



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENFITIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des sciences et de la nature et de la vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Réalisé en vue l'obtention du diplôme de MASTER

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Bioinformatique

Intitulé

**Analyse *in silico* des données de transcription et
identification des gènes de tolérance aux stress
abiotique chez la luzerne (*Medicago truncatula* L.)**

Présenté et soutenu par :

le : 07/10/2020

- ✓ LATALA Nesrine
- ✓ MAMOUR Oudjedane

Jury d'évaluation :

Président : Dr. MADJROUBI M.

M.A.A. UFM Constantine 1

Encadrants : Dr. KELLOU K.

M.A.A. UFM Constantine 1

Dr. TEMAGHOULT M.

M.A.A. UFM Constantine 1

Examineur : Dr. CHEHILI H.

M.C.A. UFM Constantine 1

Année universitaire 2019/2020

« Certes, il y'a des travaux pénibles ;

Mais la joie de la réussite compense

Toujours nos douleurs »

Jean de la bruyère

Résumé

L'objectif de ce travail est d'analyser *in silico* les données de transcription et l'identification des gènes de tolérance aux stress hydrique de la *Medicago truncatula*. On a sélectionné un sous-ensemble des expériences de la base de données choisi Mtgea dans lesquelles nous avons recherché ceux qui s'expriment en conditions de stress hydrique. On a travaillé sur 200 gènes dont 20 gènes candidats seulement sont choisis selon leurs pics de profil d'expression élevés (Root and Shoot drought). Ensuite, on les a triés du plus élevé au plus bas à la recherche de relations entre eux afin de faire un arbre phylogénétique avec un logiciel Rstudio. Les résultats obtenus montrent que les relations entre les gènes de l'arbre phylogénétique sont multiples et ils sont regroupés entre eux par des clades, ces gènes sont responsables de la résistance à la sécheresse. Par rapport à la base des données en Access, on a créé des tables relationnelles de ces gènes de *Medicago truncatula*.

Mot clé :

Medicago truncatula, stress hydrique, profil d'expression, base de données, table relationnelle.

Abstract

The aim of this study is to analyse *in silico* the transcription data and the identification of the water pressure tolerance genes of *Medicago truncatula*. A subset of the experiments from the MtGEA database selected was selected, in which we searched for those expressing themselves under water pressure conditions. We worked on 200 genes of which only 20 candidate genes are selected according to their high expression profile spikes (Root and Shoot drought). Then, they were sorted from the highest to the lowest looking for relation between them in order to make a phylogenetic tree with Rstudio software. The results obtained show that the relation between the genes of the phylogenetic tree are multiple and they are grouped together by clades, these genes are responsible for resistance to drought. Relational tables of these *Medicago truncatula* genes have been created against the database in Access.

Keywords:

Medicago truncatula, water pressure, expression profile, database, relational table

الملخص

الهدف من هذا العمل هو تحليل بيانات النسخ في السيليكو وتحديد جينات تحمل الإجهاد المائي في *Medicago truncatula*. تم اختيار مجموعة فرعية من التجارب من قاعدة بيانات MtGEA المختارة، حيث بحثنا عن الذين يعبرون عن أنفسهم في ظل ظروف إجهاد المياه. لقد عملنا على 200 جين وتم اختيار 20 جينا مرشحة فقط منها وفقاً لطفرات التعبير المرتفعة (جفاف وجفاف الجذور). ثم تم فرزها من الأعلى إلى الأدنى بحثاً عن العلاقات بينهما من أجل صنع شجرة وراثية مع برنامج Rstudio. وتبين النتائج التي تم الحصول عليها أن العلاقات بين جينات شجرة الوراثة متعددة وأنها مجمعة معاً حسب clades، وهذه الجينات مسؤولة عن مقاومة الجفاف. بالنسبة لقاعدة بيانات في Access، تم إنشاء جداول علانقية لجينات *Medicago truncatula*.

الكلمة المفتاحية:

Medicago truncatula ، الإجهاد المائي، ملف التعبير، قاعدة البيانات، الجدول العلانقي

Remerciements

Au terme de ce travail,

Nos reconnaissances vont tout d'abord au **DOCTEUR TEMAGOULT Mahmoud et DOCTEUR KELLOU Kamel** qui nous ont Honoré en acceptant de diriger ce travail, pour leurs encadrement rigoureux et méthodique et les compétences dont ils nous ont fait bénéficier au long de toutes mes études.

On leur adresse également Nos gratitude pour leurs aides précieuses et d'avoir été là pour nous, par leurs conseils fructueux, leurs soutien continu et leurs encouragements permanents.

Merci de nous avoir guidés avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit.

Nous exprime nos estime et nos remerciements aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail en dépit de leurs nombreuses autres obligations, nos sincères remerciements au docteur **MADJROUBI M. L.** qui a bien voulu accepter de présider ce jury.

Nous tenons à exprimer nos très grandes considérations au Docteur **CHEHILI H.** qui nous a fait l'honneur d'examiner ce mémoire de master et de nous faire ainsi bénéficier de leurs compétences et de leurs connaissances.

Finalement, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	1
Chapitre I : Revue bibliographique	
I. Présentation de Model biologique <i>Medicago truncatula</i>	3
I.1. Taxonomies de <i>Medicago truncatula</i>	3
I.1.1. Description sur la famille Fabacées	3
I.1.2. Description sur le genre <i>Medicago</i>	4
I.1.3. Description sur l'espace de <i>M. truncatula</i>	5
I.1.4. Classification taxonomique de <i>M. truncatula</i>	7
1. Classification APG III (2003)	7
2. Classification scientifique	7
I.1.5. Origine géographique et Aire de répartition	8
I.2. Biologie de <i>Medicago truncatula</i>	9
I.2.1. Description génétique de <i>M. truncatula</i>	9
I.2.2. Composantes de <i>M. truncatula</i>	10
1. La fleur de <i>M. truncatula</i>	10
2. La racine de <i>M. truncatula</i>	11
3. La structure de la nodosité	13
4. La gousse de <i>M. truncatula</i>	14
I.2.3. Les exigences climatiques de <i>M. truncatula</i>	14
I.2.4. La fixation symbiotique d'azote	14
I.2.5. Les stress abiotique et leur effet sur les plantes	15
I.2.6. Le métabolisme des plantes.	17
I.3. Les intérêts de <i>Medicago truncatula</i>	18
I.3.1. Intérêt agronomique.	18
I.3.2. Intérêt scientifiques.	19
I.3.3. Intérêt symbiotique avec les microorganismes du sol	19
II. Outils d'étude de l'expression des gènes	21
I. La transcription	21
I.1. Régulation de la transcription	23
1. Séquences cis régulatrices	23
1.1. Les promoteurs	23
1.1.1. Le promoteur basal ou minimal	23
1.1.2. Le promoteur proximal	23
1.1.3. Les éléments régulateurs distaux	23
2. Facteurs Trans-régulateurs	24
2.1. Les facteurs de transcription	24
2.1.1. Les facteurs généraux de la transcription	24

2.1.2. Les facteurs de transcription spécifiques	24
2.1.3. Les cofacteurs transcriptionnelle	25
I.2. Régulation post transcriptionnelle	26
1. Contrôle de la maturation des ARNm	26
1.1. Les différents types d'épissage alternatif	27
1.2. Contrôle de l'épissage alternatif	27
2. Export nucléaire	27
3. Édition des ARNm	28
3.1. Différentes processus	28
4. Stabilité des ARNm	28
II. La traduction	29
1. Régulation traductionnelle	29
1.1. Inhibition de la lecture de l'ARN par RE en 5'	29
1.2. Inhibitions des facteurs de traduction (initiation élongation terminaison)	29
1.3. Régulation par le micro ARN	30
2. Régulation post-traductionnelle	30
III. Épigenétique	31
1.1. Le mécanisme épigénétique	31
1.2. Modifications Les extrémités NH ₂ -terminales des histones	31
Chapitre II : Matériels et Méthodes	
I. Matériels	33
II. Méthodes	33
III Résultats	39
Conclusion	45
Références bibliographiques	

Liste des abréviations

A, G, C, T, U : adénine, guanine, cytosine, thymine, uracile

A. thaliana: *Arabidopsis thaliana*

A. tumefaciens: *Agrobacterium tumefaciens*

A17 : Souche de référence Jemalong A17

ABA : Acide abscissique

ADN pol : ADN polymérase

ADN : acide désoxyribonucléique

ADNc : ADN complémentaire

ARN pol : ARN polymérase

ARN : acide ribonucléique

ARNm : ARN message

ARNsi : short interfering RNA

Cis : séquences consensus

CK : Cytokinines

GTFs : facteurs généraux d'initiation de la transcription

Lac : lactose

LCR : Les régions de contrôle des locus

M. falcata: *Medicago falcata*

M. sativa: *Medicago sativa*

M. truncatula: *Medicago truncatula*

mRNP: ribonucléoprotéiques

MTGEA: *Medicago truncatula* Gene Expression Atlas

N: Azote

NMD: Nonsense-mediated decay

nuc: nucleotide

P. sativum: *Pisum sativum*

PABP: poly A binding protein

Pb: pair de bases

Pi: phosphate

RISC: RNA induced silencing complex

RL : racine latéral

RT-PCR : Retro Transcriptase- Polymerase Chain Reaction

SAGE: Serial Analysis of Gene Expression

SIT / TSS: Transcription Starting Site

SL: Strigolactones

TBP: TATA Binding Protein

Trp: triptophane

Var : variétés

Liste des figures

Figure 1 : <i>Medicago truncatula</i> .	3
Figure 2 : Arbre génétique des papilionideae.	4
Figure 3 : Dendrogramme représentant les relations phylogénétiques de légumineuses Papilionoideae.	5
Figure 4 : Un rameau de <i>M. truncatula</i> .	6
Figure 5 : Caractéristiques morphologiques <i>Medicago truncatula</i> .	6
Figure 6 : les gousses de <i>Medicago truncatula</i> .	7
Figure 7 : <i>Medicago truncatula</i> .	9
Figure 8 : Structure d'une fleur de <i>M. truncatula</i> .	10
Figure 9 : Les différents stades du développement floral chez <i>M. truncatula</i> .	11
Figure 10 : Structure de la racine de <i>M. truncatula</i> .	11
Figure 11 : La gousse de <i>M. truncatula</i> .	14
Figure 12 : Schéma global de la symbiose chez les légumineuses.	15
Figure 13 : Résistance aux stress abiotiques.	16
Figure 14 : Relation entre les composés des métabolites primaires et secondaires.	18
Figure 15 : Présentation schématique de l'expression des gènes.	21
Figure 16 : Les étapes de la transcription.	22
Figure 17 : Les co-facteur transcriptionnelle.	25
Figure 18 : La régulation post-transcriptionnelle.	26
Figure 19 : Absence et présence de fer.	29
Figure 20 : Inhibition des facteurs de la traduction.	30
Figure 21 : Régulation par le micro ARN.	30
Figure 22 : Régulation post traductionnelle.	31
Figure 23 : Modifications les extrémités NH2-terminales des histones.	32
Figure 24 : Interface de GENBANK.	34
Figure 25 : Interface de l'Access 2013.	34
Figure 26 : création les tables des gènes.	35
Figure 27 : Interface de MtGEA.	35
Figure 28 : Root drought des gènes de <i>M. truncatula</i> .	36
Figure 29 : Shoot drought des gènes de <i>M. truncatula</i> .	36
Figure 30 : Expression profile de Mtr.10007.1.S1_at (Root drought).	37

Figure 31 : Expression profile de Mtr.10007.1.S1_at (Shoot drought)	37
Figure 32 : Les 20 gènes de <i>M. truncatula</i> avec les conditions (Root drought and Shoot drought).	38
Figure 33 : Interface de logiciel Rstudio.	38
Figure 34 : Le code pour faire arbre phylogénétique.	39
Figure 35 : Table relationnelle entre les gènes de <i>M. truncatula</i> .	39
Figure 36 : Arbre phylogénétique des gènes de <i>M. truncatul</i> .	40

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification APG III de <i>M. truncatula</i> .	7
Tableau 2 : Classification scientifique de <i>M. truncatula</i> .	8
Tableau 3 : Taille des génomes de million de pair de bases (Pb).	9
Tableau 4 : Régulation hormonale différentielle des organes racinaires chez <i>A. thaliana</i> et <i>M. truncatula</i> .	13
Tableau 5 : L'identification et la fonction des gènes de <i>M. truncatula</i> .	41

Introduction

Introduction

Depuis quelques temps le terme *in silico* est devenu fréquent pour décrire les études biologiques effectuées sur ordinateur, rejoignant ainsi les termes *in vivo* et *in vitro* qui décrivent des modes d'études expérimentales plus traditionnelles. Pour les noms biologistes ; *in vitro* signifie < dans du verre > c'est-à-dire dans un tube à essai ; *in vivo* signifie < dans la vie >, c'est-à-dire dans les organismes vivants. Le terme *in silico* vient du fait que les premières puces informatiques étaient en silicium. Il existe désormais diverses techniques qui ne s'appuient plus sur le silicium, aussi nous préférons in terme tel qu'*in* algorithme.

Grace à la quantité importante de données biologiques disponibles en ligne, la recherche en biologie se retrouve dans une situation comparable & celle de la physique ou de l'astronomie. En effet, les expérimentations qui utilisent un équipement moderne produisent d'énormes quantités de données. L'ordinateur n'est plus seulement utile, mais il est devenu indispensable à l'exploration et à l'analyse des données. De plus, il devient possible de simuler des expériences entièrement dans l'ordinateur. À titre d'exemple, une des premières utilisations de la simulation informatique en physique a été de modéliser l'acoustique d'une salle de concert, puis d'affiner par la suite la configuration de la salle. Ce procédé est évidemment moins onéreux que la construction de douzaines de salles concert.

Une tendance similaire a été observée en biologie dès l'invention des ordinateurs, mais celle-ci s'est très nettement accélérée depuis les dix dernières années avec le projet génome humain et le séquençage de génomes complets de plusieurs organismes. Le volume de données expérimentales à collecter et à analyser est souvent beaucoup trop important pour le seul biologiste, qui doit à présent compter sur l'ordinateur pour gérer ces énormes quantités d'informations.

Le rôle de l'informatique dépasse largement celui du stockage et de la récupération des données biologiques ; il est maintenant possible d'étudier les systèmes vivants grâce à des simulations informatiques. Par exemple lorsque la séquence d'un ADN est déterminée, elle peut être stockée sur l'ordinateur, et des programmes peuvent être écrits pour identifier des sites de restriction, réaliser la digestion *in silico* par des enzymes de restriction et créer les cartes de restriction correspondantes.

De même, des programmes de prédiction de gènes peuvent à partir de séquence d'ADN prédire des exons et introns (de façon imparfaite pour l'instant, car les performances

différentes selon les organismes étudiés). Il existe aussi des modèles de processus cellulaires dans lesquels il est possible d'étudier, par exemple, les effets d'une modification de la régulation d'un gène.

Introduction

Cependant, l'analyse globale du génome est une branche des mathématiques qui traite des problèmes globaux d'analyse. On appelle transcriptome l'ensemble des ARN issus de la transcription du génome (informations génétiques de l'ADN) dans une cellule, un tissu, ... un organisme particulier.

L'analyse du transcriptome permet de déterminer quels gènes sont exprimés dans différentes conditions expérimentales et/ou dans un tissu ou type cellulaire spécifique. Après détermination de la qualité et de la quantité des ARN reçus, l'analyse du transcriptome se fait par des applications. Puces à ADN : permet de définir un "profil d'expression" des gènes qui est une caractéristique intrinsèque de l'échantillon (type cellulaire, tissu) à un moment donné ou dans une condition physiologique déterminée. Il est alors possible de comparer les profils de plusieurs échantillons entre eux. Comparaison en une seule analyse des transcriptomes de deux objets biologiques similaires grâce au marquage des ARNm par deux fluorochromes distincts. RT-PCR : permet de qui permettent d'étudier l'expression de un ou quelques gènes au sein d'une série d'échantillons.

L'objectif de ce mémoire est de déterminer l'analyse in silico des données de transcription et identification des gènes de tolérance aux stress abiotique de la luzerne (*Medicago truncatula*).

Ce mémoire se divise en 2 chapitres :

Le premier chapitre : constitue une synthèse bibliographique, d'où il présente les différents modèles biologiques de l'espèce de *Medicago truncatula* pour étude des légumineuses, Sénescence et mort cellulaire et étudie les outils de l'expression des gènes.

Le deuxième chapitre : décrit le matériel et les méthodes ayant été utilisés dans ce mémoire présenté les bases de données, banque de données et les logiciels. Le mémoire est achevé, par la présentation et l'interprétation des résultats, et conclusion et des perspectives.

Chapitre I :
Revue
Bibliographique

I. Présentation de Model biologique *Medicago truncatula*

I.1. Taxonomies de *Medicago truncatula*:

La luzerne tronquée (*M. truncatula*) est une espèce végétale diploïde ($2n = 2x = 16$) annuelle herbacée des régions méditerranéennes. Elle appartient à la famille botanique des Fabacées, plus couramment nommées légumineuses ou papilionacées (Doyle and Luckow, 2003).



Figure 1 : *Medicago truncatula*

I.1.1. Description sur la famille Fabacées :

La famille des légumineuses (ou Fabaceae) est très diverse, elle comprend des espèces importantes sur le plan économique dont les légumineuses à graines, les oléagineuses, les plantes fourragères, les arbustes, ainsi que les arbres tropicaux ou subtropicaux.

Cette famille est classée en trois sous-familles : les Caesalpinioideae, les Mimosoideae et les Papilionoideae (Faboideae). La plupart des plantes cultivées appartiennent à cette dernière sous-famille.

Les Caesalpinioideae regroupent environ 150 genres et 2200 espèces et sont principalement constituées de plantes ornementales et d'arbres à bois ou alimentaires (Young et al., 2003).

Par ailleurs, les Mimosoideae sont constituées de 62 genres, dont 2500 espèces sont présentes principalement dans les forêts tropicales et subtropicales avec notamment les genres *Acacia* et *Albizia*. (Young et al., 2003).

Les Papilionoideaes qui représentent la sous-famille la plus diverse avec 429 genres et environ 12000 espèces et qui regroupent les espèces cultivées les plus importantes économiquement.

Trois groupes majeurs sont présents au sein de cette sous-famille : les Phaseolides, par exemple : le Soja (*Glycine max*), le Haricot (*Phaseolus vulgaris*), et parmi les Galegoides: la Fève (*Vicia faba L.*), le Pois (*P. sativum*), la Luzerne (*M. sativa*) et le Pois chiche (*Cicer arietinum*).

Enfin, le groupe des Aeschynomeneae: comme l'Arachide (*Arachis hypogaea*)(Younget al.,2003).

Les légumineuses ont joué un rôle historique important dans la naissance de l'agriculture.

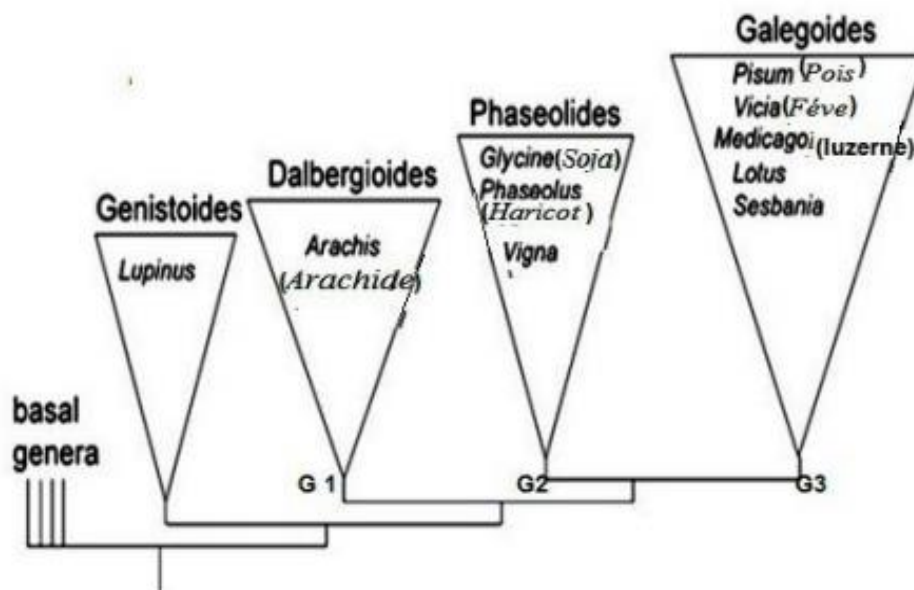


Figure 2 : Arbre génétique des papilionoideaes.

1.1.2. Description sur le genre Medicago :

Il est proche des genres Melilotus et Trigonella. Le genre Medicago (les luzernes) Appartenant à la famille des Fabacées (ou légumineuses) sous-famille des Papilionoideaes a été classé en 4 sous-genres par Lesins et Lesins (1979) sur la base de la morphologie des gousses et des graines : Lupularia, Orbicularia, Spirocarpos et Medicago. Ces sous-genres comprennent au total 55 espèces dont 21 sont pérennes qui sont des tétraploïdes allogames ($2n=4^*=32$), 33 sont annuelles qui sont pour la majorité des diploïdes autogames ($2n=16$ ou $2n=14$ dans certains cas) et une est de pérennité variable.

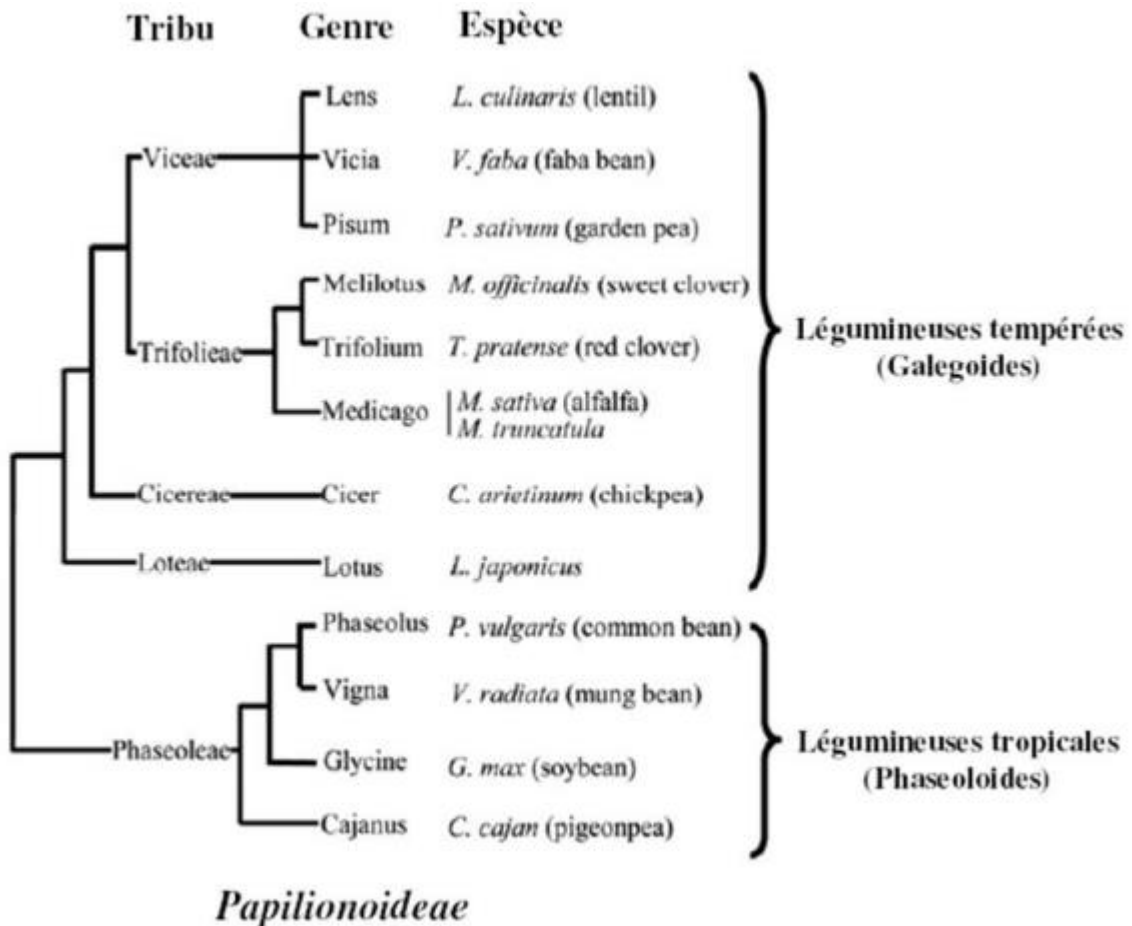


Figure 3 : Dendrogramme représentant les relations phylogénétiques de légumineuses Papilionoideae.

1.1.3. Description sur l'espèce *M. truncatula* :

M. truncatula c'est une espèce diploïde ($2n = 2x = 16$) et présente une grande syntenie avec certaines espèces très cultivées comme le pois ou la luzerne, et annuelle et autogame de taille intermédiaire (60 cm au maximum) poilue à port variable, présente sur des sols lourds, marneux ou argileux.

L'inflorescence porte de 1 à 5 fleurs de 5 à 8 mm de longueur et présente des gousses de (3 à 12 graines) cylindriques en forme de tronc.

Cette espèce est localisée principalement dans les régions chaudes et de basse altitude méditerranéennes.

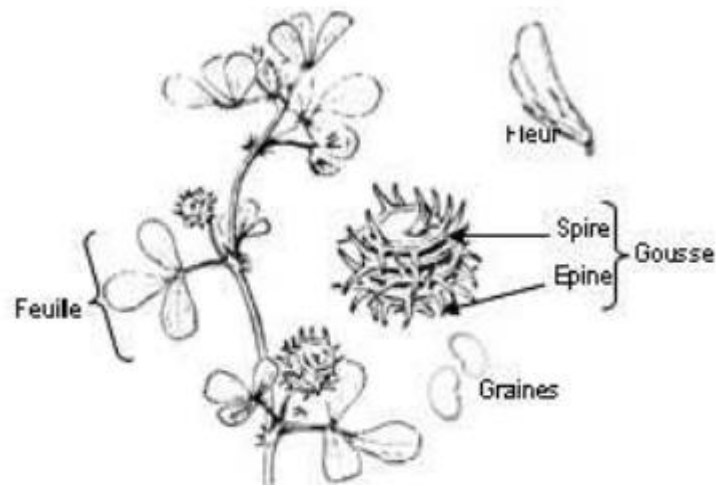


Figure 4 : un rameau de *M. truncatula*

Fleur, feuille, graines, gousses.



Figure 5 : Caractéristiques morphologiques de *M. truncatula*.

Des feuilles, fleurs, gousses et graines.

En 1963 Heyn distingue trois variétés botaniques de *Medicago truncatula* les principales caractéristique discriminantes sont le nombre de spire par gousse, la hauteur de gousse et la taille des épines :

➤ 1. *M. truncatula* var. *truncatula* :

Elle est caractérisée par une hauteur de la gousse supérieure au diamètre (7 à 12 mm de hauteur), 5 à 8 spires fortement serrées et par des épines non incurvées plus ou moins collées à la gousse.

➤ 2. *M. truncatula* var. *longispina* :

Elle est caractérisée par une hauteur de la gousse inférieure ou égale au diamètre (7 à 10 mm

de hauteur), 5 à 8 spires légèrement serrées, et par des épines incurvées non collées à la gousse.

➤ 3. *M. truncatula* var. *tricycla* :

Elle est caractérisée par des épines parfois de grande taille supérieure à celle de la gousse. Cette dernière possède une taille plus réduite, 5 à 6 mm de hauteur, et présente 2 à 4 spires.



Figure 6 : les gousses de *Medicago truncatula*, A : variété *truncatula* ; B : variété *longispina* ; C : variété *tricycla* ; barre= 5mm

I.1.4. Classification taxonomique de *M. truncatula* :

1. Classification APG III (2003) :

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

Règne	Plantae
Clade	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Noyau des Dicotylédones vraies
Clade	Rosidées
Clade	Fabidées
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Sous-famille	Faboïdeae
Tribus	Trifolieae
Genre	<i>Medicago</i>
Espèce	<i>Medicago truncatula</i>

2. Classification scientifique :

Tableau 2 : Classification scientifique de *M. truncatula*

Nom scientifique	<i>Medicago truncatula</i> 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	<i>Medicago</i>
Espèce	<i>Medicago truncatula</i>

I.1.5. Origine géographique et aire de répartition :

Il est admis que le centre d'origine du genre *Medicago* est le Croissant fertile, recouvrant les pays ou régions actuelles de Turquie, d'Iran, d'Irak, du Sud du Caucase et du pourtour méditerranéen (Prosperietal.,1993). Il existe plus spécialement sur l'ensemble du pourtour méditerranéen 20 autres espèces de luzernes pérennes à allogamie non stricte, diploïdes ou tétraploïdes (souvent les deux niveaux coexistent chez la même espèce) et 34 espèces annuelles, toutes autogames, et diploïdes à l'exception de *M. sativa* qui est originaire des hauts plateaux iraniens, et de *M. falcata* qui est originaire de la Serbie Occidentale, ce qui explique sa remarquable résistance au froid (Prosperietal.,1995)

M. truncatula, prospectée presque dans toutes les zones agro climatiques du territoire national, se classe juste après *M. polymorpha* (Abdelguerfi et al., 1988b). Selon Nègre (1956), c'est une espèce commune dans le Maghreb et possède une large répartition en Algérie. Elle est adaptée à toutes les conditions climatiques. Sa distribution est concentrée entre les isohyètes 200 et 1000 mm (Zeghida, 1987), alors que Carter (1976) l'a rencontrée sous des pluviométries allant de 150 à 450 mm. Selon Abdelguerfi (1978), la fréquence de *M. truncatula* augmente proportionnellement avec l'altitude, mais diminue au-delà de 800 m. Prosperie et al. (1995b), l'ont rencontrée principalement à une altitude moyenne de 730 m. Zoghlami et al. (1996) et

Seklani et al. (1996), en étudiant la distribution des medics en Tunisie, précisent que la répartition de *M. truncatula* est conditionnée par un gradient pluviométrique.

Cette double origine géographique et génétique fait que la luzerne est une des espèces les plus répandues du globe (Hirech. 2005).



Figure 7: *M. truncatula*

I.2. Biologie de *Medicago truncatula*:

I.2.1. Description génétique de *M. truncatula* :

Le nombre de chromosome chez les plants est toujours pair, car elles sont des organismes diploïdes ou polyploïdes, la taille des chromosomes est-elle extrêmement variable d'une espèce à l'autre, pouvant atteindre jusqu'à microns chez des espèces. Ces différences suggèrent des contenus en ADN fort différents.

Les différences de taille dans le génome des plantes sont devenues évidentes le jour où l'on a su mesurer la quantité d'ADN par noyau.

Tableau 3 : taille des génomes de million de pair de bases (Pb)

Génomes	Taille (Pb)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	130
Riz	430
<i>Medicago truncatula</i>	466

Brassica oleracea (chou)	700
Sorgho	800
Tomate	1000
Colza	1200
Maïs	2500
Orge	5200
Pois	5000
Blé	16000
Tulipe	30000

I.2.2. Les composant de *M. truncatula*

1. La Fleur de *M. truncatula* :

L'inflorescence porte de 1 à 5 fleurs a couleur jaune et de 5 à 8 mm de longueur et présente des gousses de 3 à 12 graines cylindriques en forme de tronc. Le poids de 1000 graines oscille entre 3.3 et 6 g.

Les fleurs de *M. truncatula* se composent d'un calice comportant cinq sépales et d'une corolle comportant cinq pétales de couleur jaune, un pétale supérieur de grande taille (l'étendard), deux pétales latéraux (les ailes) et deux ventraux soudés (la carène). Le gynécée, surmonté d'un style et d'un stigmate.

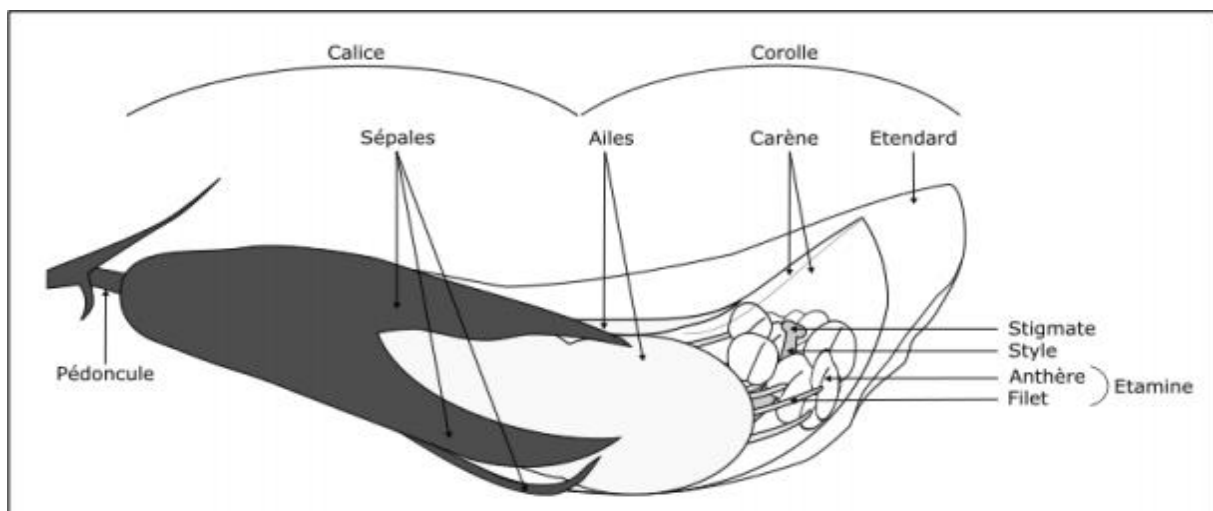


Figure 8 : Structure d'une fleur de *M. truncatula*.

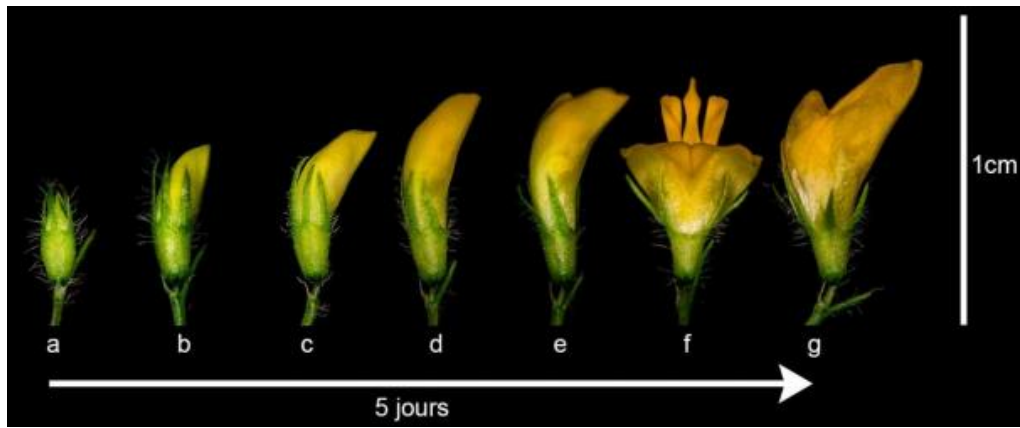


Figure 9 : Les différents stades du développement floral chez *M. truncatula*

2. la racine de *M. truncatula* :

La racine de la *M. truncatula* est présente une épaisseur plus importante, due à la présence de 3 à 5 couches de cortex. Ceci empêche d'utiliser des outils microscopiques sur la racine entière, (tels que le microscope confocal), en raison du trop grand nombre de parois cellulaires qu'il est nécessaire de traverser, et des problèmes de diffraction de la lumière. Par ailleurs, l'observation de plantes de *M. truncatula* en culture indique que le système racinaire est plus complexe que le modèle *A. thaliana*.

La racine de *M. truncatula* est donc moins facile à étudier que celle d'*A. thaliana*.

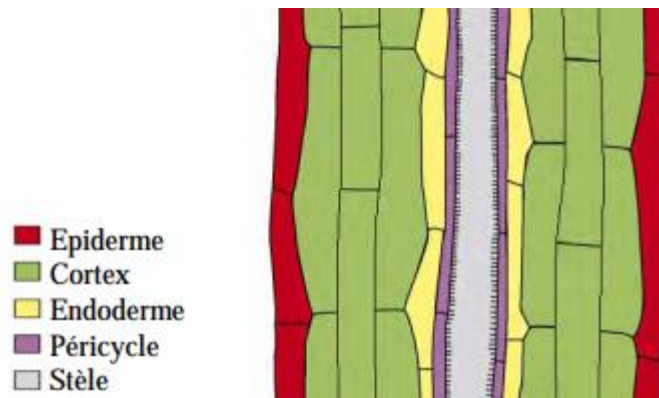


Figure 10 : Structure de la racine de *M. truncatula*.

Schéma de coupes longitudinales de racine présentant la morphologie racinaire comprenant un plus grand nombre de couches cellulaires corticales (Péret et al., 2009).

2.1. Facteurs endogènes :

➤ A. Les cytokinines :

Les cytokinines (CK) sont une famille d'hormones végétales dérivées de bases puriques, dont les principaux représentants sont la zéatine et l'isopentényladénine. Ces molécules sont regroupées dans la famille des CK de par leurs effets similaires sur les plantes. Synthétisées au niveau de l'apex racinaire, elles interviennent dans de nombreux processus développementaux, majoritairement au niveau de la partie aérienne, sur la photosynthèse, la formation des jeunes pousses, les feuilles, etc.

➤ **B. L'acide abscissique :**

L'acide abscissique ou ABA (Abscisic Acid) est une hormone végétale possédant des rôles dans la dormance des graines, la sénescence et l'abscission des feuilles. Elle est également impliquée dans la réponse à de nombreux stress, notamment la réponse au stress hydrique via la fermeture des stomates, l'adaptation aux carences en minéraux, ou encore la défense contre les agents pathogènes.

➤ **C. L'éthylène :**

L'éthylène est un gaz volatil produit par la plante, considéré comme une hormone végétale. Tout comme l'ABA, l'éthylène joue un rôle dans la réponse aux stress biotiques et abiotiques. Il est également impliqué dans les étapes de floraison, l'abscission des feuilles et la maturation de nombreux fruits.

➤ **D. Les strigolactones :**

Les strigolactones (SL) sont décrites depuis longtemps comme stimulants de la germination des graines de plantes parasites de la famille des Orobanchacées (Cook et al., 1966). Les SL jouent également un rôle dans la symbiose mycorhizienne à arbuscule en stimulant le métabolisme, la ramification et la germination des spores chez les champignons arbusculaires (Akiyama et al., 2005; Besserer et al., 2006).

Plus récemment, les SL ont été classées en tant qu'hormones végétales en raison de leurs divers effets sur le développement des plantes (Gomez-Roldan et al., 2008; Umehara et al., 2008). En effet, les SL jouent le rôle de facteur diffusif permettant la réponse à l'auxine lors de la ramification aérienne, mais sont également impliquées dans beaucoup d'autres processus développementaux, comme la ramification racinaire (Kohlen et al., 2011).

➤ **E. Auxine :**

La phytohormone auxine est indispensable à la symbiose LR, à différents niveaux. En tant que

régulateur clé du développement des organes racinaires, l'auxine (Acide Indole Acétique, AIA) joue un rôle important dans le développement de la nodosité (Mathesius, 2008).

Tableau 4 : Régulation hormonale différentielle des organes racinaires chez *A. thaliana* et *M. truncatula* par certaines phytohormones ((+) effet positif ; (-) effet négatif).

	A.thaliana	M.truncatula	
Hormone	Racine latérale	Racine latérale	Nodosité
Auxine	+	+	+
Cytokinines	-	-	-
Ethylène	+ a faible dose puis -	+ a dose moyenne puis -	-
Acide abscissique	+(initiation) -(émergence)	+	-

2.2. Facteurs exogènes :

➤ A .Le stress mécanique

Dès la germination, et tout le long de sa croissance, la racine principale se réoriente en fonction de la texture du sol, en direction du centre de gravité de la Terre. Ce mécanisme est appelé le gravi-tropisme.

➤ B . La disponibilité en nutriments :

L'environnement et particulièrement l'état nutritionnel du sol conditionne beaucoup la ramification racinaire, ce qui fait de celle-ci une variable d'adaptation aux conditions environnementales.

En particulier, la disponibilité en phosphate inorganique (Pi) influence la capacité de la plante à former des RL.

3. La Structure de la nodosité :

La nodosité mature chez *M. truncatula* présente une vascularisation périphérique, rattachée aux Vaisseaux conducteurs de la racine qui la porte. La nodosité est entourée de plusieurs assises cellulaires, dont l'endoderme et le cortex externe. Toutefois, au niveau de l'apex, seul une couche de cortex recouvre la nodosité. Cette dernière couche cellulaire correspond à la couche la plus externe de la nodosité.

L'intérieur de la nodosité peut être décomposé en plusieurs zones . La partie la plus apicale (Zone I) correspond au méristème et donc à la zone de division de la nodosité. Dans la zone d'infection (Zone II), les bactéries sont libérées du cordon d'infection dans les cellules végétales par endocytose et commencent leur différenciation en bactéroïdes, puis les symbiosomes ainsi formés se retrouvent dans la zone III, où se déroule la fixation de l'azote. La dernière partie de la nodosité (Zone IV) est appelée zone de sénescence, car les symbiosomes âgés sont dégradés (Hirsch, 1992).

4. La gousse et de *M. truncatula* :

La gousse chez *M. truncatula* est la fruit plus ou moins enroulée

Présente des gousses de (3 à 12 graines) cylindriques en forme de tronç.

Fruit contenant les graines : Gousse enroulée, à spires imbriquées.

Fruit spiralé de 5 mm de diamètre et épais de 5-7 mm, à spires coalescentes glabres, à épines rabattues de plus de 1 mm.



Figure 11 : gousse de *M. truncatula*

I.2.3. Exigences climatiques du *M. truncatula* :

Toutes les plantes on est besoin des facteurs climatiques pour la croissance. La luzerne tronquée exige des f acteurs pour le développement de la culture, on cite principalement :

- **L'eau** : est un facteur de la croissance du *M. truncatula*
- **La lumière** : est le facteur qui agit directement sur le bon fonctionnement de la photosynthèse et le comportement du *M. truncatula* a exigé de 16 H de jour et 8 H de nuit.
- **La température** : est l'un des facteurs importants pour la croissance et l'activité végétative. Le *M. truncatula* a besoin de 23°C la journée et 22°C la nuit.

I.2.4. La fixation symbiotique d'azote :

Une propriété fondamentale des Légumineuses, qui est largement responsable de leur intérêt agronomique, est leur aptitude à fixer l'azote par la symbiose avec *Rhizobium* (bactéries aérobies du sol), aptitude qui explique la forte teneur en protéines de ces plantes et qui permet

cette synthèse des protéines sans avoir recours à une fertilisation azotée chimique.

La déficience d'azote minéral dans le sol constitue un facteur limitant de la croissance des plantes. On estime que la réduction biologique de l'azote atmosphérique N_2 en ammonium fournit environ 65% de l'azote disponible dans la biosphère (Lodwig et al. 2003).

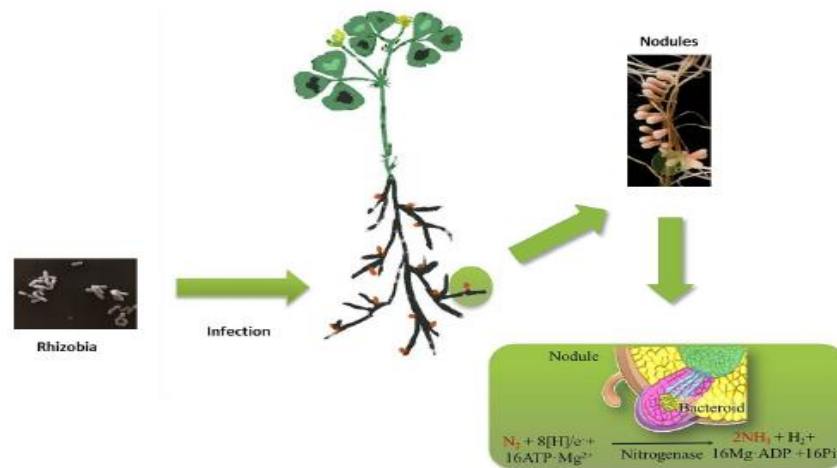


Figure 12 : Schéma global de la symbiose chez les légumineuses.

Les bactéries rhizobia infectent les racines des légumineuses, puis les nodules sont formés, siège de la réaction biologique de la fixation d'azote.

Rhizobia : les rhizobies envahissent les poils des racines des légumineuses et résident dans les renflements des racines corticales (nodules) où l'azote de l'atmosphère est fixé pour un éventuel transport dans la plante et l'assimilation en protéines.

I.2.5. les stress abiotique et leur effet sur les plantes :

1. Notion de stress :

Le terme « stress » définit l'ensemble des perturbations biologiques provoquées par une agression quelconque sur un organisme. C'est un processus qui induit une contrainte potentiellement néfaste sur un organisme vivant.

En revanche ce terme lorsqu'il est utilisé en biologie végétale, a des connotations particulières, il représente le (s) facteur(s) responsable(s) des perturbations, et des changements, plus ou moins brusque par rapport aux conditions normales.

En effet, le stress signifie la déviation dans le développement et les fonctions normaux de la physiologie des plantes, il est perçu au niveau cellulaire puis transmis à la plante entière.

Le changement dans l'expression des gènes qui s'ensuit modifie la croissance et le développement, et influence les capacités reproductives de la plante, causant ainsi des dommages aux plantes.

La plante est soumise à une série de contraintes de nature abiotique. Les plus importantes de ces contraintes, sont la variation de la précipitation, de la température, de l'humidité du sol, et de la salinité, ces stress se traduisent chez les plantes par des changements morphologiques, physiologiques et moléculaires qui affectent leur mode de vie.

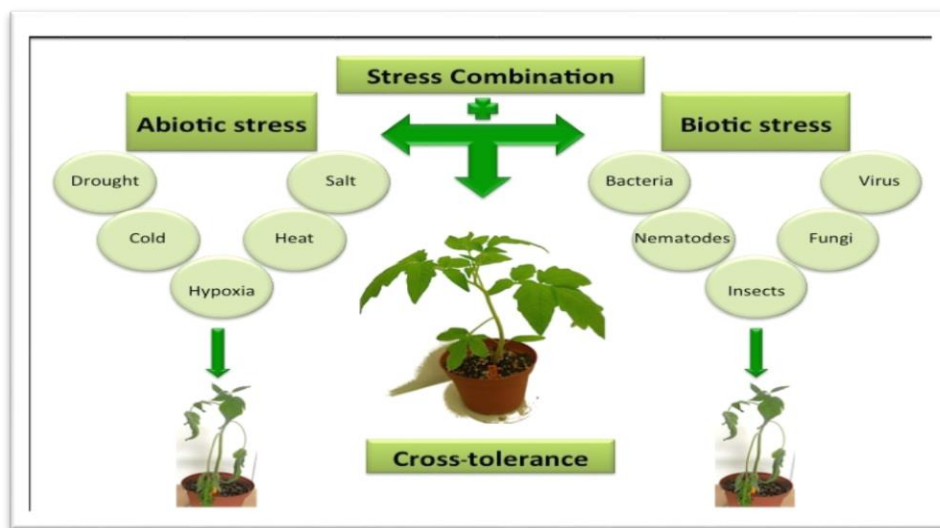


Figure 13 : Résistance aux stress abiotiques.

2. Stress abiotique :

Les facteurs abiotiques sont ceux liés à l'action du non-vivant sur le vivant ils sont dû principalement à des facteurs environnementaux. Susceptibles de déclencher des modifications dommageables, provoquant ainsi chez une espèce végétale une augmentation du taux de mortalité de la population.

En effet les plantes se trouvent rarement dans des conditions environnementales optimales, elles se trouvent souvent dans des conditions extrêmes qui amènent les organismes à la limite de la survie.

Un stress peut l'être pour une plante sans l'être pour une autre. Des facteurs comme l'âge sont importants et avec le réchauffement climatique, la pression exercée par certains stress augmentera très certainement.

3. Stress hydrique :

La notion de stress hydrique ou sécheresse renvoie en réalité le plus souvent à de nombreuses définitions :

- **En météorologique** : la sécheresse est une absence prolongée, voire une faible distribution, des précipitations.
- **En hydrologie** : on parle de sécheresse dès lors qu'à l'échelle régionale la hauteur des pluies est inférieure à la moyenne saisonnière, ce qui se traduit par un approvisionnement insuffisant des cours d'eau et des réserves d'eau superficielles ou souterraines.
- **En agriculture** : Le stress hydrique peut se définir comme le rapport entre la quantité d'eau nécessaire à la croissance de la plante et la quantité d'eau disponible dans son environnement.

4. Stress thermique :

Pour effectuer sa croissance et son développement, chaque plante exige une gamme bien particulière de températures. Chaque plante possède une température optimale de croissance et de développement.

Elles peuvent être endommagées de différentes manières, soit par des températures basses ou élevées de jour ou de nuit, par l'air chaud ou froid ou par les températures élevées du sol.

La contrainte thermique est une fonction complexe qui varie selon l'intensité (degré de la température), la durée et les taux d'augmentation ou de diminution.

5. Stress salin:

La salinité est définie selon plusieurs chercheurs comme étant la présence processus pédologique selon lequel le sol s'enrichit anormalement en sels solubles acquérant ainsi un caractère salin, C'est un facteur environnemental très important qui limite la croissance et la productivité.

Le stress salin est un stress abiotique important qui affecte significativement la croissance des légumineuses et réduit la production agricole dans le monde.

I.2.6. Le métabolisme des plantes :

1. Métabolite primaire :

Les métabolites première Sant caractérisé par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme, On a la croissance, le développement et la reproduction normale

d'un organisme. Ce composé a généralement à la fonction physiologique dans ces organismes, les glucides, lipides, protides.

2. Métabolite secondaire :

Les métabolites secondaire, Ces molécules sont présentes en très grand nombre et d'une variété structurale extraordinaire. Elles ont de nombreuses applications pharmaceutiques. De façon générale. Les métabolites secondaires sont repartis et trois grandes familles chimiques :

- Les composés aromatiques (composés phénoliques).
- Les terpénoïdes et stéroïdes.
- Les composés azotés ou alcaloïdes.

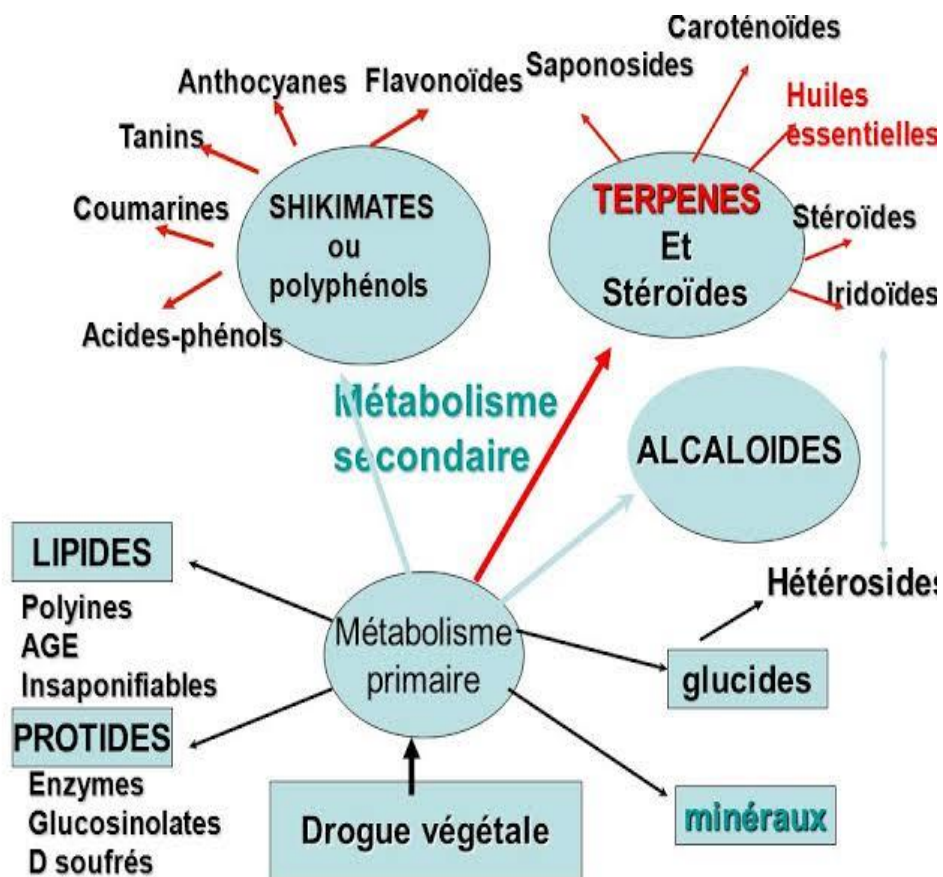


Figure 14 : Relation entre les composés des métabolites primaires et secondaires.

I.3. Les intérêts de Medicago truncatula :

I.3.1. Intérêt agronomique :

M. truncatula a un intérêt agronomique propre, puisqu'elle est étudiée en tant qu'organisme modèle pour la biologie des légumineuses car elle a un petit génome diploïde, est auto fertile, a un temps de génération rapide et une production de graines prolifique, est susceptible de

transformation génétique et son génome a été séquencé et utilisée comme plante fourragère dans un grand nombre de régions dans le monde en incluant la zone méditerranéenne, l'Afrique du Sud et l'Australie.

La plante possède un intérêt agronomique majeur pour la production fourragère en zone sèche, et pourrait aussi être cultivée dans le but de diminuer l'épandage d'engrais azotés.

Son intérêt est étroitement lié à sa capacité de se ressemer naturellement d'une année à une autre.

Cette propriété peut aboutir à une installation pérenne adaptée aux aléas climatiques des zones méditerranéennes, diminuant ainsi le phénomène d'érosion des sols. Par ailleurs, de nombreuses espèces et sous-espèces présentent aussi des caractères d'intérêt agronomique qu'il serait souhaitable d'introduire par génie génétique dans la luzerne cultivée, tels que la tolérance au pâturage (capacité d'enracinement et de repousse), la résistance à la sécheresse, à la salinité et aux maladies.

I.3.2. Intérêts scientifiques ou génétiques :

M. truncatula est une plante annuelle de la famille des légumineuses (Fabacées), elle est peu cultivée à l'exception de son usage en tant que fourrage Protéagineux en Australie. Toutefois, elle est proche de *M. sativa*.

présente des atouts scientifiques non négligeables : son génome est relativement petit (500 Mpb), soit 7 fois plus petit que celui de *P. sativum*, et a été récemment séquencé et annoté (Young et al., 2011). Des banques de mutants et des cartes génétiques sont disponibles, ce qui apporte de nombreux outils pour l'étudier. Par ailleurs, *M. truncatula* est une espèce autogame et diploïde, ce qui facilite sa culture, les croisements entre génotypes et les analyses génétiques. Son cycle reproducteur est d'environ trois mois graine à graine. Elle se révèle également facile à transformer génétiquement par les bactéries *Agrobacterium rhizogenes* et *A. tumefaciens*.

I.3.3. Intérêt symbiotique avec les microorganismes du sol :

La symbiose est Association durable entre deux ou plusieurs organismes et profitable à chacun d'eux (Symbiose bactérienne et microbienne). Un lichen est la symbiose d'une algue et d'un champignon (Ac.1935).

Le chercheur Toby Kiers de l'Université VU d'Amsterdam et ses associés ont utilisé

Chapitre I : Revue bibliographique

M. truncatula pour étudier les symbioses entre les plantes et les champignons. En utilisant du carbone étiqueté pour suivre la source de nutriments circulant dans le système mycorhize arbusculaire, les chercheurs ont prouvé que les plantes avaient en effet donné plus de carbone aux espèces de champignons plus généreuses. En restreignant la quantité de carbone que les plantes ont donnée au champignon, les chercheurs ont également démontré que les champignons transmettaient plus de leur phosphore aux plantes plus généreuses.

II. Outils d'étude de l'expression des gènes

L'expression des gènes :

Appelée expression génique ou expression génétique, désigne l'ensemble des processus biochimiques par lesquels l'information héréditaire stockée dans un gène est lue pour aboutir à la fabrication de molécules qui auront un rôle actif dans le fonctionnement cellulaire, comme les protéines ou les ARN.

La régulation de l'expression génétique est donc le mécanisme fondamental permettant la différenciation cellulaire, la morphogenèse et l'adaptabilité d'un organisme vivant à son environnement.

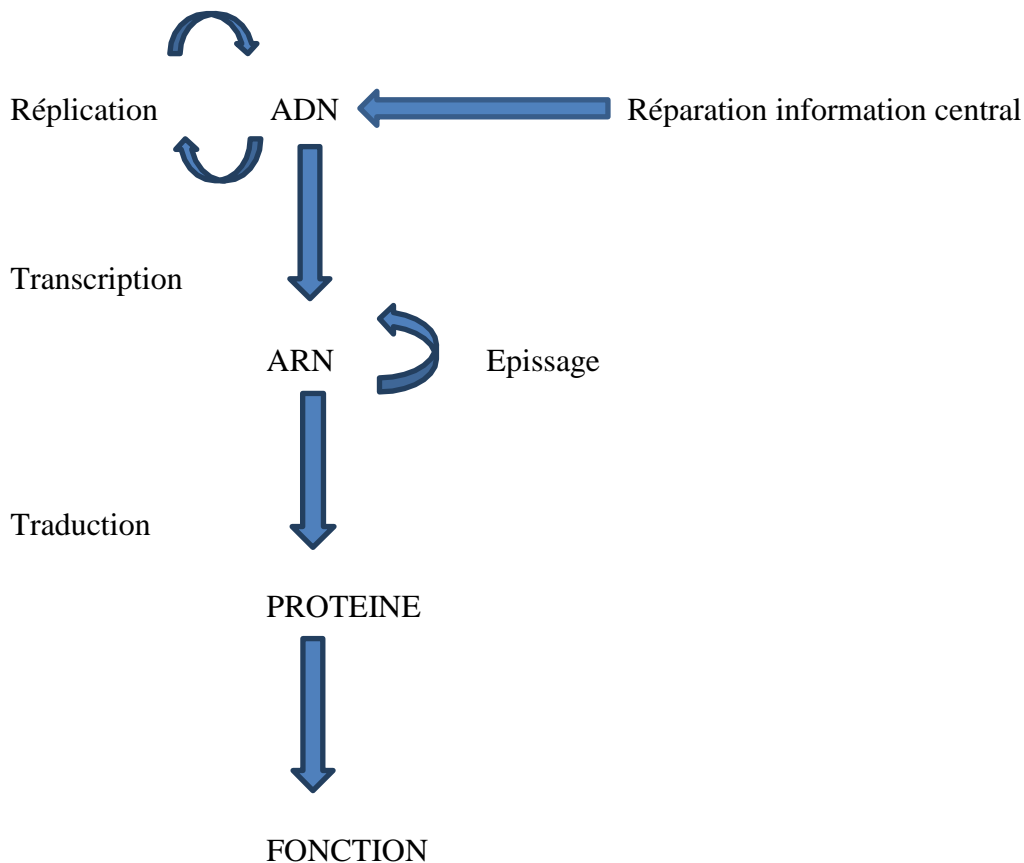


Figure 15 : Représentation Schématique de l'expression des gènes

Les différentes approches de L'expression des gènes :

I. Trascrption :

C'est la 1er étape de l'expression des gènes, Sa régulation est finement contrôlée et met en œuvre de nombreux facteurs et ce sont des réactions catalytique identique entre les eucaryotes

et les procaryotes.

la transcription s'effectue du +1 de transcription jusqu'à la région terminatrice .

Les étapes de la transcription :

1. démarrage ou initiation de la transcription :

Reconnaissance du promoteur et du SIT par l'ARN pol

Formation d'un complexe entre l'ADN et l'ARN pol

Séparation locale des deux brins

Sélection et polymérisation des premiers nucléotides

2. Allongement ou élongation la chaine ribonucléotidique :

Activité et déplacement de l'ARNpol

Séparation de l'ADN bicaténaire

Séparation de l'hybride ADN-ARN simple brin naissant

Reformation de l'ADN double brin

3. Arrêt de la transcription :

Reconnaissance du site ou des régions de terminaison de la transcription et arrêt de la polymérase.

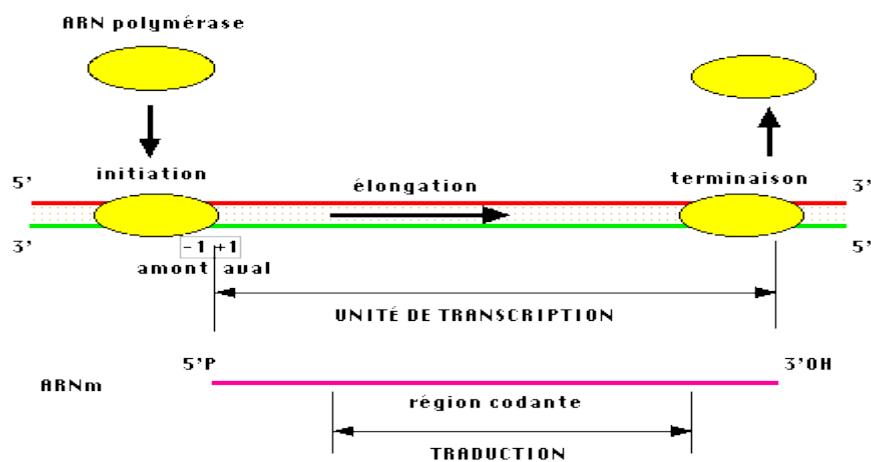


Figure 16 : les étapes de la transcription

I.1. Régulation de la transcription :

1. Séquences cis régulatrices

Les gènes des eucaryotes possèdent des séquences régulatrices, souvent présentes en amont du promoteur de ces gènes. On appelle le motif d'ADN régulé un cis-régulateur, et le facteur de transcription se fixant spécifiquement au cis régulateur de manière à l'activer ou à l'inhiber un trans-régulateur.

Les cis-régulateurs sont des séquences de 6 à 15 nucléotides, pouvant être placées en amont, entre, ou dans les introns de la séquence codante.

Les gènes contiennent plusieurs types de séquences cis-régulatrices qui contrôlent la transcription comme les promoteurs, les enhancers (activateurs), les silencers (répresseurs).

Répresseur : protéine qui se lie sur une séquence régulatrice ou sur l'opérateur d'un gène, bloquée la transcription.

1.1. Les promoteurs :

region ADN en amont du site d'initiation de la transcription sur laquelle l'ARN pol peut se lier et se fixe ADN pol en fait forme du complexe polymérase subit de modification structural nécessaire pour permettre l'initiation.

1.1.1. Le promoteur basal ou minimal :

Chez les eucaryotes, le promoteur basal contient un ou plusieurs motifs caractéristiques, et située entre 25 et 30 pb en amont du site de démarrage de la transcription (TSS)

1.1.2. Le promoteur proximal :

Le promoteur central est incapable, à lui seul, d'assurer une transcription efficace de la séquence codante située en aval. D'autres éléments proximaux situés entre -50 et -200 pb du site d'initiation sont également impliqués dans la régulation de la transcription.

1.1.3. Les éléments régulateurs distaux :

On distingue les éléments de promoteur distal :

- ✓ **Enhancers** : est une région d'ADN qui peut fixer des protéines pour stimuler la transcription d'un gène, en agissant la région promotrice. On appelle aussi activateurs ou amplificateurs de la transcription.

- ✓ **Silencers** : est une région d'ADN qui intervient dans la régulation de l'expression des gènes. Elles ont une action inverse de celle des enhanceurs ; ainsi les protéines qui se fixent dessus ont un rôle inhibiteur de la transcription. Elles sont aussi connues sous le nom de : répresseurs, inhibiteurs ou inactivateurs de la transcription.

2. Facteurs Trans-régulateurs

La régulation de la transcription des gènes est assurée en partie par l'intervention de facteurs protéiques agissant en « trans ». Certains de ces facteurs sont capables de se lier directement à l'ADN et d'autres interviennent dans des complexes protéiques sans se lier à l'ADN.

L'association de l'ensemble de ces protéines en complexes de haut poids moléculaire permet de réguler la transcription du gène en fonction des signaux cellulaires.

Les trans-régulateurs reconnaissent les séquences CIS et activent ou inhibent leur expression.

2.1. Les facteurs de transcription :

La structure des facteurs est modulaire composée des domaines protéique et ayant des fonctions spécifique

Il ya 3 types de domaine :

- ✓ Les domaines de fixation à l'ADN
- ✓ Les domaines de dimérisation
- ✓ Les domaines d'activation

2.1.1. Les facteurs généraux de la transcription

On distingue des différents facteurs de transcription sont :

Il existe 6 facteurs généraux d'initiation de la transcription (GTFs) : TFII A - TFII B - TFII D - TFII E - TFII F - TFII H .

Les GTFs sont constitués de plusieurs sous-unités (1 à 14 suivant les facteurs), et le nombre de sous-unités en totalité est environ de 30.

Les GTFs s'associent avec le promoteur et avec l'ARN polymérase II.

2.1.2. Les facteurs de transcription spécifiques :

Ils sont associés aux facteurs généraux dans les complexes de transcription et ils interviennent

dans la modulation de la transcription.

Le complexe d'initiation est suffisant pour visualiser une activité transcriptionnelle à très faible taux. L'augmentation ou la répression de cette activité basale est sous la dépendance de facteurs spécifiques qui vont interagir avec le complexe d'initiation.

Pour activer un gène cible, différents stimuli internes et/ou externes entraînent la liaison d'un certain nombre de facteurs de transcription spécifiques à des séquences promotrices en amont de ce gène.

D'autres appelés répresseurs, au contraire l'inhibent en provoquant une condensation de la chromatine ou, par la déstabilisation ou le blocage du complexe.

2.1.3. Les cofacteurs transcriptionnelles :

Ce sont des protéines nucléaires médiatrices de la transcription. Elles permettent ou modulent l'interaction fonctionnelle entre des facteurs de transcription spécifiques et les facteurs généraux présents dans le complexe d'initiation de la transcription.

Différents types de co-facteurs participent à la régulation de l'expression génique, en contribuant soit à l'activation de la transcription (co-activateurs), soit à son inhibition (répresseurs).

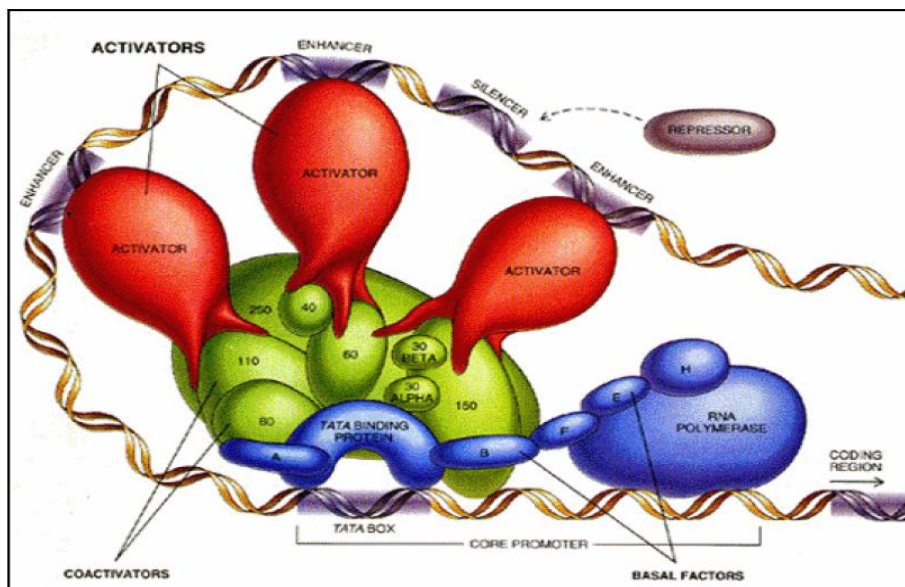


Figure 17 : Les co-facteurs transcriptionnelles

Site d'initiation de la transcription : Le Tss est l'endroit où l'ARN polymérase se fixe, pour reconnaître le début de la séquence codant pour l'ARN.

Cette reconnaissance se fait par l'intermédiaire d'une de ses sous unités qui se lie à un domaine particulier de l'ADN présent dans le gène.

Il indique à la polymérase où se lier mais également dans quel sens démarrer et sur quel brin.

Atténuation transcriptionnelle :

L'atténuation est un mécanisme de régulation de l'expression des gènes présent en particulier chez toutes les Archées et les Bactéries.

L'atténuation consiste en une terminaison prématurée de la transcription, en amont des gènes de structure situé dans la région 5'-non traduite de l'ARN, appelé atténuateur, et alors n'y a pas de synthèse d'un ARN messager complet et donc pas d'expression.

II.1.2. Régulation post-transcriptionnelle :

La régulation post-transcriptionnelle est une phase de la régulation de l'expression des gènes comprenant tous les mécanismes affectant directement les molécules d'ARN (acide ribonucléique) produite lors de la transcription. Elle permet aux cellules de s'adapter rapidement aux changements de leur environ.

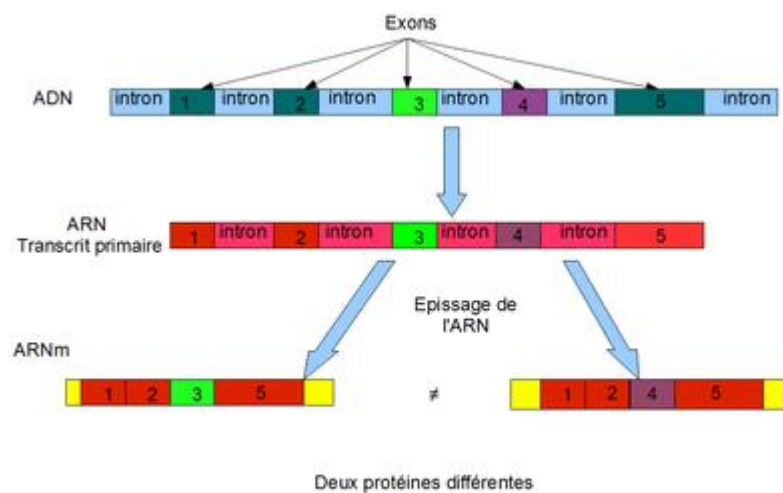


Figure 18 : La régulation post-transcriptionnelle

Chez les eucaryotes, ARNm subi de modification post-transcriptionnelle sont :

1. Contrôle de la maturation des ARNm (épissage alternatif)

L'épissage : Les gènes eucaryotes sont morcelés dans le génome et il doit y avoir un assemblage des exons afin d'exprimer ces gènes sous une forme continue.

L'épissage alternatif : quand un exon peut être soit inclus soit exclu de l'ARN mature.

À partir d'un seul gène, l'épissage alternatif permet de produire plusieurs ARNm qui pourraient alors être traduits en diverses protéines avec des propriétés et des fonctions bien distinctes.

Ce processus est un grand contributeur à la diversité du protéome et fournit une part d'explication au différentiel entre le nombre de gènes et celui des protéines.

1.1. Les différents types d'épissage alternatif :

- ✓ Promoteurs alternatifs
- ✓ Sites Poly-A alternatifs
- ✓ Sites 5' d'épissage alternatifs
- ✓ Sites 3' d'épissage alternatif
- ✓ Exon cassette
- ✓ Exons mutuellement exclusifs
- ✓ Rétention d'introns

1.2. Contrôle de l'épissage alternatif

La réaction d'épissage par le complexe du spliceosome nécessite une reconnaissance des séquences consensus (Cis) ainsi que l'intervention des facteurs agissant en Trans.

Des protéines peuvent se lier au transcrit primaire afin de modifier l'épissage des introns. En effet, elles peuvent activer ou inhiber la coupure de certains introns.

2. Export nucléaire

Dans les cellules eucaryotes, les sites de transcription (noyau) et de traduction (cytoplasme) sont séparés par une membrane nucléaire. Le transport des ARN entre le noyau et le cytoplasme via les pores nucléaires est un processus essentiel pour l'expression des gènes. Après sa maturation dans le noyau, l'ARNm reste associé avec des protéines spécifiques pour former des complexes mRNP. L'assemblage des mRNP est donc co-transcriptionnel.

Le transport noyau-cytoplasme se fait grâce à des protéines riches en serine et arginine qui lient l'ARN et qui sont reconnues par un large complexe : le pore nucléaire (NPC). L'énergie

est apportée par une protéine appelée Ran qui hydrolyse le GTP.

Il existe un récepteur pour l'export qui interagit avec le pore et qui est spécifiquement impliqué dans le transport nucléocytoplasmique d'ARNm. Il s'agit d'un hétérodimère composé des protéines NXF1/TAP et p15.

3. Édition des ARNm :

En 1998, Price et Gray ont proposé une définition du processus d'édition des ARN qui est aujourd'hui admise par l'ensemble de la communauté scientifique. Selon ces chercheurs, « l'édition décrit l'ensemble des processus d'altération des ARN conduisant à un transcrit mature dont la séquence diffère de celle codée par le génome au niveau d'un ou plusieurs nucléotides ».

3.1. Différentes processus :

- ✓ L'édition par insertion ou délétion des nucléotides altère le nombre de résidus contenus dans la molécule d'ARN.
- ✓ L'édition par conversions ou remplacements de nucléotides altère l'identité des nucléotides contenus dans la molécule d'ARN.

4. Stabilité des ARNm

Réguler la stabilité des ARNm est une des voies pour assurer que certaines protéines soient présentes pendant des instants très courts ou des périodes plus longues.

4.1. Temps de $\frac{1}{2}$ vie des ARNm :

Il n'y a pas d'ARN stables depuis la naissance jusqu'à l'âge adulte : c'est de l'ordre de l'heure.

Certaines protéines de cellules eucaryotes sont nécessaires pour des périodes de temps très courtes et doivent être exprimées rapidement (protéines de signalisation comme les cytokines, les facteurs du cycle cellulaire..).

4.2. Les voies de dégradation

Dans le cas de la plupart des ARNm, la longueur de la queue poly A décroît progressivement dans le temps, en raison de l'action d'une nucléase responsable de la désanylation.

Lorsque leur queue est suffisamment raccourcie, les molécules de PABP ne peuvent plus se

fixer ni stabiliser l'interaction de la coiffe en 5' et des facteurs d'amorçage. La coiffe exposée est ensuite retirée par une enzyme et l'ARNm non protégé est dégradé par une exonucléase 5' à 3'.

4.3. Le système de surveillance NMD (Non sense-mediated decay)

Le NMD ou Dégradation des ARNm Non-sens est un mécanisme de contrôle qualité des ARNm. Il vise à éliminer :

- ✓ les ARNs avec des codons stop précoces.
- ✓ les ARNs non épissés
- ✓ les ARNs ayant des 3' UTR très longs

4.4. Mécanisme de l'inhibition par le RNAi :

Ce processus commence avec un double brin d'ARN (70 nuc) qui est dégradé par une DICER. Les produits de ce clivage sont des petits ARN de 20 à 25 nucléotides, appelés petits ARN si. Ces si RNA se séparent en simple brin sens et anti sens.

Les brins anti sens vont interagir avec un complexe protéique RISC qui reconnaît, se lie et clive les ARNm qui contiennent des séquences complémentaires du brin anti-sens du ARN si.

II. la traduction :

1. Régulation traductionnelle :

1.1. Inhibition de la lecture de l'ARN par RE en 5' :

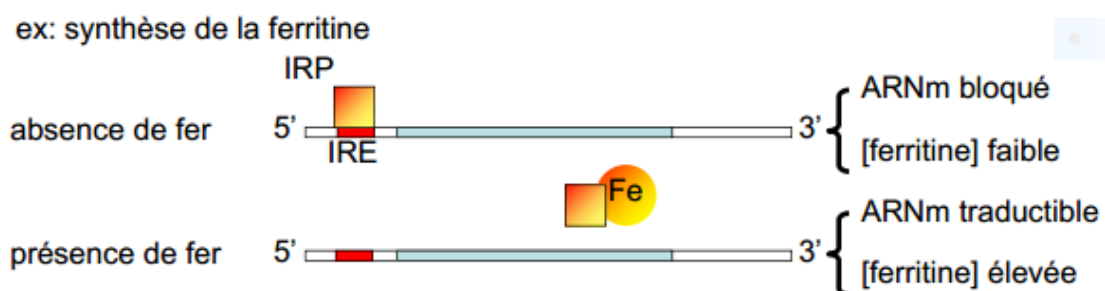


Figure 19 : absence et présence de fer

1.2. Inhibitions des facteurs de traduction (initiation élongation terminaison) :

ex: synthèse de la β -globine

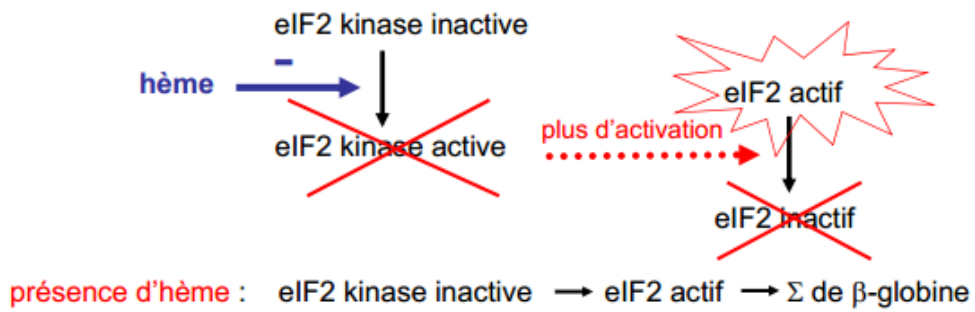


Figure 20 : Inhibition des facteurs de la traduction

1.3. Régulation par le micro ARN :

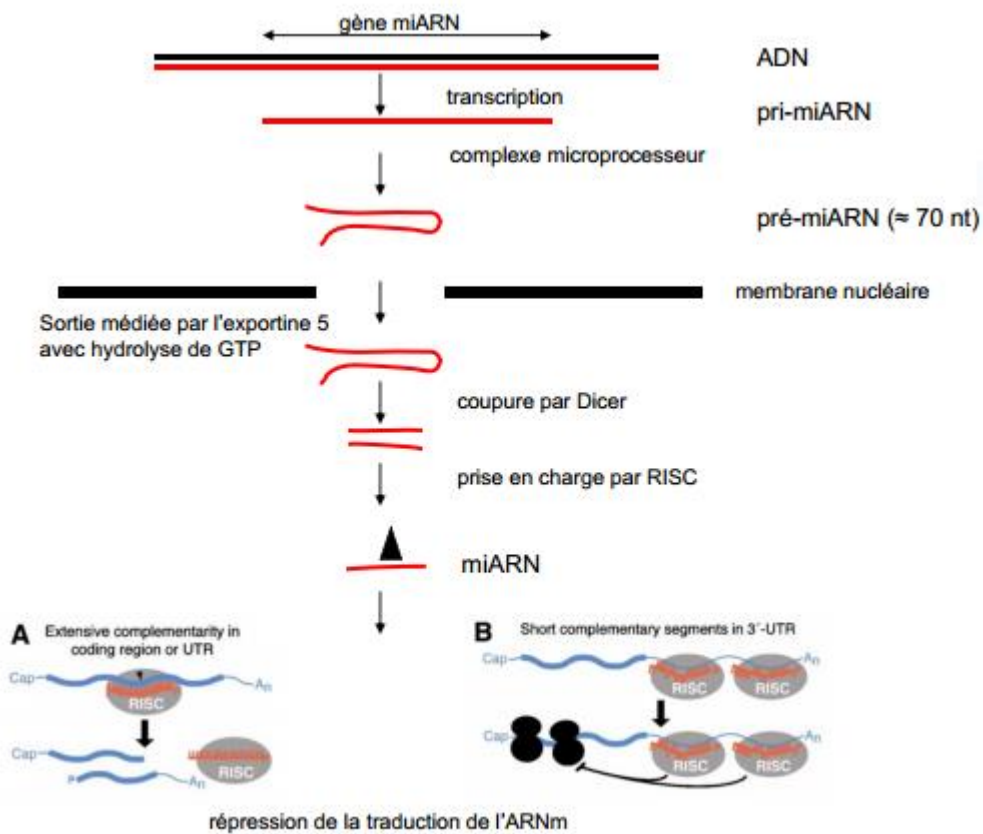


Figure 21 : Régulation par le micro ARN

2. Régulation post-traductionnelle :

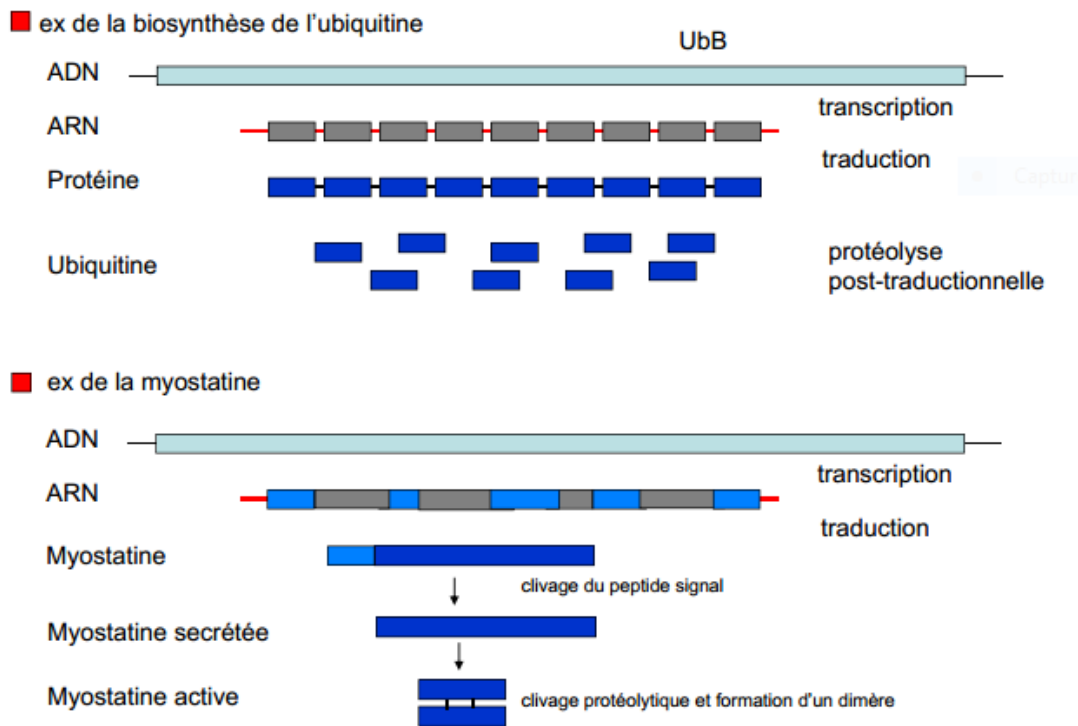


Figure 22 : Régulation post-traductionnelle

III. Epigénétique :

Etude des caractères, tels que l'état de transcription des gènes, qui sont héréditaires au cours des divisions cellulaires mais qui n'impliquent aucun changement de la séquence d'ADN.

Ces caractères sont en général réversibles ("reprogrammables") (selon le type cellulaire) et sont portés par des modifications dites épigénétiques.

1. Les mécanismes épigénétiques :

- ✓ Modifications post-traductionnelles des histones : méthylation, acétylation, phosphorylation, ubiquitination, sumoylation, polyADPribosylation
- ✓ Méthylation de l'ADN : par l'ADN méthyl-transférase, chez la plupart des eucaryotes (sauf *S.cerevisiae*, *C.elegans*, peu chez *D.melanogaster*), liée à la répression des gènes
- ✓ Utilisation de variantes d'histones : isoformes non alléliques des histones conventionnelles, présentes en très faible quantité (macroH2A...)

2. Modifications Les extrémités NH₂-terminales des histones :

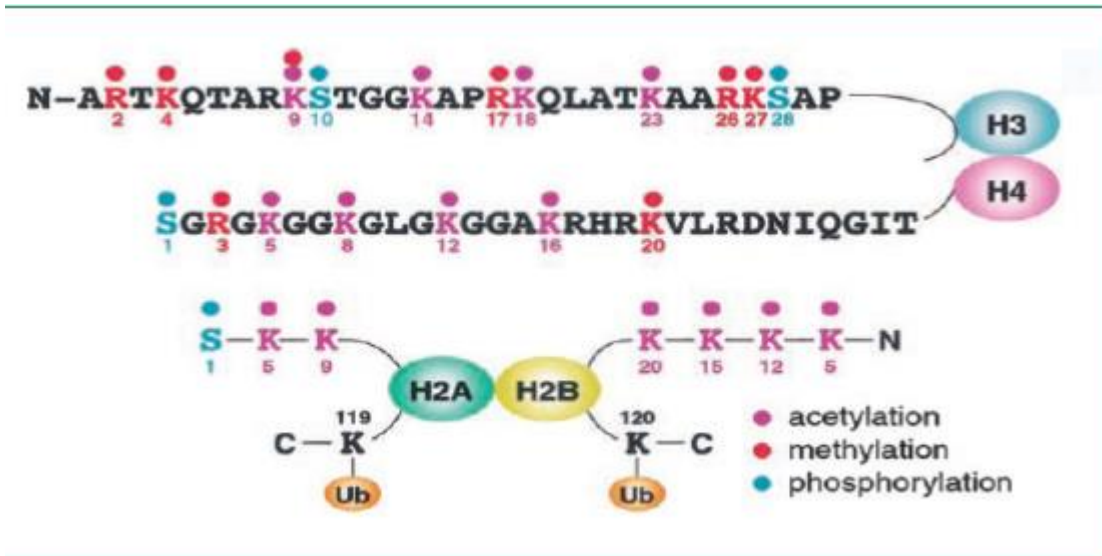


Figure 23 : Modifications Les extrémités NH₂-terminales des histones

Chapitre II :

Matériels et

Méthodes

I. Matériels :

GENBANK : Base de données de la séquence ADN, comprenant toutes les séquences de nucléotides publiquement disponible et leur traduction protéines.

GOR IV : Bank de données protéique, c'est les méthodes de prédiction de structure secondaire basées sur la théorie de l'information.

IPC : Bank de données protéique, et c'est le pH auquel une molécule particulière ne porte pas de charge électrique nette.

PRIMER 3 plus : Bank des données nucléique, pour sélectionne les amorces d'une séquence d'ADN.

GENSCAN : Bank de données nucléique, et identification de structures géniques complètes dans l'ADN génomique.

MtGEA : *Medicago truncatula* Gene Expression Atlas, c'est une basse de données on utilise pour développer un atlas des profils d'expression génétique pour la majorité des gènes de *M. truncatula* par ce que c'est un modèle de référence pour la génétique, la génomique et la sélection des légumineuses.

Logiciel R studio : Langage de programmation et un logiciel libre destiné aux statistiques et à la science des données, on utilise ce logiciel pour faire l'arbre phylogénétique.

Excel : Logiciel tableur, utilisé pour afficher les résultats des données.

Access 2013 : Base de données relationnelle, on a créé ce base après assemblée et classiez mes données.

II. Méthodes :

2.1. La basse de données en ACCESS :

1. Choix des gènes :

A travers l'étude scientifique que nous avons menée, nous avons abordé l'extrapolation des gènes de *M. truncatula* au moyen de GENBANK et on a choisi 5 gènes « *M. truncatula* cultivar A17 TRM1 protein (TRM1) gene, *M. truncatula* cultivar R108 transcription factor IIIA (TFIIIA) gene, *M. truncatula* 1-cys peroxiredoxin mRNA, *M. truncatula* cultivar Jemalong A17

zinc ion transmembrane transporté (MTP1) mRNA, *M. truncatula* isolate Medtr5g066380 invertase mRNA».

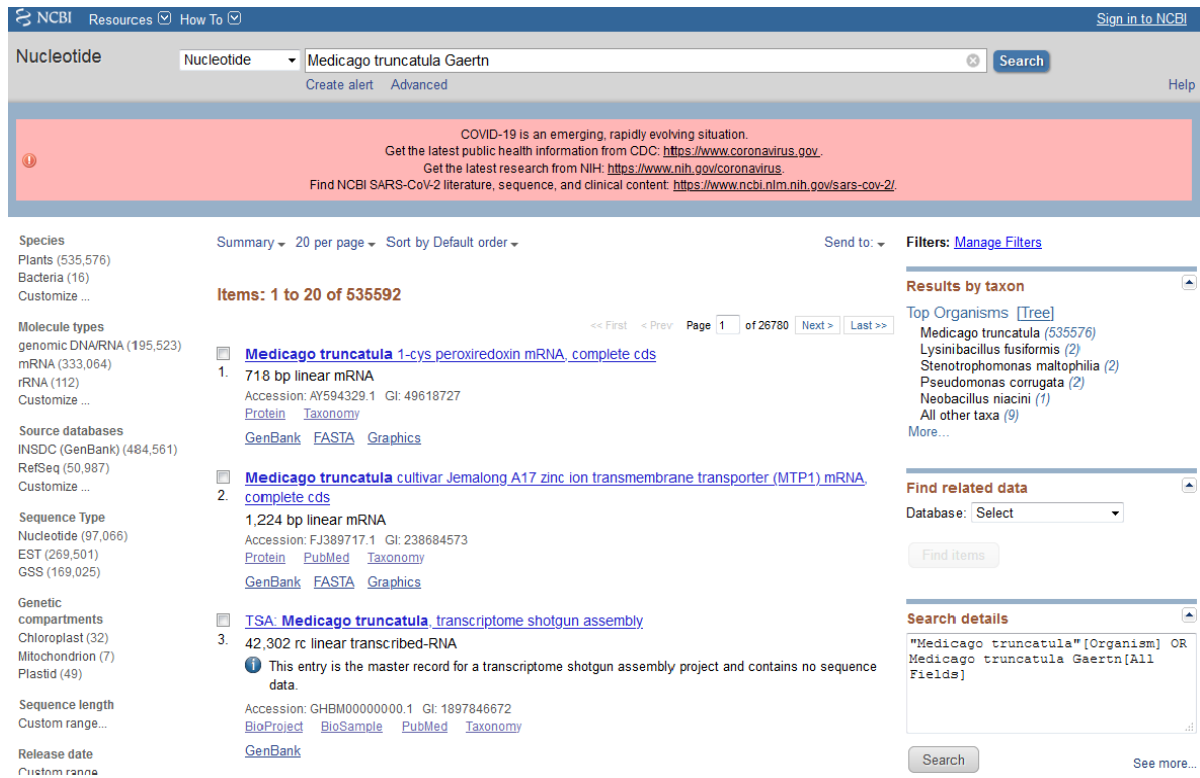


Figure 24 : Interface de GENBANK

2. Chacun des gènes a une séquence nucléique et séquence protéique qui nous a amené à savoir la structure 2D, Phi, %GC, primer D et primer G au moyen des GOR IV, IPC, GENSCAN et Primer 3 Plus.

3. On a utilisé Access pour assembler les informations sur chaque gène

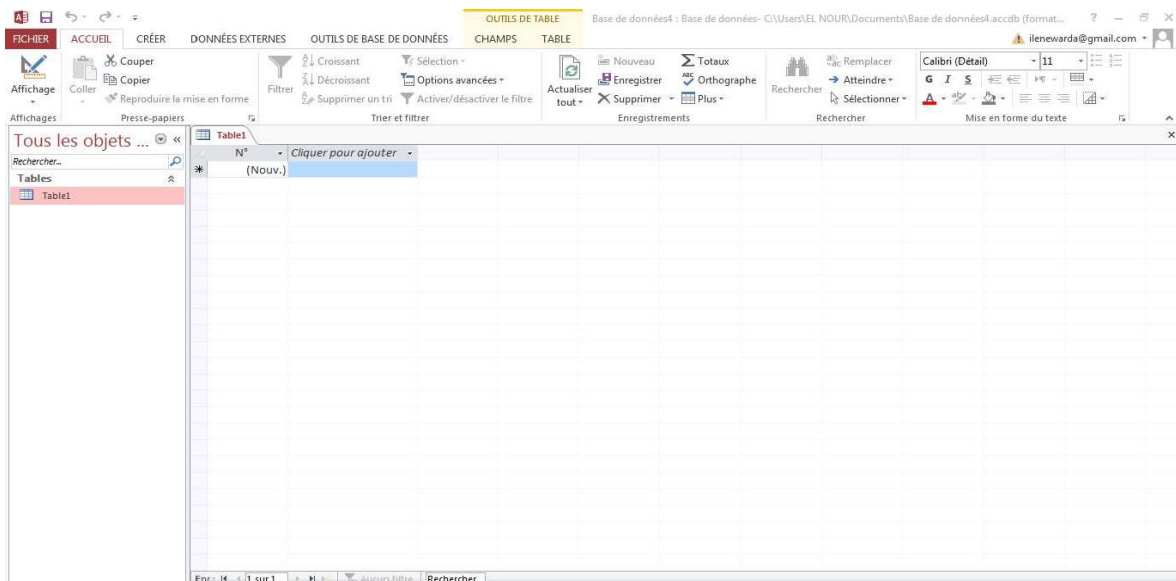


Figure 25 : Interface de l'Access 2013

4. Création des tables :

Chaque gène a des enregistrements code gène, nom de gène, séquence, %GC, code CDs et primer G ...

The screenshot shows a database management software interface with a table of gene data. The table has the following columns: CODE GENE, NOM DE GEI, SEQUENCE, ORGANISME, TAILLE, LOCUS, %GC, CODE PRIME, CODE PRIME, CODE EXON, CODE INTRC, and CODE CDS. The data rows are as follows:

CODE GENE	NOM DE GEI	SEQUENCE	ORGANISME	TAILLE	LOCUS	%GC	CODE PRIME	CODE PRIME	CODE EXON	CODE INTRC	CODE CDS
AY594329	Mt 1-cys perox	ATTGAATATGC	Medicago trun	718 pb	AY594329	40,53	G19980	D19972	E19990	T19960	C17722
FJ389717	Mt cultivar Jen	ATGGGAAGCAG	Medicago trun	1224 bp	FJ389717	42,97	G20300	D20209	E20400	T20500	C17304
MN623106	Mt isolate Mec	ATGGGAAGCTC	Medicago trun	1734 bp	MN623106	36,04	G20707	D20199	E20715	T20100	C17503
MT799184	Mt cultivar R1C	TCACTCTTCAA	Medicago trun	2573 pb	MT799184	35,25	R108120	R108619	R108256	R108192	R108384
MT799185	Mt cultivar A1	ATGGGAGACTC	Medicago trun	3979 pb	MT799185	35,59	A17120	A17619	A17256	A17192	A17384

Figure 26 : création les tables des gènes

2. La base de données MtGEA :

2.1. MtGEA: *Medicago truncatula* Gene Expression Atlas

On a choisi la base de données MtGEA, et on a cliqué sur « Batch Download by Experiment » pour afficher les conditions.

The screenshot shows the MtGEA web interface. The header includes the Noble Research Institute logo and the text "Noble Research Institute | Mt Gene Expression Atlas" and "Medicago truncatula Gene Expression Atlas". The main content area is titled "Introduction" and "The *Medicago truncatula* Gene Expression Atlas (MtGEA) Project". It describes the project's goal of creating a compendium of gene expression profiles for *M. truncatula* genes. A search box is visible on the left side of the page.

Figure 27 : Interface de MtGEA

2.2. Choix des conditions :

Stress hydrique (Root drought and Shoot drought):

On a choisi les conditions de stress hydrique : RT_drought_2D, RT_drought_4D, RT_drought_7D, RT_drought_10D, RT_drought_14D, RT_drought_3D, SHT_drought_2D, SHT_drought_3D, SHT_drought_4D, SHT_drought_7D, SHT_drought_10D et SHT_drought_14D.

Root drought 2d: Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 2d drought stress (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> RT_drought_2d_1 <input type="checkbox"/> RT_drought_2d_2 <input type="checkbox"/> RT_drought_2d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (RT_drought_2d)
Root drought 3d: Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 3d drought stress (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> RT_drought_3d_1 <input type="checkbox"/> RT_drought_3d_2 <input type="checkbox"/> RT_drought_3d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (RT_drought_3d)
Root drought 4d: Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 4d drought stress (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> RT_drought_4d_1 <input type="checkbox"/> RT_drought_4d_2 <input type="checkbox"/> RT_drought_4d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (RT_drought_4d)
Root drought 7d: Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 7d drought stress (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> RT_drought_7d_1 <input type="checkbox"/> RT_drought_7d_2 <input type="checkbox"/> RT_drought_7d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (RT_drought_7d)
Root drought 10d: Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 10d drought stress (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> RT_drought_10d_1 <input type="checkbox"/> RT_drought_10d_2 <input type="checkbox"/> RT_drought_10d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (RT_drought_10d)
Root drought 14d: Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 14d drought stress (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> RT_drought_14d_1 <input type="checkbox"/> RT_drought_14d_2 <input type="checkbox"/> RT_drought_14d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (RT_drought_14d)
Root drought 14d rewatered 1d: Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 14d drought stress plus 1d rewatered (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> RT_drought_14d_rewatered_1d_1 <input type="checkbox"/> RT_drought_14d_rewatered_1d_2 <input type="checkbox"/> RT_drought_14d_rewatered_1d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (RT_drought_14d_rewatered_1d)

Figure 28 : Root drought des gènes de *M. truncatula*

Shoot drought 2d: Organ: shoot (whole aerial system). Treatment Type: physical treatments. Treatment: 2d drought stress (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> SHT_drought_2d_1 <input type="checkbox"/> SHT_drought_2d_2 <input type="checkbox"/> SHT_drought_2d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (SHT_drought_2d)
Shoot drought 3d: Organ: shoot (whole aerial system). Treatment Type: physical treatments. Treatment: 3d drought stress (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> SHT_drought_3d_1 <input type="checkbox"/> SHT_drought_3d_2 <input type="checkbox"/> SHT_drought_3d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (SHT_drought_3d)
Shoot drought 4d: Organ: shoot (whole aerial system). Treatment Type: physical treatments. Treatment: 4d drought stress (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> SHT_drought_4d_1 <input type="checkbox"/> SHT_drought_4d_2 <input type="checkbox"/> SHT_drought_4d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (SHT_drought_4d)
Shoot drought 7d: Organ: shoot (whole aerial system). Treatment Type: physical treatments. Treatment: 7d drought stress (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> SHT_drought_7d_1 <input type="checkbox"/> SHT_drought_7d_2 <input type="checkbox"/> SHT_drought_7d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (SHT_drought_7d)
Shoot drought 10d: Organ: shoot (whole aerial system). Treatment Type: physical treatments. Treatment: 10d drought stress (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> SHT_drought_10d_1 <input type="checkbox"/> SHT_drought_10d_2 <input type="checkbox"/> SHT_drought_10d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (SHT_drought_10d)
Shoot drought 14d: Organ: shoot (whole aerial system). Treatment Type: physical treatments. Treatment: 14d drought stress (time-course)
Selection: <input type="checkbox"/> SHT_drought_14d_1 <input type="checkbox"/> SHT_drought_14d_2 <input type="checkbox"/> SHT_drought_14d_3 <input checked="" type="checkbox"/> Mean (SHT_drought_14d)

Figure 29 : Shoot drought des gènes de *M. truncatula*

2.3. Profil d'expression :

On a choisi 200 gènes de chaque condition puis extrait 20 gènes candidats qui sont les pics d'expression de profil (Root drought and Shoot drought).

Un exemple Mtr.10007.1.S1_at :

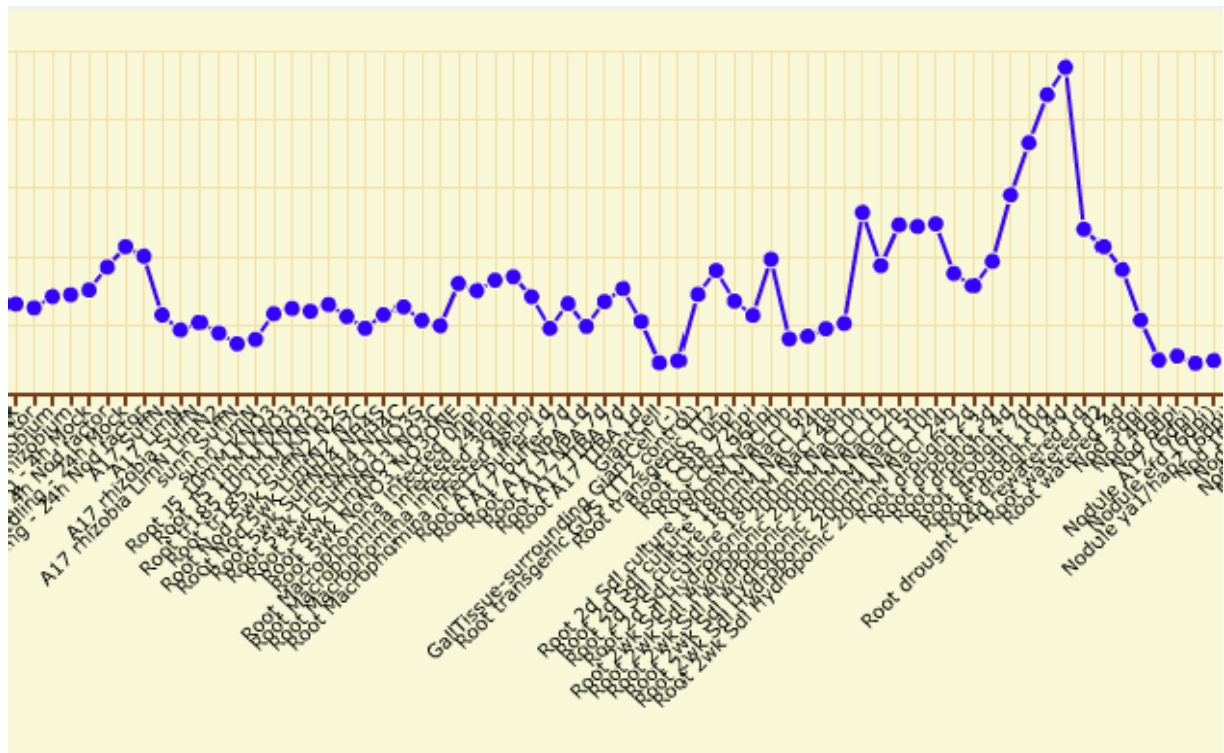


Figure 30 : Expression profile de Mtr.10007.1.S1_at (Root drought)

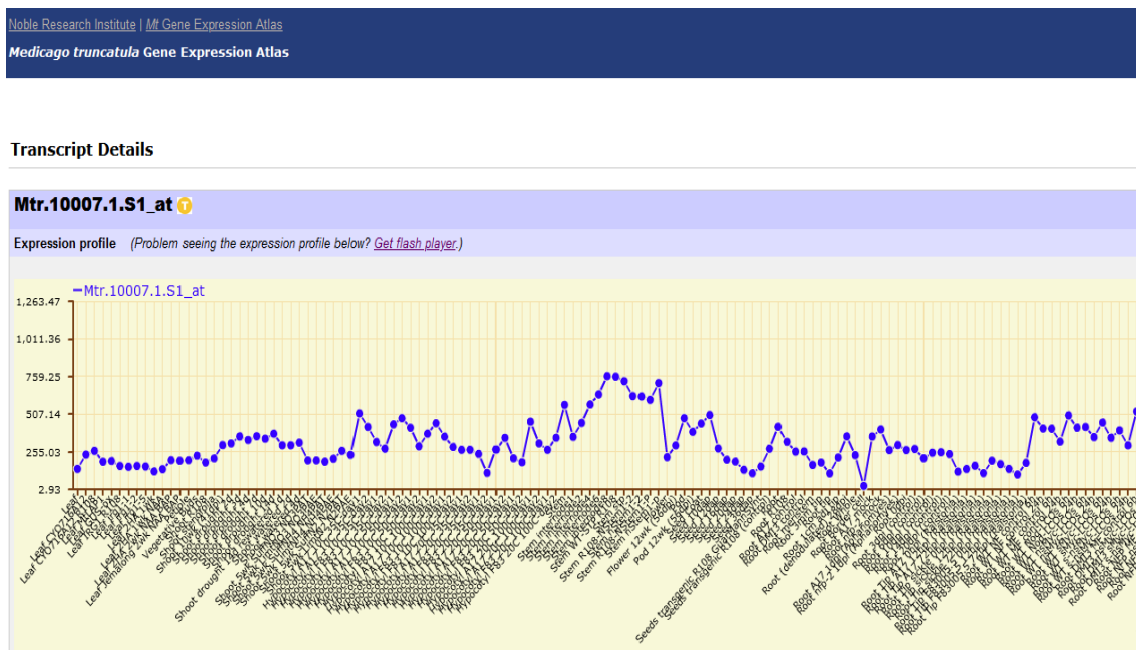


Figure 31 : Expression profile de Mtr.10007.1.S1_at (Shoot drought)

2.4. Classement selon l'ordre décroissant :

Les valeurs est élevée aux jours 14 et faibles au jour 2 par a rapport les conditions Root drought et on a soustraire (14D – 2D) pour l'ordre décroissant.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	X	2 day R	3 day R	4 day R	7 day R	10 day R	14 day R	2 day SH	3 day SH	4 day SH	7 day SH	10 day SH	14 day SH
2	Mtr.10158.1.S1_at	448.68	397.99	534.46	1086.33	1101.24	1504.01	302.01	250.54	341.1	451.25	722.31	820.6
3	Mtr.10045.1.S1_at	465.45	763.69	1030.27	1220.63	1225.46	1285.88	648.44	1017.52	1437.49	1378.25	1886.42	1792.38
4	Mtr.10007.1.S1_at	402.87	492.45	735.54	926.71	1102.9	1203.3	311.71	358.18	334.87	359.79	342.83	376.23
5	Mtr.10044.1.S1_at	44.2	45.71	154.21	331.78	570.14	744.82	1389.16	1138.96	1143.44	1423.43	1535.68	1487.03
6	Mtr.10042.1.S1_at	338.08	327.85	414.9	604.42	626.66	782.02	273.08	236.73	289.05	326.07	452.47	426.36
7	Mtr.1.1.S1_at	78.61	91.28	127.35	258.71	321.68	509.15	67.63	80.52	57.81	62.2	70.26	71.15
8	Mtr.1.1.S1_s_at	555.88	755.05	957	949.69	946.03	977.97	289.64	296.95	624.62	616.53	669.54	700.43
9	Mtr.10129.1.S1_at	256.24	220.7	273.08	399.54	454.69	569.98	199.94	154.32	253.87	260.16	381.71	616.64
10	Mtr.10000.1.S1_at	234.77	271.83	329.75	366.88	392.11	525.5	186.86	209.78	220.46	238.78	303.13	287.68
11	Mtr.10104.1.S1_at	85.69	763.69	1030.27	1220.63	1225.46	344.76	563.43	659.04	476.95	410.42	407.49	337.08
12	Mtr.10155.1.S1_at	288.5	270.79	336.54	416.07	451.91	535.08	177.52	152.99	214.17	264.76	324.05	327.76
13	Mtr.10030.1.S1_at	408.03	427.78	554.05	586.44	657.19	651.61	276.46	329.96	404.11	366.19	456.08	416.36
14	Mtr.10116.1.S1_at	865.24	1080.2	1171.02	1143.52	1192.35	1099.78	535.08	633.81	1086.84	1076.68	1197.2	1110.01
15	Mtr.10022.1.S1_at	223.28	254.95	250.47	271.49	316.62	456.1	155.05	157.79	230.34	208.6	281.35	306.2
16	Mtr.10067.1.S1_s_at	422	456.78	569.96	608.72	668.61	635.79	355.92	435.08	515.3	545.67	562.29	627.46
17	Mtr.10001.1.S1_s_at	583.44	579.98	670.33	737.92	758.63	782.99	351.67	401.15	563.85	538.3	625.85	589.11
18	Mtr.10120.1.S1_at	410.02	429.886	505.94	511.6	548.32	527.57	276.67	304.02	394.34	443.12	648.06	429.52
19	Mtr.10132.1.S1_at	147.42	133.84	177.89	232.24	257.47	313.71	124.79	137.97	174.54	253.5	270.88	325.23
20	Mtr.10090.1.S1_at	63.8	64.45	72.03	134.29	157.44	225.06	29.47	32.42	36.85	56.2	72.55	83.17
21	Mtr.10029.1.S1_s_at	176.86	217.17	345.11	322.82	327.25	296.06	640.4	761.26	1073.12	540.99	454.39	427.65
22													

Figure 32 : les 20 gènes de *M. truncatula* avec les conditions (Root drought and Shoot drought)

2.5. Traitement des données par le logiciel R studio :

On utilise le logiciel R studio pour traiter les données des gènes pouvant être étudiés et faire un arbre phylogénétique.

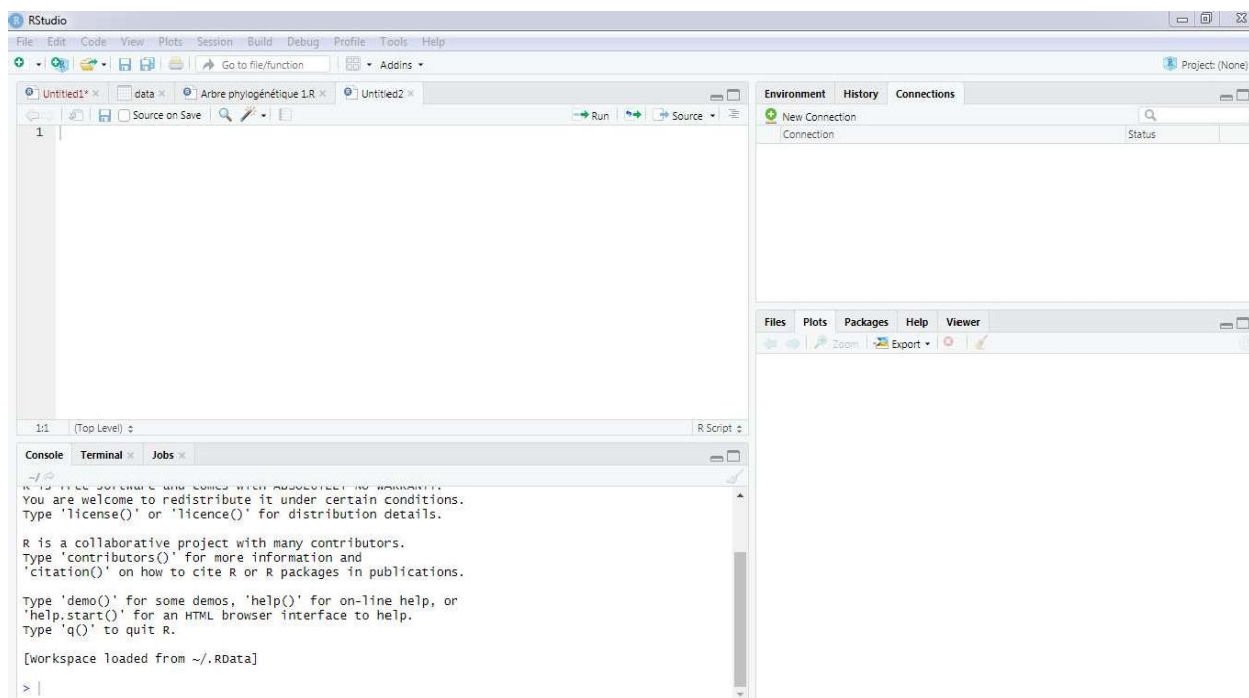


Figure 33 : Interface de logiciel Rstudio

Pour faire l'arbre phylogénétique par le logiciel Rstudio on a changé le format du fichier Excel à fichier CSV (nom.CSV) et le nom de fichier « data », puis on a écrit le code avec des différentes commandes et fonctions.

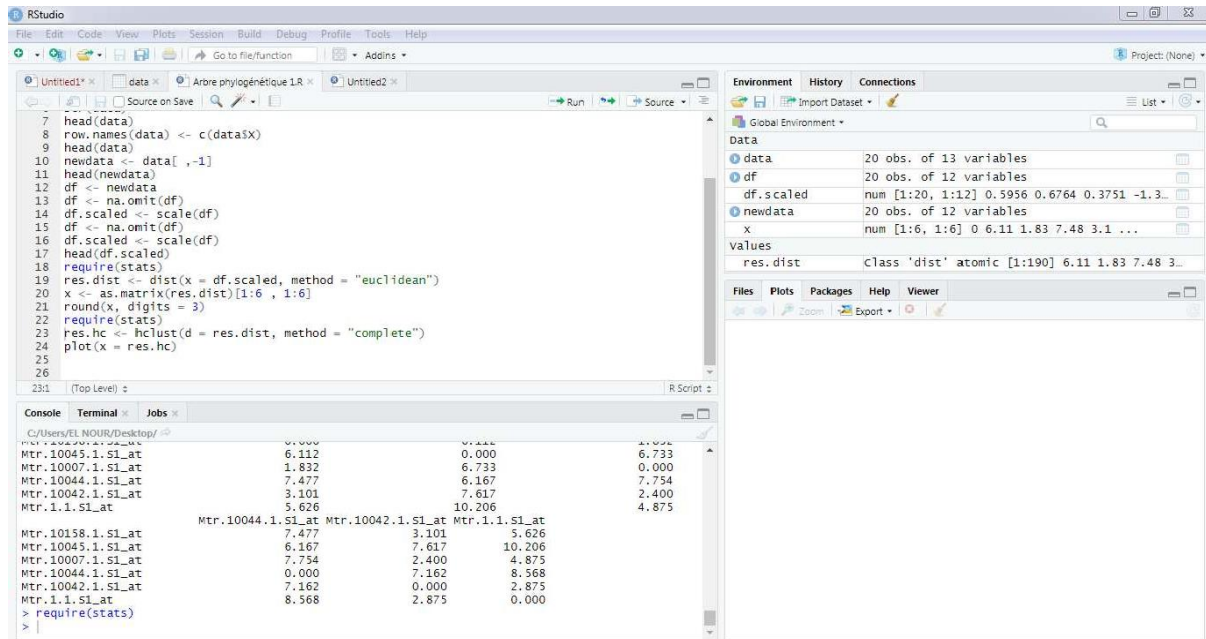


Figure 34 : Le code pour faire l'arbre phylogénétique

III. Résultats :

1. Table relationnelle :

A l'aide d'Access, en utilisant toutes les méthodes et les informations, nous avons trouvé la table relationnelle suivante.

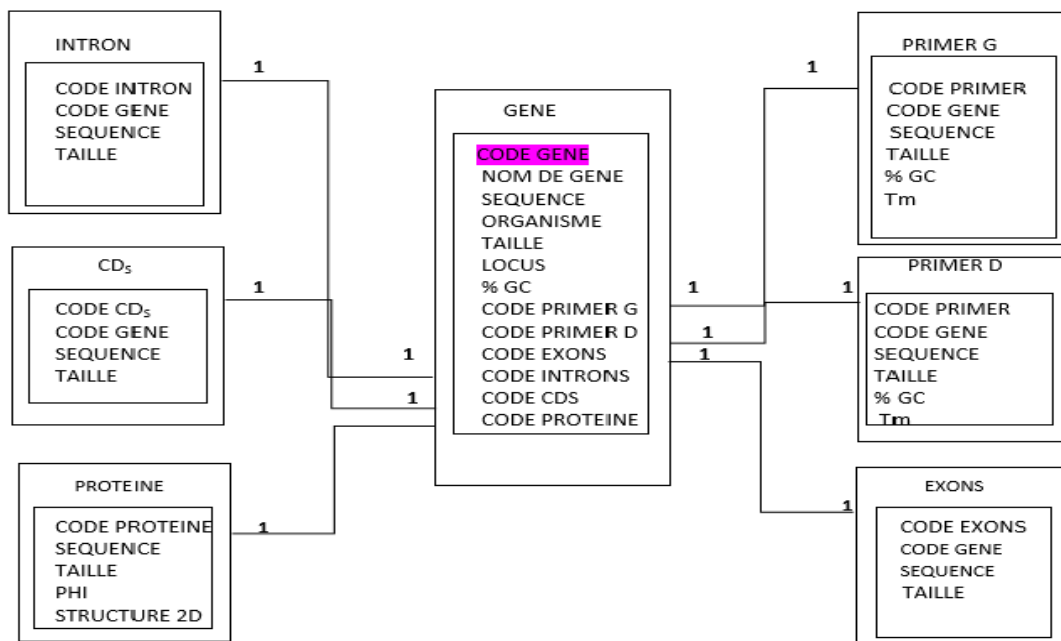


Figure 35 : Table relationnelle entre les gènes de *M. truncatula*

2. Arbre phylogénétique :

Le traitement des données de l'expression, des 20 gènes choisis, par le logiciel Rstudio nous a permis d'obtenir le résultat suivant :

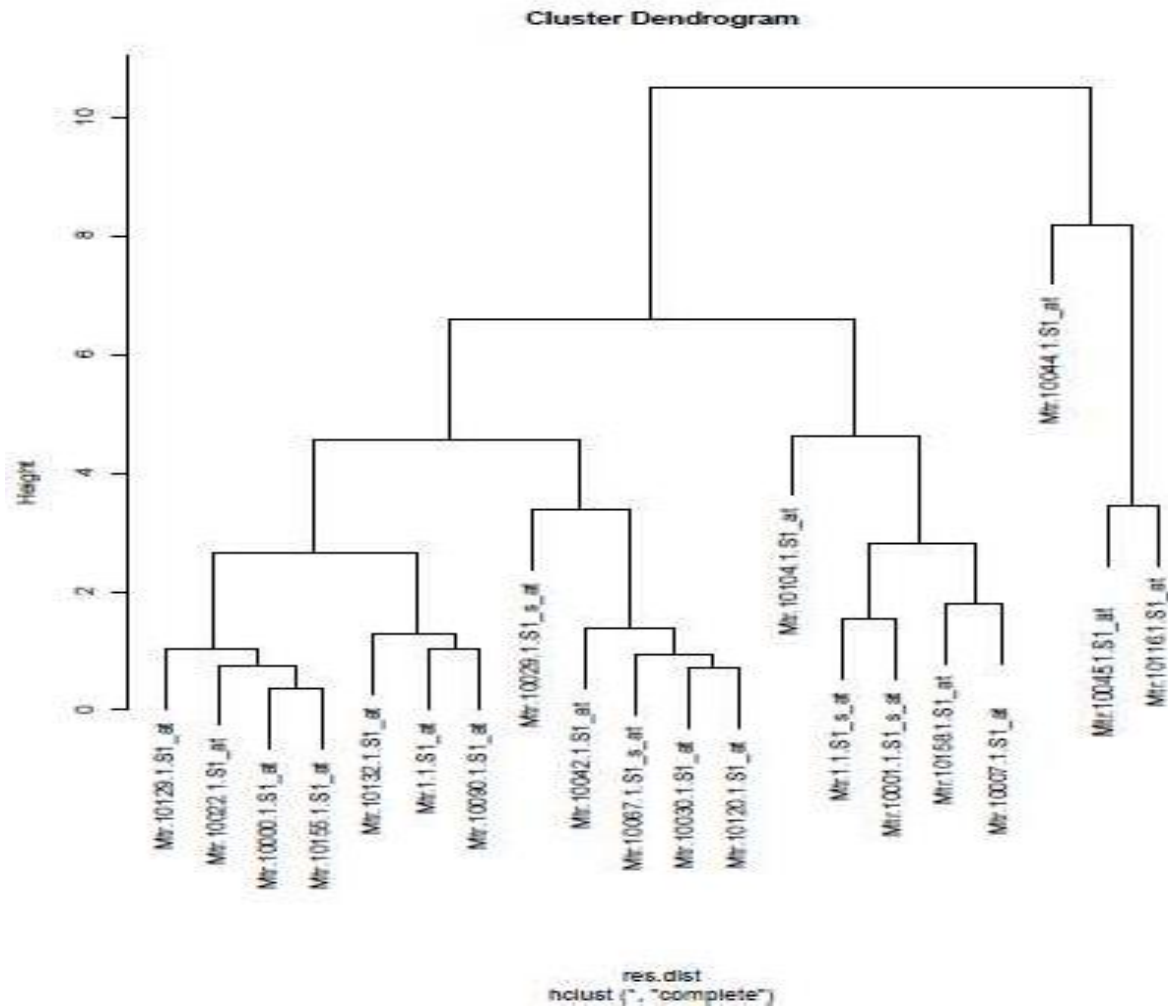


Figure 36 : Arbre phylogénétique des gènes de *M. truncatula*

Interprétation et discussion :

L'arbre phylogénétique c'est une représentation schématique et buissonnante, permettant de mettre en avant une parenté entre espèces ou groupes des espèces.

Dans cet arbre phylogénétique il y a 20 gènes de *M. truncatula*, c'est gènes sont groupés entre eux par des clades et se sont divisés en groupes.

Tableau 5 : l'identification et la fonction des gènes de *M. truncatula*

Probsset	Gene ID	Fonctions
Mtr.10158.1.S1_at	Medtr7g117545.1	pumilio-family RNA-binding repeatprotein
Mtr.10045.1.S1_at	Medtr3g449620.1	polyamine oxidase-like protein
Mtr.10007.1.S1_at	Medtr3g091820.1	Dof-type zinc finger DNA-binding family protein
Mtr.10044.1.S1_at	No information	No information
Mtr.10042.1.S1_at	Medtr5g090430.1	ATP-dependent RNA helicase, putative
Mtr.1.1.S1_at	Medtr5g029640.1	RNA recognition motif, a.k.a. RRM, RBD protein
Mtr.1.1.S1_s_at	Medtr5g029640.1	RNA recognition motif, a.k.a. RRM, RBD protein
Mtr.10129.1.S1_at	Medtr5g058150.1	ribosomal RNA processing-like protein
Mtr.10000.1.S1_at	Medtr7g102610.1	PHD zinc finger protein
Mtr.10104.1.S1_at	Medtr4g068240.1 Medtr4g068270.1	-orn/lys/arg decarboxylase major regionprotein -orn/lys/arg decarboxylase major regionprotein
Mtr.10155.1.S1_at	Medtr8g073170.1	exosome complex exonuclease RRP44
Mtr.10030.1.S1_at	Medtr4g116460.1 Medtr4g116460.1	-zinc finger, C3HC4 type (RING finger)protein -zinc finger, C3HC4 type (RING finger)protein
Mtr.10116.1.S1_at	Medtr8g070510.4 Medtr8g070510.2 Medtr8g070510.3	-EF hand calcium-binding familyprotein -EF hand calcium-binding familyprotein -EF hand calcium-binding familyprotein
Mtr.10022.1.S1_at	Medtr1g107575.1	CwfJ carboxy-terminal 1-like protein
Mtr.10067.1.S1_s_at	Medtr2g006330.3 Medtr2g006330.2 Medtr2g006330.1	-sucrose non-fermenting-like kinase 2 familyprotein -sucrose non-fermenting-like kinase 2 familyprotein -sucrose non-fermenting-like kinase 2 familyprotein
Mtr.10001.1.S1_s_at	Medtr3g079200.1	zinc finger CCCH domain protein
Mtr.10120.1.S1_at	Medtr4g081050.1	AP-5 complex subunit zeta-like protein
Mtr.10132.1.S1_at	Medtr5g069660.1	hypothetical protein
Mtr.10090.1.S1_at	Medtr7g097190.1	phytochelatin synthase
Mtr.10029.1.S1_s_at	Medtr5g032720.1	MATE efflux family protein

Le niveau 1 (la distance 10) : il y a 2 groupes

Dans le premier groupe il y a 3 gènes sont : Mtr.10045.1.S1_at, Mtr.10116.1.S1_at et Mtr.10044.1.S1_at, ces gènes ont des rôles dans l'homéostasie, la survie cellulaire et la liaison du calcium dans les protéines pour stocker le calcium à l'intérieur de la cellule.

Dans le deuxième groupe il y a 17 gènes sont: Mtr.10158.1.S1_at, Mtr.1.1.S1_at, Mtr.1.1.S1_s_at, Mtr.10007.1.S1_at, Mtr.10029.1.S1_at, Mtr.10090.1.S1_at, Mtr.10120.1.S1_at, Mtr.10067.1.S1_s_at, Mtr.10000.1.S1_at, Mtr.10042.1.S1_at, Mtr.10132.1.S1_at, Mtr.10001.1.S1_s_at, Mtr.10022.1.S1_at, Mtr.10155.1.S1_at,

Mtr.10129.1.S1_at, Mtr.10104.1.S1_at et Mtr.10030.1.S1_at, ces gènes ont des rôles dans la régulation de l'expression génétique, catalysent une transformation chimique à travers les transporteurs d'efflux et les ions de zinc, résisté à la sécheresse et la réponse de la croissance.

Selon leur fonction de ces groupes partagent le même résultat parce que ces gènes sont responsables de l'homéostasie et la survie cellulaire à travers les transporteurs d'efflux et les ions de zinc, liaison du calcium dans les protéines avec régulation de l'expression génétique, résistance à la sécheresse et la réponse de la croissance.

Le niveau 2 (la distance 8) :

Il y a 2 groupes ; dans le premier groupe il y a 2 gènes : Mtr.10045.1.S1_at et Mtr.10116.1.S1_at ont des rôles dans l'homéostasie et la survie cellulaire et liaison du calcium dans les protéines et stockage du calcium à l'intérieur de la cellule.

Dans le deuxième groupe il y a un seul gène c'est Mtr.10044.1.S1_at. Donc selon leur fonction les premier gènes de ce groups ils partagent le même clade par ce que ces gènes s'interférant l'homéostasie de la cellule.

Le niveau 3 (la distance 6.5) : il y a 2 groupes

Dans le premier groupe il y a 5 gènes sont : Mtr.10158.1.S1_at, Mtr.1.1.S1_s_at, Mtr.10007.1.S1_at, Mtr.10001.1.S1_s_at et Mtr.10104.1.S1_at, ces gènes ont des rôles dans la régulation de l'expression génétique, la résistance à la sécheresse et catalysent une transformation chimique.

Dans le deuxième groupe il y a 15 gènes sont : Mtr.1.1.S1_at, Mtr.10120.1.S1_at, Mtr.10067.1.S1_s_at, Mtr.10090.1.S1_at, Mtr.10029.1.S1_at, Mtr.10000.1.S1_at, Mtr.10155.1.S1_at, Mtr.10132.1.S1_at, Mtr.10042.1.S1_at, Mtr.10030.1.S1_at,

Mtr.10022.1.S1_at et Mtr.10129.1.S1_s_at, ces gènes ont des rôles dans la régulation de l'expression génétique avec résistance à la sécheresse et la réponse de la croissance à travers les transporteurs d'efflux et les ions de zinc.

Selon leur fonction, ces groupes de gènes partagent le même résultat par ce que ces gènes

interviennent dans la régulation de l'expression génétique avec résistance à la sécheresse et la réponse de la croissance.

Le niveau 4 (la distance 4.5) : il y a 4 groupes

Dans le premier groupe il y a 4 gènes est Mtr.10158.1.S1_at, Mtr.1.1.S1_s_at, Mtr.10001.1.S1_s_at et Mtr.10007.1.S1_at, ces gènes régulier l'expression génétique et résister la sécheresse.

Dans le deuxième groupe il y a un seul gène Mtr.10104.1.S1_at, ce gène catalyse une transformation chimique.

Dans le troisième groupe il y a 5 gènes sont Mtr.10120.1.S1_at, Mtr.10067.1.S1_s_at, Mtr.10042.1.S1_at, Mtr.10030.1.S1_at et Mtr.10029.1.S1_s_at, c'est gènes ont des rôles dans la régulation du métabolisme des ARN et réparation de l'ADN et les réponses immunitaires pour résiste la sécheresse et croissance avec les transporteurs d'efflux.

Dans le troisième groupe il y a 7 gènes sont Mtr.1.1.S1_at, Mtr.10090.1.S1_at, Mtr.10129.1.S1_at, Mtr.10000.1.S1_at, Mtr.10155.1.S1_at, Mtr.10022.1.S1_at et Mtr.10132.1.S1_at, ces gènes ont des rôles dans la régulation de l'expression génétique et liaison aux ions zinc, le développement, la réponse et adaptation au stress abiotique.

Selon leur fonction de ces groupes partagent le même résultat par ce que ces gènes responsables de la régulation de l'expression génétique et la résistance de la sécheresse et la catalysation de transformation chimique et de le traitement de l'ARN et les réponses immunitaires et liaison aux ions zinc et la développement, la réponse et adaptation au stress abiotique.

Le niveau 5 (la distance 3) : il y a 2 groupes

Dans le premier groupe il y a 4 gènes est : Mtr.10120.1.S1_at, Mtr.10067.1.S1_s_at, Mtr.10042.1.S1_at et Mtr.10030.1.S1_at, c'est gènes ont des rôles dans les réponses immunitaires et la résistance à la sécheresse et la croissance.

Dans le deuxième groupe il y a un seul gène est Mtr.10029.1.S1_s_at, ce gène ont de rôle dans le transporteur d'efflux et exportation de cations internes et de matériaux lipophiles.

Selon leur fonction de ces groups ils partagent le même résultat parce que ces gènes sont responsables des réponses immunitaires et la résistance à la sécheresse et la croissance avec les transporteurs d'efflux.

Le niveau 6 (la distance 2.5) : il y a 2 groupes

Dans le premier groupe il y a 3 gènes est Mtr.1.1.S1_at, Mtr.10090.1.S1_at et Mtr.10132.1.S1_at, c'est gènes ont des rôles dans la régulation de l'expression génétique avec la tolérance aux ions métalliques et la croissance après avoir succombe au stress.

Dans le deuxième groupe, il y a 4 gènes est Mtr.10129.1.S1_at, Mtr.10000.1.S1_at, Mtr.10155.1.S1_at et Mtr.10022.1.S1_at, ce gène ont de rôle dans la réponse et adaptation au stress abiotique et traitement de l'ARN avec liaison aux ions zinc

Selon leur fonction les gènes de ces groupes partagent le même résultat par ce que ces gènes est régulier l'expression génétique et la croissance après avoir la réponse et adaptation au stress abiotique.

Conclusion et perspective

Conclusion et Perspective

Certaines études ont permis de décrire les comportements variés vis-à-vis des contraintes abiotiques qui règnent dans l'environnement de la luzerne tronquée.

Le stress abiotique affecte le développement et le bon fonctionnement des plantes. Par ailleurs, la plante doit disposer des mécanismes d'adaptation qui lui permettent de supporter la sécheresse, la haute température et la salinité. Les principaux mécanismes de la tolérance à ces contraintes demeurent la résultante de plusieurs actions : L'expression de différents gènes et autres...

L'objectif de ce travail consiste à analyser *in silico* des données de transcription et identification des gènes de tolérance aux stress hydrique provoquant des perturbations morphologiques, biochimiques et physiologiques des gènes de la *M. truncatula*

Dans le cadre de ce travail, nous avons examiné les gènes de *M. truncatula* grâce à diverses les base des données et les banques des données comme MTGEA et GENBANK.

Grâce au profil d'expression dans les conditions Root drought « 2 D, 3 D, 4 D, 7 D, 10 D, 14 D » et Shoot drought « 2 D, 3 D, 4 D, 7 D, 10 D, 14 D », on a tracé un arbre phylogénétique par le logiciel Rstudio constitué de 20 gènes qui sont regroupé dans plusieurs clades et défini également des différents rôles de ces gènes.

Par rapport la base de données en Access on a choisi des gènes pour faire les table relationnelle.

D'après les résultats des différents paramètres étudiés, nous pouvons conclure que les gènes de *M. truncatula* interfèrent dans la résistance de la plantes à la sécheresse à travers des différentes fonctions.

Comme perspective nous souhaitons pour les prochaines projets d'élargir notre travail par :

- ✓ L'identification de la fonction des gènes peut être déterminé à la combinaison de plusieurs approches expérimentales qu'elles soient analyse *in silico* ou bien analyses *in vivo* et *in vitro*.
- ✓ Études physiologique et de la génomique fonctionnelle et faire d'autre programmes pour obtenir les résultats différentes, afin d'avoir une idée plus claire sur son expression.
- ✓ Ces gènes subits à des autres stress leur permettent de suivre le chemin d'une *M. truncatula*.

Références bibliographique

AMROUCHE, I., et MESBAH. El-k., 2017.*Effet du stress abiotique sur l'accumulation protéines totale chez deux variétés de blé dur* ; les stress abiotiques et leur effet sur les plantes ; page 12 – 14 ; UNV frère Mentouri 1 Constantine.

BOSSENO, M., LAMBRET, A., BEUCHER, D., AUBRY, C., PACOUD, M., PAULY, N., MONTRICHARD, F., BOSCARI, A., 2017.*Protocole simple de rétrocroisement* ; le Cahier des Techniques de l'INRA 2017 (92) ; Biologie floral de *M. truncatula* ; page 3. Conditions climatiques des cultures ; page 2.

CHEBOUTI.A., 2018.*Evaluation des populations locales de M. laciniata, M. minima et M. truncatula et caractérisation phénotypique des souches de Rhizobiums associées* ; 3 variétés botanique de *M. truncatula* ; Aire de distribution ; page 8 et 9 ; ENSA EL HARRACH – ALGER.

Eric. L., MCU-HDR., 2009.UNIVERSITÉ D'ANGERS N° d'ordre : 973 Étude cellulaire et moléculaire de la germination chez *Medicago truncatula* Thèse de doctorat Spécialité : Biologie Cellulaire et Moléculaire Végétale. Physiologie Moléculaire des Semences, 16 Bd Lavoisier, 49045 Angers Cedex 01 ED VENAM

FELLOUS. S., 2011.*Mise au point de la technique d'électrophorèse bidimensionnelle appliquée à des espèces sauvages du genre Medicago*; origine géographique et aire de répartition ; page 3 ; UNV d'Oran Es-Sénia

Frédérique Peronnet., 2010. Chromatine et Mécanismes Epigénétiques

HERRBACH. V., 2013.*Stimulation du développement des racines latérales par des lipochitooligosaccharides (LCOs) symbiotique chez medicago truncatula*; Facteurs endogènes et Facteurs exogènes de la racine latéral ; page 69 - 74 ; UNV Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier).

HERRBACH. V., 2013.*Stimulation du développement des racines latérales par des lipochitooligosaccharides (LCOs) symbiotique chez medicago truncatula* ; structure de la nodosité ; page 26 - 28 ; UNV Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier).

HERRBACH. V., 2013.*Stimulation du développement des racines latérales par des lipochitooligosaccharides (LCOs) symbiotique chez medicago truncatula* ; Intérêt scientifique de *M.truncatula* ; page 20 ; UNV Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier).

HERRBACH. V., 2013.*Stimulation du développement des racines latérales par des lipochitooligosaccharides (LCOs) symbiotique chez medicago truncatula* ; la racine de *M. truncatula* ; page 78 ; UNV Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier).

Hayflick. L., 1965.*The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains*;Exp Cell Res ; 37 : 614-36.

James. D.Tisdall., *Introduction a perl pour la bioinformatique* ; Traduction de Laurent mouchard et guénola Edition O'REILLY 18 rue séguier 75006 paris France <http://www.oreilly.fr/chapitre1> : biologie et informatique page 3-4

KEHALI. S., et DANI. O., 2015.*Appréciation de la diversité génétique de 5 espèces di genre Medicago L. collectées le Nord Algérien par les marqueurs protéique (Globulines) ; généralité sur les fabacées ; page 3 et 4 ; UNV frère Mentouri 1 Constantine.*

Licence de Biotechnologie végétale., 2019/2020.*Cours de Biologie du développement végétal.*

MAHIOUT. Dj., 2017.*Contribution à la caractérisation de Ascochyta rabiei (Pass.) Labr., agent causal de l'antracnose du pois chiche (Cicer arietinum L.) et étude de son interaction avec Medicago truncatula Gaertn ; Intérêt agronomique ; page 38 – 39 ; UNV Abd El Hamid Ibn Badis de Mostaganem.*

Radkova. M., 2019.*Zinc finger CCHC-type protein related with seed size in model legume species Medicago truncatula*; Biotechnology & Biotechnological Equipment, 33:1, 278-285, DOI: 10.1080/13102818.2019.1568914 To link to this article: <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1568914>

MERAKCHI. Dj., et TECHANDERLI. B., 2015. *Le genre et l'espèce de M. truncatula ; page 19 et 20.*

Noguero. M., R. M. A., Sergio. O., Richard. D. T., 2013.*Le rôle de la famille de facteurs de transcription DOF (DNA-binding One Zinc Finger) chez les plantes. doi: 10.1016 / j.plantsci.2013.03.016.*<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23759101/> .

Naoyoshi. K., Hiroka. O., Masayuki. T., Atsushi. T., et Yuichiro. W., 2013. Arabidopsis AtRRP44A est l'homologue fonctionnel de Rrp44 / Dis3, un composant exosome, est essentiel pour la viabilité et est nécessaire pour le traitement et la dégradation de l'ARN <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079219>

Paul. S., 2017. Doctorat de l'université Toulouse Délivré par : Université Toulouse 3 *Caractérisation de la sénescence des cardiomyocytes et identification de marqueurs associés ED BSB* : Pharmacologie. Unité de recherche INSERM U1048 - I2MC - Equipe 6 et 7

Paul. S., 2008. DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE. Délivré par l'Université Toulouse III -. Discipline ou spécialité : *Analyse de la diversité génétique et symbiotique des*

populations naturelles tunisiennes de Medicago truncatula et recherche de QTL liés au stress salin Ecole doctorale : ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE-SANTE- BIOTECHNOLOGIES
Unité de recherche : Laboratoire Interactions Plantes Micro- organismes (LIPM) Directeur(s)
de Thèse : Chapitre 2 Page 107 – 108

Rajtilak. M., Shao1. L., RAKESH. M., Stephanie. L., and Subhash. C. Minocha1.,
2013. Ornithine: *The Overlooked Molecule in the Regulation of Polyamine Metabolism*. Department of Biological Sciences, University of New Hampshire, Durham, NH 03824, USA 2 USDA Forest Service, Northern Research Station, 271 Mast Rd, Durham, NH 03824, USA 3 this is Scientific Contribution Number 2449 from the New Hampshire Agricultural Experiment Station. Corresponding author: E-mail, sminocha@unh.edu; Fax: +1-603-862-3784

Srinivasan. A., E. V. Soniya., 2017. *The sRNAome mining revealed existence of unique signature small RNAs derived from 5.8SrRNA from Piper nigrum and other plant lineages.* Scientific Reports volume 7, Article number: 41052

SURESH. K., 2015. 11 (1): 11–16. Doi: 10.6026 / 97320630011011 PMID: PMC434993

WILLIAM. B., 2009. THESE DE DOCTORAT Pour obtenir le grade de docteur de l'université d'Angers Discipline : *Biologie Cellulaire et Moléculaire Végétale* ECOLE DOCTORALE D'ANGERS ; Rôle de la protéine MtSNF4b dans la post maturation de graines de *Medicago truncatula*.

Les liens :

- **GENBANK:** <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>
- **PRIMER 3 plus :** <https://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>
- **GENSCAN :** <https://genes.mit.edu/GENSCAN.html>
- **IPC :** <https://isoelectric.org/>
- **GOR IV:** <https://npsa-prabi.ibcp.fr>
- **MTGEA :** <https://mtgea.noble.org/v3/experiments.php>

Présenté par : LATALA Nesrine

MAMOUR Oudjedane

Analyse *in silico* des données de transcription et identification des gènes de tolérance aux stress abiotique chez la luzerne (*Medicago truncatula* L.)

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Bioinformatique

Résumé :

L'objectif de ce travail est d'analyser *in silico* les données de transcription et l'identification des gènes de tolérance aux stress hydrique de la *Medicago truncatula*. On a sélectionné un sous-ensemble des expériences de la base de données choisi Mtgea dans lesquelles nous avons recherché ceux qui s'expriment en conditions de stress hydrique. On a travaillé sur 200 gènes dont 20 gènes candidats seulement sont choisis selon leurs pics de profil d'expression élevés (Root and Shoot drought). Ensuite, on les a triés du plus élevé au plus bas à la recherche de relations entre eux afin de faire un arbre phylogénétique avec un logiciel Rstudio. Les résultats obtenus montrent que les relations entre les gènes de l'arbre phylogénétique sont multiples et ils sont regroupés entre eux par des clades, ces gènes sont responsables de la résistance à la sécheresse. Par rapport à la base des données en Access, on a créé des tables relationnelles de ces gènes de *Medicago truncatula*.

Mots clés : *Medicago truncatula*, stress hydrique, profil d'expression, base de données, table relationnelle.

Soutenu le : 07/10/2020

Jury d'évaluation :

Président : Dr. MADJROUBI M.

M.A.A. UFM Constantine 1

Encadrants : Dr. KELLOU K.

M.A.A. UFM Constantine 1

Dr. TEMAGHOULT M.

M.A.A. UFM Constantine 1

Examineur : Dr. CHEHILI H.

M.C.A. UFM Constantine 1

Année universitaire : 2019/2020