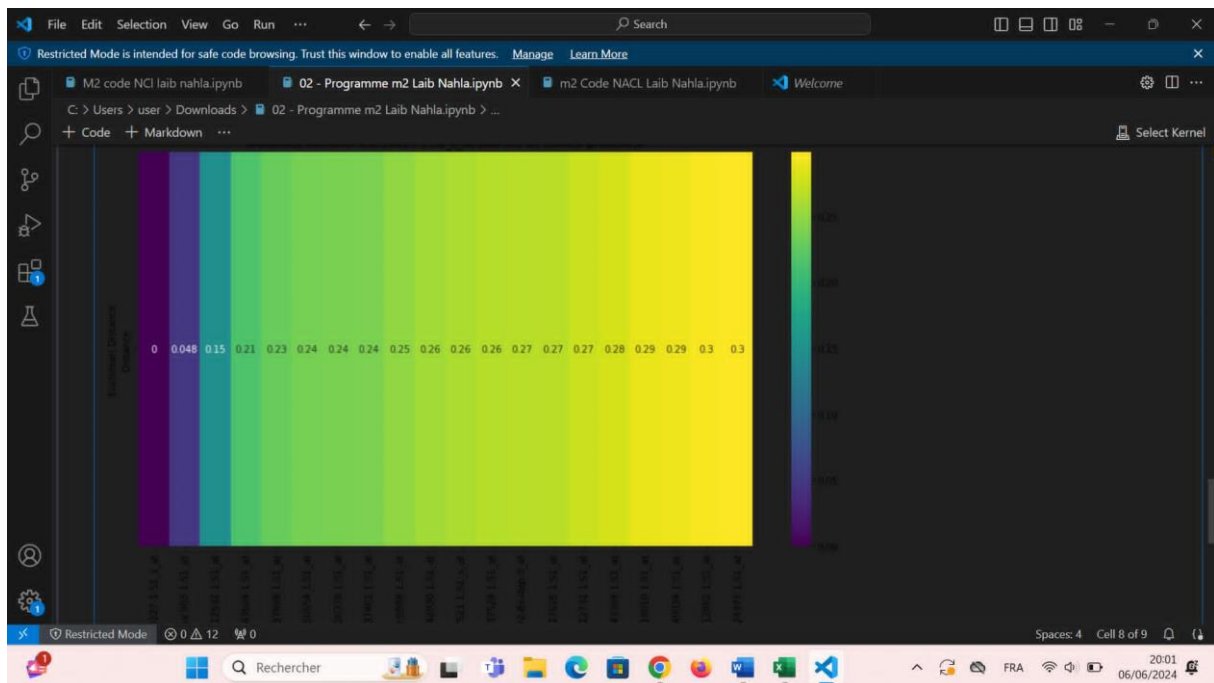


Figure 25 : Heatmap obtenus grâce à cette étude.

Dans cet carte de chaleur , on distingue 20 gènes de M.truncatula, ces gènes sont regroupés entre eux dans un graphique en couleur , où les couleurs les plus froid (du violet aux bleu) represent el'ensemble des gènes les plus proches aux gène références LOC11422042 selon leur distances , et les couleurs les plus chaudes (du vert aux jaune) représente l'ensemble des gènes les plus loin du gène clé .

- L'utilisation des probset ID des différents gènes nous permis de trouver l'identifiant des gènes correspondents.

<i>Locus tag</i>	<i>Identifiant</i>	<i>Annotation</i>	<i>Distance</i>
Mtr.10127.1.S1_s_at	Medtr1g088470	2-acylglycerol O-acyltransferase.	0.000000
Msa.963.1.S1_at	Medtr7g107310	2Fe-2S ferredoxin-type iron-sulfur binding domain	0.048317
Mtr.12591.1.S1_at	Medtr2g054920	serine-Threonine kinase receptor-associated protein	0.214625
Mtr.37888.1.S1_at	Medtr2g030450	CBL-interacting protein kinase 1	0.228594
Mtr.50554.1.S1_at	Medtr8g097040	la famille des répétés satellites	0.236562
Mtr.26378.1.S1_at	Medtr5g078330	chromatin remodeling & transcriptional activation HMG family	0.238107
Mtr.37462.1.S1_at	Medtr1g096460	ribosomal protein L21	0.239413
Mtr.9098.1.S1_at	Medtr7g038730	cellular repressor of E1A -stimulated gene	0.248813
Mtr.42930.1.S1_at	Medtr3g118100	PHOSPHOPANTOTHENATE-CYSTEINE LIGASE2	0.257159
Mtr.17521.1.S1_s_at	Medtr4g112540	chaperone like protein of por1	0.261909
Mtr.37524.1.S1_at	Medtr8g021190	DUF1677 family protein	0.264702
AFFX-r2-Bs-dap-3_at	no result	no result	0.266036
Mtr.17625.1.S1_at	medtr8g016840	RING ZINC FINGER PROTEIN	0.267112
Mtr.12731.1.S1_at	Medtr4g036265	Glyceraldehyde 3-phosphate	0.274794

		dehydrogenase	
Mtr.43389.1.S1_at	Medtr7g112403	protein dehydration-induced 19	0.279185
Mtr.18010.1.S1_at	Medtr4g101090	AUTOPHAGY-RELATED PROTEIN	0.288781
Mtr.40034.1.S1_at	Medtr1g104930	hydroxyisoflavanone dehydratase, Carboxylesterase	0.291311
Mtr.12862.1.S1_at	Medtr1g103150	Histone acetyltransferase of the GNAT family	0.295135
Mtr.24373.1.S1_at	Medtr1g083780	zinc-binding protein.	0.29837815:08

Tableau4: : Les identifiants et les annotation et les distance obtenus.

III.2 Discussion :

Lorsque les plantes sont confrontées à des conditions environnementales difficiles, tels que une forte salinité (stress salin) développent des réactions contrôlées par des voies de signalisation qui dépendent des changements dans l'expression de leurs gènes.

Dans cette étude, en se concentrant sur la voie de l'ABA, nous avons pu identifier différents groupes de gènes impliqués dans les réponses des plantes aux stress salins, en fonction de leur rôle spécifique :

- *Des genes code pour les proteines* : Les plantes d'*Arabidopsis thaliana* développent des mécanismes de tolérance au stress salin grâce à des protéines spécialisées. Ces protéines jouent des rôles essentiels comme l'équilibre des ions, en préservant les protéines et les membranes, en ajustant la concentration des solutés à l'intérieur des cellules et en évitant la perte de turgescence, les processus physiologiques restent stables et efficaces. (Sahar Sellami Jallouli, 2019)
- *Les genes codants pour Les facteurs de virulence* : L'étude vise à comprendre comment les plantes réagissent aux stress salins chez la *M. truncatula* en analysant les facteurs de

virulence , ces derniers permetent aux plantes de déclencher des mécanismes de protection, comme la production d'ABA et d'enzymes antioxydantes, afin de prévenir les dommages causés par le stress oxydatif dans leurs cellules.(**Manuella van Munster,2019**)

- *Les facteurs de transcription* : Les facteurs de transcription sont reconnus pour leur influence dans la régulation de l'expression génique et jouent un rôle essentiel dans l'immunité innée des plantes Parmi les différentes familles de facteurs de transcription identifiées on cite la calmoduline qui est une protéine qui contrôle l'activité de facteurs de transcription en réponse aux conditions salines ,l'isoforme CAM4 augmente la transcription des genes de stress gérés par le facteur MYB , améliorant ainsi la capacité de la plantes à résister aux stress salin . (**BenoîtRanty*, Didier Aldon et Jean-Philippe Galaud,2007**)
- *Groupes qui codes pour les kinases dépendantes de calcium* :La protéine kinase CPK3, activée par le calcium, est primordiale pour qu'Arabidopsis thaliana s'adapte au stress salé. Son activation est indépendante des voies de signalisation MAPK. Lorsque le gène cpk3 est muté, la plante devient plus sensible au stress salin, mais une expression élevée de CPK3 améliore sa résistance à ce stress.(**Norbert Mehlmer,2010**)
- *Groupe de genes codes pour les Proteines type dehydrine (DHN) et latembreyo genes isabundant (LEA)* :Ces proteines sont hydrophile et joue un role important pour protéger les cellules de la M.truncatula lorsqu'elles subissent le stress salin , Elles contribuent à la tolérance de cette plante en protégeant les structures cellulaires et en régulant l'équilibre osmotique. Une étude approfondie de ces protéines permettrait de mieux comprendre leurs fonctions précises dans la réponse de la plante au stress.(**OUIS Miryam et BELKHODJA Moulay,2012**)
- *Les Proteines ribosomal* :Le role des proteines ribosomales dans le strss salin chez l'Arabidopsis thaliana est lié a la régulation de la croissance et de la reponse au stress salin.Les individus présentant certaines mutations, en particulier dans les voies de

signalisation impliquant les protéines ribosomiques, peuvent devenir plus vulnérables au stress salin. Par exemple, les organismes portant des mutations dans la voie de signalisation de l'ABA (acide abscissique) peuvent être plus sensibles à la déshydratation et au stress salin..(Bastien Malbert,2019)

- *Groupes des protéines transmembranaire* :Le role des transmembranaire dans le stress salin chez l'Arabidopsis thaliana est étudié dans plusieurs travaux scientifiques .des protéines de défense spécialisées, comme les glucanases et les protéines PR (Pathogenesis-related) jouent un rôle crucial aux stress environnementaux ,Ces protéines protègent les cellules végétales contre les dommages causés par le stress aussi sert à modifier la fonctionnalité des plantes , en participant au transport des ions .
- *les facteurs de transcription de type C2H2* :les facteurs de transcription de type C2H2 sont essentiels pour permettre aux plantes, comme Arabidopsis thaliana, de faire face aux défis environnementaux, tels que le stress salin . Ils assurent une régulation fine des processus cellulaires lorsque la plante est soumise à des stress abiotiques.permet de modifier l'expression du gène impliqué dans la gestion du stress , tels que la biosynthèse de métabolites secondaires et la régulation de l'homeostasie ionique.
- *Les superfamily des protéines* :Les superfamily de protéines jouent un rôle crucial dans la gestion du stress salin chez Arabidopsis thaliana tels que : Protéines PPR (PentatricopeptideRepeat) et Protéines F-box
 - PPR (Pentatricopeptide Repeat) :Les PPR sont impliqués dans la maturation des ARN des organites qui influence l'expression des gènes des organites
 - Protéines F-box : Les protéines F box sont impliqués dans la régulation de la dégradation des protéines et jouent un rôle dans la réponse au stress salin .Face aux défis du stress salin,les plantes mettent en place des mécanismes de signalisation, réglés par différents groupes de gènes tels que : les protéines ribosomales , les facteurs de transcription,les facteurs de virulence et les kinases .
- *Le gène LOC11422042* : est un élément clé dans la tolérance au stress salin ,est impliqué dans la modification de l'anatomie des tissus vasculaires et de l'homéostasie des sucres dans la hampe florale au stress salin,cette modification contribue à la

tolérance au NaCl en permettant une meilleure allocation des ressources et une adaptation à l'environnement défavorable.

Conclusion et perspectives

- ✓ Diverses recherches ont permis de comprendre les différentes manières dont la luzerne tronquée connue sous le nom scientifique *Medicago truncatula* adapte aux conditions abiotiques de son environnement.

Le stress abiotique peut perturber la croissance et le bon fonctionnement des végétaux. Cependant les plantes ont développé des moyens pour s'adapter à conditions difficiles comme la salinité élevée. Cette capacité d'adaptation repose sur plusieurs mécanismes notamment : profil d'expression des gènes.

- ✓ L'objectif de notre travail consiste à rechercher les gènes impliqués dans la réponse au stress salin chez le modèle biologique *M. truncatula*, nous avons réalisé une analyse *in silico* de données de transcription issue de puces de type Affymetrix.
- ✓ Dans ce projet, nous avons étudié les gènes de *M. truncatula* en explorant diverses bases de données telles que MTGEA et GENBANK.
- ✓ Grâce au profil d'expression dans les conditions NaCl, nous avons réalisé une carte de chaleur appelée heatmap par l'utilisation du logiciel python constituée de 20 gènes avec leurs différentes familles et rôles.
- ✓ D'après l'analyse des diverses caractéristiques étudiées, nous pouvons affirmer que les gènes de *M. truncatula* jouent un rôle essentiel dans la tolérance des plantes à la forte salinité à travers différentes fonctions.

- Concernant notre perspective, pour les projets à venir, notre objectif est d'étendre et d'enrichir notre travail :

L'identification de la fonction des gènes peut être réalisée en combinant diverses méthodes expérimentales, telles que l'analyse *in silico* ou bien les analyses *in vivo* et *in vitro*.

Ces gènes sont capables de s'adapter à d'autres situations stressantes, leur permettant ainsi de s'engager sur la voie de *Medicago truncatula*.

Référence

bibliographique

Références bibliographique :

1- Revue des Régions Arides - Numéro Spécial - n° 35 (3/2014) - Actes du 4ème Meeting International "Aridoculture et Cultures Oasisennes : Gestion des Ressources et Applications Biotechnologiques en Aridoculture et Cultures Sahariennes : perspectives pour un développement durable des zones arides, 17-19/12/2013

2- UNIVERSITÉ D'ANGERS Année : 2009 N° d'ordre : 973 Étude cellulaire et moléculaire de la germination chez *Medicago truncatula* Thèse de doctorat Spécialité : Biologie Cellulaire et Moléculaire Végétale ÉCOLE DOCTORALE VÉGÉTAL-ENVIRONNEMENT-NUTRITION AGRO-ALIMENTAIRE-MER Présentée et soutenue publiquement le : 27 mai 2009 à : Angers par : Christine Gimeno-Gilles Devant le jury ci-dessous : Abdelhak EL AMRANI Rapporteur MCU-HDR Université de Rennes 1 Marc LAHAYE Rapporteur DR2 INRA de Nantes-Angers Bertrand HIREL Président du jury DR1 CNRS- INRA de Versailles Directeur de thèse : Eric Lelièvre, MCU-HDR, Université d'Angers Co-encadrant : Anis Limami, PR1, Université d'Angers UMR 1191, Physiologie Moléculaire

3- Génomique de la légumineuse modèle *Medicago truncatula* : état des lieux et perspectives The model legume *Medicago truncatula*: recent advances and perspectives in genomics Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 8, Numéro 5, 478-84, Septembre - Octobre 2001, La filière Auteur(s) : Etienne-Pascal JOURNET, Véronique CARREAU, Jérôme GOUZY, Philippe THOQUET, Charles ROSENBERG, David BARKER, Thierry HUGUET, Jean DENARIE, Pascal GAMAS, Laboratoire de biologie moléculaire des relations plantes-micro-organismes (LBM RPM), CNRS-Inra, BP 27, 31326 Castanet-Tolosan Cedex, France des Semences, 16 Bd Lavoisier, 49045 Angers Cedex 01

4- Chapitre 31. Structure des peuplements, caractéristiques du bois et variations morphologiques de *Pterocarpus erinaceus* Poir. en Afrique de l'Ouest

[Kossi Novinyo Segla](#), [Kossi Adjonou](#), [Benziwa Nathalie Johnson](#), [Daniel Guibal](#), [Habou Rabiou](#), [Babou André Bationo](#), [Gilles Chaix](#), [Kouami Kokou](#), [Patrick Langbour](#) et [Adzo Dzifa D. Kokutse](#)
p. 473-492

5-Lahrech, N. E. (2011). Etude de la *variabilité* chez quelques lignées *Medicago truncatula* soumises au stress salin. Thèse de doctorat, École Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), Alger.

6- UNIVERSITE DE BOURGOGNE Ecole Doctorale Environnements Santé n°554 Institut National de la Recherche Agronomique UMR 1347 Agroécologie - pôle GEAPSI THÈSE Pour l'obtention du grade de Docteur de l'Université de Bourgogne Discipline : Sciences Vie Spécialité: Biologie moléculaire végétale Contribution de l'albumen au développement de la graine chez *Medicago truncatula* : caractérisation d'un facteur de transcription de type DOF exprimé dans l'albumen chalazal. par Mélanie NOGUERO soutenue le 23 Mai 2014 devant la commission d'examen: Gwyneth INGRAM, Chargée de recherches, CNRS, ENS Lyon Rapporteur Loic RAJOU, Maître de conférences, AgroParisTech Rapporteur Nahalie LEBORGNE-CASTEL, Professeur Universités, Dijon Examineur Bertrand DUBREUCQ, Directeur de recherches, INRA, AgroParisTech

Examinateur Karine GALLARDO, Chargée de recherches, INRA, Dijon Co-encadrant de thèse Richard THOMPSON, Directeur de recherches, INRA, Dijon Directeur de thèse.

7-Merakchi, D. (2015). *Influence des métaux lourds sur la croissance des bactéries isolées à partir des nodules des légumineuses Hedysarum coronarium et Medicago truncatula*. Mémoire de Master, présenté et soutenu publiquement le 16 juin 2015. Sous la direction de Tchanderli Braham Safa, Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

8-UNIVERSITÉ D'ANGERS Année : 2009 N° d'ordre : 973 Étude cellulaire et moléculaire de la germination chez Medicago truncatula Thèse de doctorat Spécialité : Biologie Cellulaire et Moléculaire Végétale ÉCOLE DOCTORALE VÉGÉTAL-ENVIRONNEMENT-NUTRITIONAGRO-ALIMENTAIRE-MER Présentée et soutenue publiquement le : 27 mai 2009 à : Angers par : Christine Gimeno-Gilles Devant le jury ci-dessous : Abdelhak EL AMRANI Rapporteur MCU-HDR Université de Rennes 1 Marc LAHAYE Rapporteur DR2 INRA de Nantes-Angers Bertrand HIREL Président du jury DR1 CNRS- INRA de Versailles Directeur de thèse : Eric Lelièvre, MCU-HDR, Université d'Angers Co-encadrant : Anis Limami, PR1, Université d'Angers UMR 1191, Physiologie Moléculaire des Semences, 16 Bd Lavoisier, 49045 Angers Cedex 01 ED VENAM 1 Rem.

9- UNIVERSITE DE BOURGOGNE Ecole Doctorale Environnements Santé n°554 Institut National de la Recherche Agronomique UMR 1347 Agroécologie - pôle GEAPSI THÈSE Pour l'obtention du grade de Docteur de l'Université de Bourgogne Discipline : Sciences Vie Spécialité: Biologie moléculaire végétale Contribution de l'albumen au développement de la graine chez Medicago truncatula : caractérisation d'un facteur de transcription de type DOF exprimé dans l'albumen chalazal. par Mélanie NOGUERO soutenue le 23 Mai 2014 devant la commission d'examen: Gwyneth INGRAM, Chargée de recherches, CNRS, ENS Lyon Rapporteur Loic RAJOU, Maître de conférences, AgroParisTech Rapporteur Nahalie LEBORGNE-CASTEL, Professeur Universités, Dijon Examinateur Bertrand DUBREUCQ, Directeur de recherches, INRA, AgroParisTech Examinateur Karine GALLARDO, Chargée de recherches, INRA, Dijon Co-encadrant de thèse Richard THOMPSON, Directeur de recherches, INRA, Dijon Directeur de thèse

10- Génomique de la légumineuse modèle Medicago truncatula : état des lieux et perspectives The model legume Medicago truncatula: recent advances and perspectives in genomics Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 8, Numéro 5, 478-84, Septembre - Octobre 2001, La filière Auteur(s) : Etienne-Pascal JOURNET, Véronique CARREAU, Jérôme GOUZY, Philippe THOQUET, Charles ROSENBERG, David BARKER, Thierry HUGUET, Jean DENARIE, Pascal GAMAS, Laboratoire de biologie moléculaire des relations plantes-micro-organismes (LBM RPM), CNRS-Inra, BP 27, 31326 Castanet-Tolosan Cedex, France.

11- Aouane, B., & Aouane, A. (2023). *Caractérisation des endosymbiotes chez la légumineuse Trigonella gladiata Stev.* Mémoire de Master, Domaine : Sciences de la

Nature et de la Vie, Filière : Ecologie et environnement, Spécialité : Ecologie microbienne.
Université Ferhat Abbas Sétif 1, Constantine, Algérie.

12- Gimeno-Gilles, C. (2009). *Étude cellulaire et moléculaire de la germination chez Medicago truncatula*. Thèse de doctorat, Spécialité : Biologie Cellulaire et Moléculaire Végétale, École Doctorale Végétal-Environnement-Nutrition-Agro-Alimentaire-Mer. Université d'Angers, Angers, France.

14- Huguet T., Prosperi J.M.. 1995. *Medicago truncatula: a legume model-plant*. 171-175.

15- Levitt, J. (1980) Réponses des plantes au stress environnemental : eau, rayonnement, sel et autres stress. Presse académique, New York, 365.

16-Levitt, J. (1980) Réponses des plantes au stress environnemental, Volume 1 : Stress de refroidissement, de congélation et de température élevée. Presse académique, Cambridge.

17- Vinocur, B. et Altman, A. (2005) Progrès récents dans l'ingénierie de la tolérance des plantes au stress abiotique : réalisations et limites.

18-Vinocur, B. et Altman, A. (2005) Progrès récents dans l'ingénierie de la tolérance des plantes au stress abiotique : réalisations et limites.

19- Santiago, J., Rodrigues, A., Saibo, N. et Oliveira, MM (2000). « Stress abiotique et tolérance au sel chez les plantes : mécanismes et approches ». *Physiologie végétale*, 52(9), 1569-1578.

20-Edmeades, GO, Bolaños, J., Chapman, SC, Lafitte, HR et Bänziger, M. (2001). "La sélection améliore la tolérance à la sécheresse des populations de maïs tropical : I. Gains de biomasse, de rendement en grains et d'indice de récolte." *Science des cultures*, 39(5), 1306-1315.

21-Surjus, A. et Durand, M. (1996) L'enseignement en milieu scolaire. Paris : PUF, 227 p. (L'éducateur).

22-Fougère et al. (1991) Effet du stress salin sur l'expression de deux facteurs de stress chez *Medicago sativa*. *Aust. Agricole*.

23-López, CM, Takahashi, H. et Yamazaki, S. (2006). "Croissance des plantes et réponses photosynthétiques des plants de riz aux conditions salines." *Journal de physiologie végétale*, 163(8), 824-830.

24- Trinchant, J.C., Rigaud, J. et Gresshoff, P.M. (2004). "Régulation de la fixation de l'azote et de la formation de nodules par le stress salin chez les légumineuses." *Journal de physiologie végétale*, 161(6), 671-680.

25- Tramontano, WA et Jouve, L. (1997). "Régulateurs osmotiques dans les plants de luzerne soumis à un stress de salinité." *Physiologie végétale et biochimie*, 35(5), 377-384.

26- Armengaud, P., Breitling, R. et Amtmann, A. (2004). "Le transcriptome dépendant du potassium d'Arabidopsis révèle un rôle important de l'acide jasmonique dans la signalisation des nutriments." *Physiologie végétale*, 136(1), 2556-2576.

27- Verdoy, D., Ariz, I., Aparicio-Tejo, PM et Moran, JF (2006). "Effets de la salinité sur le développement végétatif, l'assimilation de l'azote et la morphologie des racines des plantes *Lotus japonicus*." *Journal de physiologie végétale*, 163(6), 608-616.

30- BEN NJA Riheb(2014), « Effet d'un stress salin sur la teneur en polymères pariétaux dans les feuilles de luzerne (*Medicago sativacv* Gabès) et sur la distribution dans les cellules de transfert des fines nervures ». Thèse en cotutelle pour obtenir le grade de DOCTEUR DES UNIVERSITÉS DE LIMOGE ET CARTHAGE et soutenu publiquement le 25/03/2014. UNIVERSITE DE CARTHAGE FACULTE DES SCIENCES DE BIZERTE Département de Biologie et Physiologie Végétales

31- Ruiqin Zhong, Amanda C. Morrison, Tracy L. Frisch, Kenneth Keegstra, Curtis G. Wilkerson Titre de l'article : "Improving total saccharification yield of Arabidopsis plants by vessel-specific complementation of caffeoyl shikimate esterase (cse) mutants" Source : *Biotechnology for Biofuels* (2019) 12:22

32- Wellington Muchero, Amy M. Guo, Jin Zhang, Lee E. Ranjan, Geoffrey B. Turner, Christopher T. W. Ngan, Shawn D. DiFazio, Stephen R. Lindquist, Jessy L. Labbé, Gerald A. Tuskan, and Jin-Gui Chen Titre de l'article : "Silencing CAFFEYOYL SHIKIMATE ESTERASE Affects Lignification and Improves Saccharification in Poplar" Source : *The Plant Physiology* (2015) 167(4): 1146-1159.