



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

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**Département: Biologie Appliquée**

**قسم البيولوجيا التطبيقية**

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

**Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière: Science biologique**

**Spécialité: Bioinformatique Moléculaire**

Intitulé:

---

**Analyse in silico des données de transcription et identification des gènes de  
tolérance aux stress abiotiques (Medicago truncatula)**

---

**Présenté et soutenu par: BENTAMEN Imen**

**ZERMANE Narimane**

**Le :07/10/2020**

**Jury d'évaluation:**

<b>Président du jury:</b>	Dr .H. CHEHILI	(MAA- UFM Constantine).
<b>Rapporteurs:</b>	Dr. M. TAMAGOULT	(MAA- UFM Constantine).
	Dr. K. KELLOU	(MAA- UFM Constantine).
<b>Examineur:</b>	Dr. M.L. MADJROUBI	(MAA- UFM Constantine).

**Année universitaire  
2019 - 2020**

# Remerciements

Nous tenons à remercier en premier lieu Dieu le tout puissant de nous avoir donnés l'aptitude et la volonté afin de mener à terme ce travail.

Nous adressons nos remerciements à mes messieurs **Dr. M. TAMAGOULT & Dr. K. KELLOU** qui nous ont encadrés et orientés, nous la remercions pour tous ses conseils et ses aides précieuses durant la réalisation de ce modeste travail.

Son oublier les membres de jury: **Dr .H. CHEHILI et Dr. M.L. MADJROUBI** d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



# Sommaire

<b>Remerciement</b>	-
<b>Liste des abréviations</b>	-
<b>Les des figures</b>	-
<b>Liste des tableaux</b>	-
<b>Introduction</b>	1 – 2
<b>Chapitre I : Revues bibliographiques</b>	
<b>I_ La propriété du la plante modèle <i>Medicago truncatula</i>.</b>	<b>3</b>
<b>I.1. Généralités</b>	<b>3</b>
<b>I.2. Systématique</b>	<b>4</b>
<b>I.3. Distribution géographique du genre <i>Medicago</i></b>	<b>5</b>
<b>I.4. Intérêts scientifiques et utilisations potentielles</b>	<b>6</b>
<b>I.5 Médicago tranctula</b>	<b>7</b>
<b>I.5.1 Défénition</b>	<b>7</b>
<b>I.5.2 Embryogenèse</b>	<b>8</b>
<b>I.5.3 L'expression du gène</b>	<b>9</b>
<b>I.5.4 Mutagenèse insertionnelle</b>	<b>11</b>
<b>II.1 La mort d'une cellule</b>	<b>12</b>
<b>III Causes de la sénescence</b>	<b>14</b>
<b>III.1 La physiologie</b>	<b>15</b>
<b>III.2 Effet de la sénescence sur L'expression des gènes</b>	<b>15</b>
<b>IV Le stress salin</b>	<b>16</b>
<b>IV.1 Généralités</b>	<b>16</b>
<b>IV 1.1 La notion du stress</b>	<b>16</b>
<b>IV 1.2 Présentation du stress salin</b>	<b>17</b>
<b>IV 1.3 Effets du stress salin sur la plante</b>	<b>17</b>
<b>IV 1.3.1 Effets sur la croissance</b>	<b>17</b>
<b>IV 1.3.2 Sur la photosynthèse</b>	<b>18</b>
<b>IV 1.3.3 Sur la Germination</b>	<b>18</b>
<b>IV 1.3.4 Sur l'anatomie des feuilles</b>	<b>19</b>
<b>IV 1.3.5 Sur l'assimilation des éléments minéraux</b>	<b>19</b>
<b>IV 1.4 Réponses des plantes au stress salin</b>	<b>20</b>
<b>V Outils de recherche développés pour la plante modèle <i>M.truncatula</i></b>	<b>21</b>
<b>V.1 Le <i>Medicago truncatula</i> Gene Expression Atlas (MtGEA)</b>	<b>21</b>

---

---

<b>Chapitre II : Matériel et méthode</b>	
<b>I. Les définitions</b>	<b>22</b>
<b>I.1 puce d'ADN</b>	<b>22</b>
<b>I.2 Les différents types de puces et leur fabrication</b>	<b>22</b>
<b>II Application à l'analyse transcriptionnelle sur une puce spotée</b>	<b>23</b>
<b>II.1 Principe général</b>	<b>23</b>
<b>III Spot</b>	<b>25</b>
<b>III .1 Identification des spots</b>	<b>25</b>
<b>III .2 Type de sondes</b>	<b>26</b>
<b>IV méthodes de travail</b>	<b>26</b>
<b>Chapitre III : Résultats et discussions</b>	
<b>I. resultets et disscution</b>	<b>46</b>
<b>Conclusion</b>	<b>58</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>60</b>
<b>Résumé</b>	<b>-</b>

---

---

## Liste des abréviations

<b>ADN</b>	L'acide désoxyribonucléique
<b>ARN</b>	L'acide ribonucléique
<b>ARNm</b>	L'acide ribonucléique messenger
<b>ADNc</b>	L'acide désoxyribonucléique complémentaire
<b>Mt</b>	Medicago truncatula
<b>mM</b>	milli molaire
<b>MtGEA</b>	Medicago truncatula Gene Expression Atlas (MtGEA)
<b>NaCl</b>	chlorure de sodium
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction.

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Relation phylogénétiques entre espèces de légumineuses (Choi et al,2004).....	4
<b>Figure 02:</b> Position systématique : (Small et Jomphe , 1989).....	5
<b>Figure 03:</b> Distribution géographique du genre <i>Medicago</i> dans le monde.....	6
<b>Figure 04:</b> 4 <i>Medicago truncatula</i> .....	8
<b>Figure 05:</b> La mort d'une cellule.....	13
<b>Figure 06:</b> les différents types de mort cellulaire .....	14
<b>Figure7:</b> Illustration montrant différents types de puces.....	23
<b>Figure 8:</b> principe général de l'analyse de l'expression transcriptionnelle sur une puce de type « spottée ».....	24
<b>Figure 9:</b> interface de MtGEA.....	26

## Liste des tableaux:

<b>Tableau1:</b> les fonctions des gènes (Probset).....	46
<b>Tableau2:</b> représenter 1 <sup>er</sup> groupe du 1 <sup>er</sup> clade de la distance 12.....	48
<b>Tableau3:</b> représenter 2 <sup>eme</sup> groupe du clade de la distance 12.....	48
<b>Tableau4:</b> représenter 1 <sup>er</sup> groupe du clade de la distance 8.....	50
<b>Tableau 5:</b> représenter 2 <sup>eme</sup> groupe du clade de la distance 8.....	51
<b>Tableau 6:</b> représenter 1 <sup>er</sup> groupe du clade de la distance 5.....	52
<b>Tableau 7:</b> représenter 2 <sup>eme</sup> groupe du clade de la distance 5.....	53
<b>Tableau 8:</b> représenter 1 <sup>er</sup> groupe du clade de la distance 3.....	53
<b>Tableau 9:</b> représenter 2 <sup>eme</sup> groupe du clade de la distance 3.....	54

The image features a graphic of three overlapping sheets of marbled paper. The top sheet is slightly offset to the left and top, revealing the sheet underneath. The marbling pattern consists of intricate, swirling veins of grey, black, and white on a light background. The word "Introduction" is printed in a bold, black, serif font, centered on the top sheet. The bottom edge of the paper graphic is wavy, suggesting a page being turned or a decorative flourish.

# Introduction



## Introduction

La sénescence est le processus de vieillissement biologique se traduisant par un arrêt irréversible du cycle cellulaire aboutissant à la mort. Au bout d'un certain nombre de divisions, les cellules finissent par ne plus se reproduire et meurent. Ce processus a longtemps été considéré comme une « anomalie » à l'origine du vieillissement de l'organisme et des pathologies liées à l'âge, mais de nombreuses études ont montré que la sénescence joue aussi un rôle utile dans l'embryogenèse, la cicatrisation ou comme mécanisme suppresseur de tumeur.

Les puces à ADN permettent 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 (stade du développement, pathologie ou réaction à une drogue par exemple). Il est alors possible de comparer les profils de plusieurs échantillons entre eux.

▲ L'analyse du transcriptome consiste à mesurer l'abondance relative des ARNm d'un objet biologique.

▲ L'analyse massivement parallèle des niveaux d'expression de plusieurs milliers des gènes.

▲ Trois techniques sont utilisées actuellement pour l'analyse des transcriptomes : les puces à ADN, les micro-arrays d'ADNc et la technique SAGE.

Analyse in silico des données biologique c'est traitement automatisé d'information biologiques permet de analyser modéliser ou prédire les informations issus de données biologique expérimentales et développer les outils nécessaire.

On parle de biologie in silico (dans la silice, principale composant des puces électroniques des ordinateurs) par analogie avec la biologie in vivo (« dans le vivant ») dont les études sont menées dans les organismes vivants et in vitro (« dans le verre ») en dehors de l'organisme ou de la cellule.

### Objectif du travail

Le présent travail vise à explorer et identifier des gènes de tolérance aux stress salin de la plante modèle *Medicago truncatula* en utilisant leur profil d'expression à des moments donnés dans des plusieurs conditions ( NaCl 200mM <0h,1h,2h,5h,10h> Root drought <2d,3d,4d,7d,10d,14d>) basé sur l'analyse in silico des données transcriptionnelles . ces données ont produit un arbre phylogénétique.

On utilisant :

- **Le *Medicago truncatula* Gene Expression Atlas (MtGEA) .**
- **Logiciel R studio .**



**Chapitre I:**  
**Revue bibliographique**

## I. Les propriétés de la plante modèle *Medicago truncatula*

### I. 1. Généralités

Propriétés du modèle *Medicago truncatula* Historiquement, le choix de *M. truncatula* résulte d'un programme Inra (1985-1986) dont l'objectif était de définir une espèce modèle à l'intérieur du genre *Medicago*, afin de l'associer à *Sinorhizobium meliloti*, le micro symbiote bien étudié de la luzerne, et constituer ainsi un système symbiotique modèle plante-bactérie. *M. truncatula* est une légumineuse annuelle originaire du pourtour méditerranéen et proche de la luzerne cultivée *M. sativa*. Elle est diploïde ( $n = 8$ ) et autogame, produit des graines en abondance avec un temps de génération de 10 à 12 semaines (de graine à graine). La taille de son génome est d'environ 500 Mb/1C, c'est-à-dire trois à quatre fois supérieure à celle d'*A. thaliana* et équivalente à celle du riz. La biodiversité de l'espèce *M. truncatula* est caractérisée par une forte variabilité morphologique et génétique intra- et inter populations et par une importante homozygotie au niveau individuel. *M. truncatula* est ondulée par *S. meliloti*, espèce la mieux caractérisée parmi les rhizobia et dont le génome a été récemment séquencé (<http://sequence.toulouse.inra.fr/meliloti.html>).

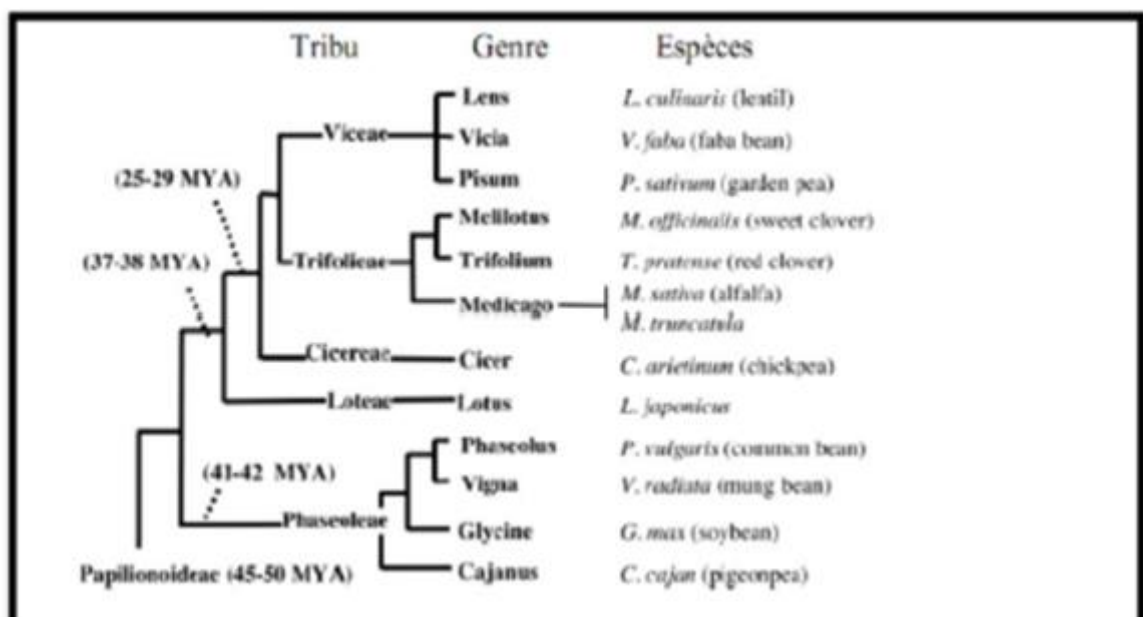
En particulier, le nombre très élevé de mutants symbiotiques disponibles chez *S. meliloti* représente un excellent atout pour disséquer les mécanismes de la symbiose fixatrice d'azote. Les deux principaux génotypes de *M. truncatula* actuellement utilisés en laboratoire, l'un (A17) issu du cultivar Jemalong et l'autre (R-108-1) issu de l'écotype 108-1, ont été initialement sélectionnés pour leurs capacités symbiotiques et de régénération *in vitro*. Leur manipulation au laboratoire est maintenant bien maîtrisée : cycle vital et amplification des lignées, croisements, cultures dans différentes conditions, établissement des symbioses racinaires, etc. Leur transformation par *Agrobacterium tumefaciens* et leur régénération *in vitro* ont été progressivement optimisées. Une méthode rapide et efficace de transformation par *A. rhizogenes* a été récemment établie, permettant d'étudier et d'utiliser divers transgènes dans les racines transgéniques ainsi obtenues, en particulier dans le contexte des deux symbioses.

*M. truncatula* a déjà fait l'objet de nombreux travaux de biologie moléculaire, qui ont permis d'identifier et d'étudier plusieurs dizaines de gènes impliqués dans l'interaction symbiotique avec *Sinorhizobium* (gènes de nodulaires) ou dans la symbiose endomycorhizienne. Nous présentons ci-dessous les faits principaux concernant le

développement des approches et des outils et les avancées des connaissances dans le domaine de la génétique et de la génomique de *M. truncatula*.

## I.2. Systématique

Le genre *Medicago* appartient à l'ordre des Fabales, superfamille des Légumineuses, famille des Fabaceae et sous-famille des Faboideae. Le genre *Medicago* est placé dans la tribu des Trifolieae qui comprend la majorité des Légumineuses fourragères tempérées comme la luzerne cultivée et le trèfle, et qui est phylogénétiquement proche de la tribu des Vicia incluant les Légumineuses à graines comme (Figure 02).



**Figure 01:** Relation phylogénétiques entre espèces de légumineuses (Choi et al,2004)

Le genre *Medicago* est particulièrement proche des genres *Melilotus* et *Trigonella* et a été classé en quatre sous-genres sur la base de la morphologie des gousses.

Ces sous-genres comprennent au total 55 espèces dont 21 sont pérennes, 33 sont annuelles et une est de pérennité non définie. Le sous-genre *Spirocarpos*.

<u>Règne :</u>	
<u>Embranchement :</u>	Spermatophytes
<u>Sous- embranchement :</u>	Angiospermes
<u>Classe :</u>	Dicotylédones
<u>Ordre :</u>	Fabales
<u>Famille :</u>	Fabaceae
<u>Sous-famille :</u>	<i>Faboideae</i>
<u>Tribus :</u>	<i>Trifolieae</i>
<u>Genre :</u>	(L.)

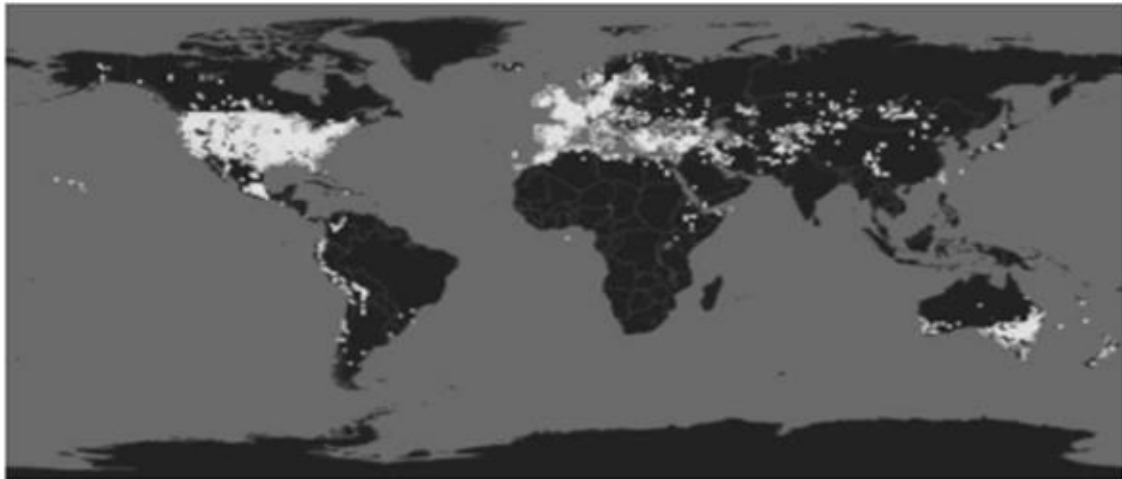
**Figure 02 :** Position systématique : (Small et Jomphe , 1989)

### I.3. Distribution géographique du genre *Medicago*

L'origine des espèces du genre *Medicago* ne fait pas l'unanimité selon les auteurs. En effet, pour (Lapeyronie 1982), elles sont distribuées dans le bassin méditerranéen (lesud de l'Europe, l'Afrique du Nord, le proche Orient), certaines ont été introduites en Amérique du Nord, en Australie et en Europe du Nord. D'après Derek et Ernest, 1997, elles sont originaires d'Europe, d'Asie et d'Afrique et se sont répandues dans d'autres continents sous forme de mauvaises herbes (Halmi, 2010).

XIX siècle, les luzernes (les espèces du genre *Medicago*) ont conquis l'ensemble de la zone méditerranéenne, ensuite elles ont envahi d'autres parties du monde, en Particulier les continents américain et australien à l'occasion des différents courants de la colonisation humaine (Halmi, 2010).

Les luzernes s'accommodent des sécheresses périodiques, elles sont adaptées à tous les types de sols qui ne sont pas trop humides (Halmi, 2010).



**Figure 03:** Distribution géographique du genre *Medicago* dans le monde

Source : Prolea, 2002.

#### **I.4. Intérêts scientifiques et utilisations potentielles**

Un intérêt scientifique de *Medicago truncatula* présente des caractéristiques permettant et facilitant les analyses génétique et moléculaire (autogamie, faible niveau de ploïdie, génome de petite taille, aptitude à la culture en laboratoire, à l'embryogénèse somatique et à la transgénèse). Par ailleurs, le temps de génération de graine à graine est relativement court (10 à 12) semaines en conditions contrôlées) et la production importante, ce qui assure une disponibilité rapide du matériel (Brunel ; 2010).

L'espèce de légumineuse *Medicago truncatula* est aujourd'hui une plante modèle utilisée dans le monde entier.

Notamment pour les études de génétique moléculaire des symbioses racinaires endomycorhiziennes et fixatrices d'azote, associations qui ne se produisent pas avec *Arabidopsis*.

Projets à grande échelle pour la génomique de *M. truncatula* ont été lancés au sein de la communauté internationale et des outils essentiels sont actuellement développés pour la génomique structurale (cartographie du génome, bibliothèques de BAC, séquençage du génome) et génomique fonctionnelle (EST, microarrays, collections de mutants), ainsi que le développement de ressources bioinformatiques.

Des études génomiques comparatives suggèrent un niveau de syntonie relativement élevé entre les génomes des légumineuses. On peut donc prévoir que *M. truncatula* sera utilisé

comme nodal espèces de légumineuses pour aider à l'identification de gènes importants sur le plan agronomique dans les légumineuses de cultures, par exp : gènes pour les symbioses racinaires, la résistance aux maladies / ravageurs, l'architecture végétale, la qualité des semences et la production de métabolites secondaires spécifiques

## I.5. *Médicago truncatula*

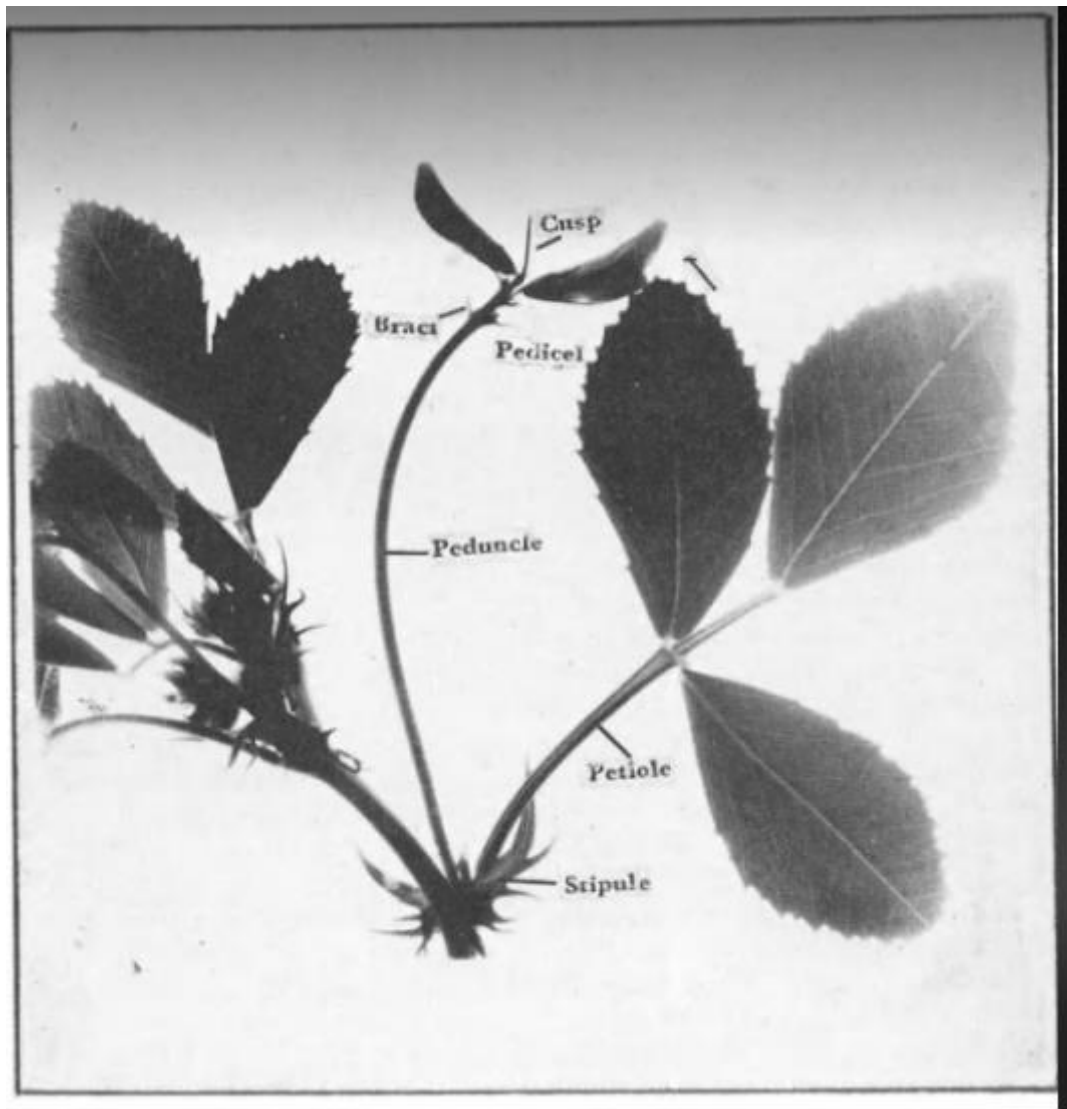
### I.5.1. Définition

1/*M. truncatula* est une légumineuse annuelle originaire du pourtour méditerranéen et proche de la luzerne cultivée *M. sativa*. Elle est diploïde ( $n = 8$ ) et autogame, produit des graines en abondance avec un temps de génération de 10 à 12 semaines (de graine à graine). La taille de son génome est d'environ 500 Mb/1C, c'est-à-dire trois à quatre fois supérieure à celle d'*A. thaliana* et équivalente à celle du riz. La biodiversité de l'espèce *M. truncatula* est caractérisée par une forte variabilité morphologique et génétique intra- et interpopulations et par une importante homozygotie au niveau individuel. *M. truncatula* est nodulée par *S. meliloti*, espèce la mieux caractérisée parmi les rhizobia et dont le génome a été récemment séquencé (<http://sequence.toulouse.inra.fr/meliloti.html>). En particulier, le nombre très élevé de mutants symbiotiques disponibles chez *S. meliloti* représente un excellent atout pour disséquer les mécanismes de la symbiose d'azote.

2/*Medicago truncatula* C'est une espèce diploïde ( $2n=16$ ) et autogame de taille intermédiaire (60 cm au maximum), poilue, a part variable, souvent prostrée sur des sols lourds ou argileux. l'inflorescence porte de 1 à 5 fleurs de 5 à 8 mm de longueur, présente des gousses de 3 à 12 graines cylindriques en forme de tronc, glabre, très dures, a spires jointives et serrées, aux épines recourbées, souvent perpendiculaires au plan de spires. Le poids de 1000 graines varie de 3,3 à 6 g. Les fleurs contiennent 10 ovules chacune s'ouvrent seulement après l'auto pollen pour fertiliser les ovules (Lesins and Lesins, 1979).

Cette espèce est localisée principalement dans les régions chaudes et de basse altitude méditerranéennes, elle est considérée comme une espèce assez sensible au froid et aux parasites foliaires. Elle est considérée comme une plante modèle (à un moindre degré que *M. sativa*) essentiellement lors des études sur la symbiose plante-rhizobium (Prosperi, 1995).





**Figure 4:** *Medicago truncatula*

### **I.5.2. Embryogenèse**

L'embryogenèse est un processus très bien étudié chez les plantes et de nombreux gènes sont nécessaires à l'acquisition de la polarité et de la morphogénèse. Par exemple Chez *M. truncatula*, la formation de l'embryon commence après la double fécondation et l'embryon passe par les différents stades de développement appelés globulaire (environ 6 dap), cœur (environ 8–10 dap), torpille (environ 10–11 dap), et atteint le stade du cotylédon courbé vers 12 DAP marquant la fin de l'embryogenèse (Verdier et al., 2013a; Noguero et al., 2015). Certains des gènes essentiels nécessaires au développement de l'embryon de *M. truncatula* ont fait l'objet d'un profil transcriptionnel (Kurdyukov et al., 2014). Deux d'entre eux exprimés dans des embryons zygotiques ont été caractérisés fonctionnellement montrant leurs rôles

essentiels au cours de l'embryogenèse somatique. Le premier des facteurs de transcription de la sous-famille ERF, SOMATIC EMBRYO RELATED FACTOR1 (MtSERF1), a été induit par l'éthylène, en combinaison avec d'autres phytohormones, pour contrôler l'initiation de l'embryogenèse somatique. En effet, les lignées knock-down (KD) *serf1*, obtenues à l'aide de l'ARNi, ont abouti à une forte suppression de l'embryogenèse somatique (Mantiri et al., 2008). Certaines preuves soutiennent que MtSERF pourrait être régulé par le gène WUSCHEL (MtWUS). En effet, les lignées d'ARNi *wus* présentaient un phénotype similaire à *serf1*, sans formation de cals et d'embryons somatiques, et des sites de liaison WUS ont été identifiés dans le promoteur SERF1 (Chen et al., 2009).

Outre la régulation de la morphogenèse, l'embryogenèse est également marquée par des divisions cellulaires actives au sein de l'embryon, ce qui est crucial pour la détermination finale de la taille des graines matures. En effet, une corrélation positive a été observée entre le nombre de cellules de cotylédons et la taille finale des graines de pois et de soja (Munier-Jolain et Ney, 1998). Deux gènes exprimés dans l'endosperme de *M. truncatula* ont été décrits comme des régulateurs de la division cellulaire embryonnaire, ce qui a un impact sur la taille des graines. La mutation de perte de fonction dans le gène SBT1.1, une subtilase, a été obtenue à partir d'une population EMS par criblage TILLING et son phénotype a montré un nombre de cellules réduit et une diminution de la taille des graines par rapport aux plantes de type sauvage. Cela suggère que SBT1.1 peut réguler le nombre de cellules du cotylédon pendant le développement de la graine, probablement en fournissant des molécules qui agissent comme des signaux pour contrôler la division cellulaire au sein de l'embryon (D'Erfurth et al., 2012). De plus, il a été démontré qu'un facteur de transcription DOF, DASH (DOF Acting in Seedembryogenesis and Hormone accumulation), régule le taux de division cellulaire de l'embryon par son impact sur l'homéostasie de l'auxine menant à la détermination finale de la taille des graines (Noguero et al., 2015). Trois allèles ont été identifiés pour MtDASH, un allèle faible (c.-à-d. Insertion de Tnt1 dans la région du promoteur) montrant un phénotype modéré sur la taille de la graine et deux allèles forts (c.-à-d. Insertion Tnt1 juste avant le codon de départ et une substitution EMS induisant un codon d'arrêt prématuré) présentant des phénotypes létaux d'embryon et un défaut d'homéostasie auxine.

### **I.5.3. L'expression du gène**

Une protéine kinase dépendante du Ca<sup>2+</sup> + / calmoduline, nommée DMI3, agit en aval du pic symbiotique de Ca<sup>2+</sup> +. Le DMI3 a une capacité exceptionnelle à se lier au Ca<sup>2+</sup> + libre à la

fois en utilisant directement les domaines EF-hand et indirectement via un domaine de liaison à la calmoduline (CaM). Il a été émise l'hypothèse que DMI3 décode le signal de pointe de calcium qui conduit au développement des nodules. En effet, le mutant *dmi3* a des réponses de pointe de Ca<sup>2+</sup> normales mais ne forme aucun nodule. Plusieurs facteurs de transcription agissant en aval du DMI3 ont été identifiés (Oldroyd, 2013). Parmi eux, INTERACTING PROTEIN OF DMI3 (IPD3) représente une classe unique de famille de facteurs de transcription. DMI3 phosphoryle l'IPD3, conduisant à l'activation de ce dernier, et finalement à l'activation de ses cibles en aval comme NODULE INCEPTION (NIN) et un facteur de transcription de liaison à la boîte CCAAT (HAP2-1; Oldroyd, 2013; Singh et al., 2014). Plusieurs autres facteurs de transcription ont été impliqués dans le développement des nodules. Les plantes présentant des mutations dans ces gènes développent de petits nodules en forme de bosse sans colonisation bactérienne ou sans nodules. Les gènes NODULATION SIGNALING PATHWAY (NSP1 et NSP2) sont des facteurs / régulateurs de transcription GRAS spécifiques à la plante. Les mutants *nsp1* et *nsp2* présentent une déformation des poils racinaires mais l'induction des cellules corticales en réponse à la NF est bloquée (Oldroyd et Long, 2003; Kaló et al., 2005; Smit et al., 2005). Trois autres TF ont été impliqués dans ce processus de signalisation. Parmi eux, ERF REQUIRED FOR NODULATION (ERN1) contient un domaine de liaison AP2-ADN hautement conservé. *ern1* initie le développement des TI mais forme encore de petites bosses (Middleton et al., 2007). *Medicago* ERN1 a un homologue proche, ERN2. ERN1 / ERN2 agissent de concert dans l'épiderme racinaire et le double mutant *ern1 / ern2* présente un phénotype sévère où l'initiation de l'infection est complètement abolie (Cerri et al., 2016). MtNF-YA1 / HAP2-1 est un TF de liaison à la boîte *Medicago* CCAAT. Le *nf-ya1* a été isolé à partir d'une population mutante EMS. Ce gène est nécessaire pour initier la formation de l'IT et pour maintenir l'activité méristémique persistante dans les nodules matures (Laporte et al., 2014). Probablement, le facteur de transcription le plus vital qui contrôle l'infection épidermique, la division des cellules corticales et le nombre de nodules est NIN. *nin* mutants subissent un curling excessif des racines des cheveux en réponse à l'inoculation par *Sinorhizobium*, mais sont altérés dans l'infection et ne présentent aucune division cellulaire corticale (Marsh et al., 2007; Soyano et al., 2014; Yoro et al., 2014). Le gène de la croissance polaire dirigée par le rhizobium (RPG) de *M. truncatula* mérite également d'être mentionné. Les nodules fixateurs d'azote sont rarement formés chez les mutants *rpg*. Les TI sont anormalement épais et progressent lentement; de plus, le curling des cheveux des racines est anormal. Ce gène code pour une protéine putative longue bobine enroulée encore non caractérisée. Cette protéine a un signal

de localisation nucléaire (NLS) et s'est en fait localisée au noyau dans les cellules de *Nicotiana* (Arrighi et al., 2008). Le rôle réel de ce gène n'est pas clair à ce jour.

#### I.5.4. Mutagenèse insertionnelle

La mutagenèse insertionnelle est l'une des approches les plus puissantes pour obtenir des mutants nuls (c'est-à-dire KO) comme le démontre le succès des populations d'ADN-T d'*Arabidopsis*. Chez *M. truncatula*, le rétro-transposon de tabac bien étudié *Tnt1* a été introduit dans le génome R108, un autre génotype de *M. truncatula*. Une étude de sa transposition a indiqué que *Tnt1* se transpose activement pendant la culture tissulaire (4 à 50 transpositions par génome) et que les insertions sont stables (D'Erfurth et al., 2003). En outre, il a été prouvé que les inserts *Tnt1* ciblent préférentiellement les exons, ce qui en fait un outil parfait pour éliminer préférentiellement les gènes (D'Erfurth et al., 2003). En raison de ces caractéristiques, la mutagenèse par saturation de la population *Tnt1* nécessite une population relativement petite. À ce jour, la population de *M. truncatula* comprend ~ 22 000 lignées mutantes et est proche de la saturation avec des insertions dans environ 90% de tous les gènes (Cheng et al., 2014). La population mutante *Tnt1* a été utilisée dans des criblages génétiques directs en utilisant la PCR inverse ou la PCR entrelacée asymétrique thermique (TAIL-PCR) pour récupérer les séquences flanquantes de l'insertion (Benlloch et al., 2006; Cheng et al., 2014). L'utilisation de cette population dans les criblages génétiques directs a été récemment facilitée par le développement d'un algorithme, ITIS, qui récupère les sites d'insertion *Tnt1* à partir de génomes de lignée mutante en utilisant des données de séquençage génomique à faible couverture (Jiang et al., 2015). Pendant ce temps, le criblage génétique inverse a été développé, y compris le criblage de pool d'ADN basé sur la PCR pour les gènes candidats, et plus récemment en utilisant une base de données BLAST contenant des étiquettes de séquence flanquantes (FST; c'est-à-dire les régions flanquantes des insertions *Tnt1*) (Cheng et al., 2014). Toutes les informations concernant la population *Tnt1* telles que la demande de lignées mutées, la description des phénotypes de lignées mutantes et une base de données BLAST-able des FST sont disponibles sur <http://medicago-mutant.noble.org/>.

Outre les populations mutantes décrites précédemment, d'autres outils ont montré leur efficacité pour caractériser fonctionnellement plusieurs gènes tels que les approches d'interférence ARN (ARNi) ou l'utilisation de MERE1 (Medicago RetroElement1), un rétro-élément à faible copie naturellement présent chez *M. truncatula* qui ont montré des événements de transposition préférentiellement dans les régions géniques survenant lors de la

culture tissulaire (Rakocevic et al., 2009). D'autres stratégies ont vu le jour pour la caractérisation fonctionnelle des gènes et sont en cours de construction, comme la population d'étiquettes d'activation, qui consiste en l'introduction d'un ADN-T avec le promoteur du virus de la mosaïque du chou-fleur (CaMV) 35S dans le génome avec le potentiel de générer un gain phénotypique -of-fonction.

## II.1. La mort d'une cellule

est un processus biologique normal dans un organisme vivant. En participant à des processus physiologiques aussi divers que le développement de l'embryon, la formation du cerveau le contrôle du nombre des cellules dans l'organisme ou l'établissement d'une immunité efficace, elle est indispensable à la survie, notamment, de l'espèce humaine. Néanmoins, un excès de mort cellulaire participe au développement de pathologies telles que le sida et les maladies neuro-dégénératives. À l'opposé, l'incapacité des cellules à mourir explique l'émergence de cancers et la résistance de certaines tumeurs aux traitements thérapeutiques.

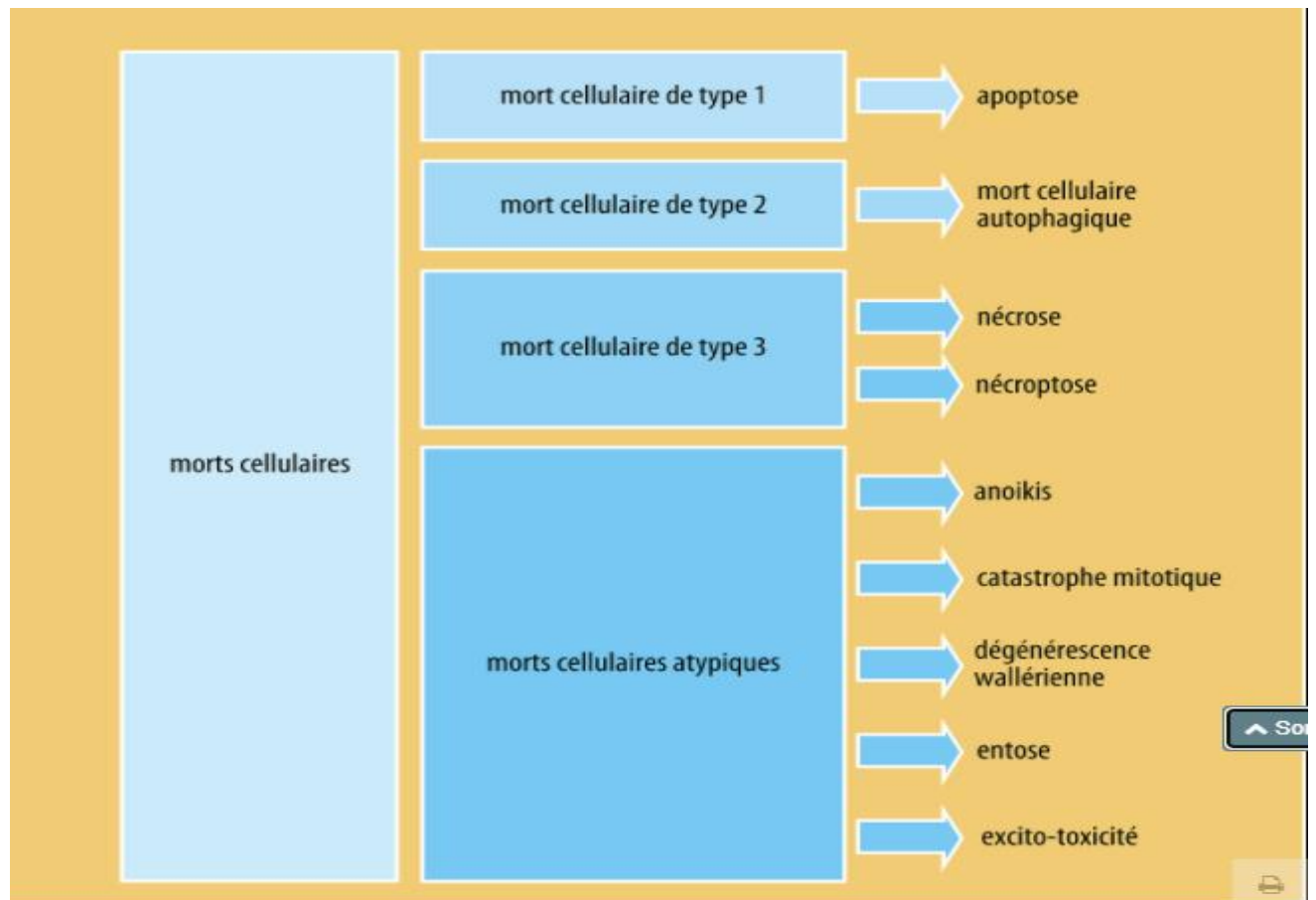
Les avancées scientifiques et technologiques réalisées durant ces dernières années ont permis de révéler l'existence de plusieurs processus de mort cellulaire, appelés « apoptose », « mort cellulaire autophagique » et « nécrose ». Ces différents processus létaux peuvent être caractérisés selon des critères morphologiques (qui peuvent être « apoptotiques », « nécrotiques » ou « autophagiques »), des critères enzymatiques (impliquant des nucléases, des lipases ainsi que des protéases telles que les caspases et les calpaïnes), en fonction de la survenue et du déroulement du processus létaux (programmé ou accidentel) et selon le contexte cellulaire (physiologique ou pathologique).

La mort cellulaire peut ainsi être divisée en trois types :

- l'apoptose (ou mort cellulaire de type 1).
- l'autophagie (ou mort cellulaire de type 2).
- la nécrose (ou mort cellulaire de type 3).

L'existence de processus létaux ne présentant pas, ou très partiellement, les caractéristiques morphologiques et biochimiques de l'apoptose, de l'autophagie et de la nécrose définit un groupe de morts cellulaires dites « atypiques » (fig. 1) dont l'étude ne fait

que débiter mais qui semblent également impliqués dans plusieurs processus physiopathologiques.



**Figure 5:** La mort d'une cellule

## Les différents types de mort cellulaire

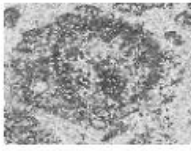

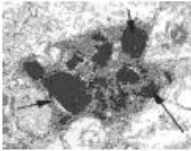
Type de mort	Changements morphologiques				Caractéristiques
	membrane	cytoplasme	noyau		
Nécrose	Gonflement de la cellule et des organelles, Rupture	Vacuolisation Dégénérescence des organelles Gonflement des mitochondries	Dégradation aléatoire de l'ADN		Induit une inflammation
Apoptose	Vésicules (Blebbing)	Formation de corps apoptotiques contenant des fragments de cyto et de noyau	Condensation de la chromatine Fragmentation nucléaire Echelle d'ADN		Mécanisme actif, « programmé » Dépendant des caspases Aucune inflammation
Autophagie	Vésicules (Blebbing)	Vésicules autophagiques	Condensation partielle de la chromatine Pas d'échelle d'ADN		Indépendant des caspases Activité lysosomale accrue
Sénescence	-	Granulation Aplatissement	Structure hétérochromatique	Arrêt de réplication	Activité β-Gal associée à la sénescence

Figure 6: les différents types de mort cellulaire

### III .Causes de la sénescence

La sénescence se produit soit à cause du processus naturel de renouvellement des feuilles, comme cela est le cas en période automnale où les plantes perdent leurs feuilles par exemple, soit, pour les autres cas, à cause d'un stress.

\* Le premier mécanisme à l'œuvre dans la sénescence cellulaire est le raccourcissement des télomères (les extrémités chromosomiques) lié aux mitoses successives des cellules. Lorsqu'une certaine limite est atteinte, les télomères devenus dysfonctionnels enclenchent la sénescence des cellules.

\* Une deuxième cause est la dégradation de l'ADN causé par un stress oxydatif. Le rayonnement ultraviolet ou les radiations ionisantes vont par exemple endommager l'ADN. Ce processus se produit aussi de façon « naturelle », le métabolisme basal produisant lui-même des composés génotoxiques.

\*Une troisième cause de la sénescence est l'hyperactivation d'oncogènes de versions mutantes des gènes normaux initialement prévue pour limiter la prolifération de cellules cancéreuses.

### III .1 La physiologie

Le terme de sénescence chez les plantes correspond aux différentes étapes qui précèdent la mort d'un organe. Ces étapes sont sous contrôle génétique et se traduisent par des modifications physiologiques, biochimiques et métaboliques dans les cellules de la plante. Les premières traces génétiques associées à la sénescence chez les végétaux sont retrouvées chez les algues unicellulaires, mais les premiers organismes à posséder l'ensemble des fonctions de sénescence retrouvées chez les plantes dites supérieures sont les Bryophytes (Thomas et al., 2009). Ces processus ont été fortement sélectionnés pendant l'évolution et apportent un avantage sélectif essentiel pour les plantes. En effet, la sénescence permet le recyclage des nutriments et diminue la dépendance aux ressources extérieures, ce qui confère un avantage évolutif et adaptatif important. Les plantes pérennes et annuelles adoptent des stratégies de sénescence différentes pour assurer leur survie (Roach, 1993) : chez les plantes annuelles, les processus de recyclage sont majoritairement dirigés vers les organes reproducteurs, les organes végétatifs étant renouvelés chaque année, alors que les plantes pérennes doivent constamment allouer une partie des ressources au maintien et au développement des parties végétatives qui leur serviront pour l'année suivante. Parmi les principaux ARCs associés à la sénescence, la dégradation des chloroplastes qui entraîne une décoloration progressive des feuilles par perte des chlorophylles est bien connue (Singh et Anantha Rao, 1937). De nombreux autres événements sont programmés comme la dégradation des Protéines par des protéases.

### III .2 Effet de la sénescence sur L'expression des gènes

lors de la sénescence des feuilles La sénescence des feuilles ne se produit pas par un mécanisme de décomposition passive anisme, mais est plutôt un processus activement réglementé qui implique l'expression coordonnée de gènes spécifiques. Pendant sénescence, les niveaux d'ARN total diminuent et le l'expression de nombreux gènes est désactivée (Bate et ah, 1991; Hensel et ah, 1993; Lohman et al., 1994). Il a postulé depuis un certain temps que le processus de sénescence peut dépendre de la transcription de novo des gènes nucléaires et des études moléculaires récentes ont montré que c'est

L'affaire. Les nouveaux relevés de notes ont été initialement détectés comme un changement de modèle de produits observé in vitro expériences de traduction utilisant l'ARNm de sénescence feuilles par rapport aux feuilles vertes (Malik, 1987; Thomas et al.,



1992). Récemment, en utilisant un écran différentiel techniques d'hybridation soustractive et soustractive, de nombreuses

Clones d'ADNc représentant des gènes améliorés par la sénescence ont été identifiés à partir d'une gamme de plantes différentes et les gènes qui sont exprimés spécifiquement pendant la sénescence est la meilleure preuve que la transcription de novo est requise pour que la sénescence se poursuive.

## **IV. Le stress salin**

### **IV.1. Généralités**

#### **IV.1.1. La notion du stress**

On désigne par stress, toute condition externe qui affecte la croissance, le développement ou la productivité d'une plante. On distingue les stress biotiques (causés par d'autres organismes) et les stress abiotiques (se présentant à chaque

fois qu'il y a un excès ou un déficit dans l'environnement physique ou chimique de la plante). Le stress aussi bien biotique qu'abiotique, peut réduire la productivité des plantes de 65% à plus de 87%.

Un stress est reconnu par une plante quand il est perçu au niveau cellulaire puis transmis à la plante entière

- **Stress biotiques**

Les stress biotiques sont des influences négatives causées par d'autres organismes vivants, et dans l'agriculture de production, ils se réfèrent généralement aux dommages causés par les insectes, les nématodes parasites des plantes, les maladies ou les mauvaises herbes.

- **Stress abiotiques**

Parmi les conditions environnementales qui peuvent causer un stress abiotique, on distingue : les inondations, la sécheresse, les basses ou hautes températures, la salinité excessive des sols ou des eaux, la présence d'un minéral inadéquat dans le sol, cas des métaux lourds, l'excès de lumière qui stimule la photo inhibition, le cas de faible éclairage, les radiations UV, les composés phytotoxiques

comme l'ozone qui est un haut réacteur oxydant, la pollution de l'air, les produits oxydés formés à partir des réactions de pesticides

La sécheresse, le froid et la salinité sont les stress les plus fréquents et les plus étudiés. Ils peuvent imposer aux plantes des modifications métaboliques, physiologiques et phénologiques.

### IV.2.1 Présentation du stress salin

Le stress salin est l'un des stress environnementaux les plus nocifs dans les régions arides et semi-arides, qui peut également perturber l'homéostasie des cellules végétales.

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  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$ .

### IV.3.1 Effets du stress salin sur la plante:

Le stress salin peut directement ou indirectement affecter le statut physiologique des plantes en changeant le métabolisme, la croissance et le développement des plantes (AJMAL KHAN et al., 2000 ; GARG et al., 2002).

Et Les effets de la salinité sur les plantes sont complexes et ses conséquences incluent la toxicité par les ions (PANG et al., 2007), le déficit hydrique (DESCLOS et al., 2008), la déficience et le déséquilibre nutritifs (CHEN et al., 2007). La grande majorité des stress salins est provoquée par des sels de sodium, particulièrement le  $\text{NaCl}$ . De ce fait, les termes halophytes et glycophytes font essentiellement référence aux stress provoqués par un excès de  $\text{Na}^+$  (GREGORY., 2005). La première difficulté d'une plante en milieu salin est d'assurer son apport en eau. Pour cela, il faut que la plante puisse ajuster la pression osmotique de ses tissus par rapport à la pression osmotique du sol. Ce phénomène nommé l'épictèse, permet donc à la plante d'assurer une hypertonie constante (HELLER., 2004). A l'échelle agronomique, les risques de salinisation varient de 4 à 16 mmhos/cm. A partir de 8 mmhos/cm, la plupart des plantes cultivées ont leurs rendements fortement abaissés par la salinité. Seuls les végétaux halophiles prospèrent dans des milieux à salinité supérieure à 16 mmhos/cm (KENFAOUI., 1997).

### IV.3.1 Sur la croissance

Plusieurs recherches ont montré la réduction de croissance de plantes en raison du stress salin, chez la tomate (ROMERO-ARANDA et al., 2001), le coton (MELONI et al., 2001) et la betterave à sucre (GHOULAM et al., 2002). Cependant, des différences dans la tolérance à la salinité sont notées entre les espèces et les variétés ainsi parmi les différents paramètres de la croissance de plantes mesurés.

AZIZ et KHAN (2001) ont constaté que la croissance optimale de *Rhizophora mucronata* a été obtenue après l'irrigation par 50% de l'eau de mer ; la croissance diminue avec la concentration de la salinité tandis que chez la légumineuse *Alhagi pseudoalhagi*, le poids frais

de la plante s'accroît sous une faible salinité (50 mM NaCl) mais il diminue à des doses élevées (100 et 200 mM NaCl) (KURBAN et al., 1999).

FISARAKIS et al, (2001), ont enregistré une grande réduction d'accumulation de la matière sèche dans les feuilles que dans les racines de la vigne, en particulier à des concentrations élevées en NaCl, indiquant une répartition des photoassimilats en faveur dans les racines. Ils ont proposé que les résultats puissent être dus à de plus grandes capacités d'ajustement osmotique sous stress par les racines.

#### **IV.3.2. Sur la photosynthèse**

L'effet de la salinité sur la photosynthèse, dépend de la concentration des sels de l'espèce et de la plante; ce qui est évident qu'une concentration basse de sels peut stimuler la photosynthèse. Un environnement stressant qui affecte la croissance, affecte évidemment la photosynthèse; de nombreux auteurs montrent que la capacité de la photosynthèse est étouffée par la salinité et cela chez différentes espèces de plantes (OMAMI., 2005). Selon TAIZ et ZEIGER., 2002 les stress environnementaux qui affectent la croissance, altèrent également la photosynthèse.

#### **IV.3.3. Sur la Germination :**

La plupart des auteurs s'accordent pour admettre que chez les halophytes, comme chez les glycophytes, la capacité de germination est plus élevée dans le milieu non salé; la présence de NaCl entraîne une augmentation de la durée des processus de germination et retarde par conséquent la levée (GROUZIS., 1976).

L'influence de la salinité sur la germination est toutefois fort complexe, en raison notamment des phénomènes de dormance fréquemment observés chez les halophytes (BINET., 1968).

Plusieurs études ont montré que le sel a un effet dépressif sur le taux de germination, sur la croissance biologique et sur la production de grains (M'BAREK et al., 2001).

Cependant cet effet varie en fonction de l'intensité du stress et la variété des plantes et cela, soit en diminuant la quantité d'eau et la vitesse de son absorption par la graine, soit par l'accroissement de la pression osmotique de l'eau d'imbibition qui est trop élevée pour permettre la germination (KATEMBE et al., 1998), où en augmentant la pénétration d'ions

qui peuvent s'accumuler dans la graine à des doses qui deviennent toxiques (DEBEZ et al., 2001).

#### **IV.3.4 Sur l'anatomie des feuilles**

L'excès de sel devient toxique à un certain degré et accélère la sénescence naturelle des feuilles, en réduisant la capacité photosynthétique causée par la fermeture des stomates qui limite l'entrée du CO<sub>2</sub> (ZHU.,2001; MUNNS.,2002). La salinité affecte l'ultra structure des chloroplastes (ACKERSON.,1981; SALAMA.,1994) l'épaisseur épidermique et mésophyllienne et les espaces intercellulaires ont diminué sensiblement dans les feuilles de *Brugueiraparviflora* traitées par NaCl (PARIDA et al.,2004). La salinité réduit les espaces intercellulaires chez les feuilles des épinards (DELFINE et al.,1998) tandis que chez les plantes de tomate, une réduction de la densité stomatique s'est produite (ROMEROARANDA et al.,2001).

#### **IV.3.5 Sur l'assimilation des éléments minéraux**

Une concentration élevée en sels (NaCl) concurrence l'absorption des autres ions nutritifs, comme le K<sup>+</sup>, le Ca<sup>2+</sup>, le N et le P ayant pour résultat un désordre alimentaire et éventuellement, un rendement et une qualité réduits (GRATTAN et GRIEVE.,1999).

Les effets nutritionnels de la salinité incluent les deux actions primaires du sel sur la plante: la toxicité directe due à l'accumulation excessive des ions dans les tissus et un déséquilibre nutritionnel provoqué par l'excès de certains ions (HOUALA et al., 2007).

Ce déséquilibre nutritionnel est une cause possible des réductions de croissance en présence de sel lorsque des ions essentiels comme K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> ou NO<sub>3</sub><sup>-</sup> deviennent limitant (SOLTANI., 1988).

Des concentrations salines trop fortes dans le milieu provoquent une altération de la nutrition minérale des plantes (LEVIGNERON et al., 1995).

L'accumulation des ions Na<sup>+</sup> dans la plante limite l'absorption des cations indispensables tel que K<sup>+</sup> et Ca<sup>2+</sup>. Il y aurait une compétition entre Na<sup>+</sup> et Ca<sup>2+</sup> pour les mêmes sites de fixation apoplasmiques (HOUALA et al., 2007).

Ce déséquilibre nutritionnel est une cause possible des réductions de croissance en présence de sel lorsque des ions essentiels comme  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  ou  $NO_3^-$  deviennent limitant (SOLTANI., 1988). La présence de  $Cl^-$  inhibe l'absorption de  $NO_3^-$  (SMITH., 1973)

#### **IV.1.4 Réponses des plantes au stress salin**

En général, des concentrations élevées de NaCl affectent la physiologie de la plante et le métabolisme à différents niveaux (de déficit d'eau, toxicité d'ions, nutriments déséquilibré).

\*La plante peut s'adapter au stress salin de différentes manières:

##### **1- L'exclusion**

La plante empêche le sel de remonter jusqu'aux feuilles. Une première barrière existe au niveau de l'endoderme, couche interne des cellules de la racine, ainsi que le transport sélectif permet d'adsorber les ions nutritifs utiles et de réexcréter les ions  $Na^+$  (GENOUX et al., 1991).

##### **2- L'inclusion**

La plante capte le sel qui parvient aux feuilles au même titre que l'eau par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux, le sel est alors stocké dans les vacuoles grâce à des systèmes de "pompes moléculaires" et ainsi le sel est isolé des constituants cellulaires vitaux (LEVITT., 1980; GENOUX et al., 1991; BERTHOMIEU et al., 2003).

La résistance des plantes à la salinité est définie par SHANNON et GRIEVE (1999) comme étant la capacité inhérente des plantes à résister aux effets des concentrations élevées en sels dans le profil racinaire où sur les feuilles sans subir des effets nuisibles significatifs.

SACHER et STAPLES (1984) ont défini la tolérance à la salinité comme étant la capacité des plantes d'accroître et d'accomplir son cycle de vie sur un substrat qui contient des concentrations élevées en sels solubles. Dans cet habitat la plante doit répondre à deux exigences : l'adaptation osmotique et l'acquisition des éléments minéraux dont elle a besoin pour la croissance et le fonctionnement du métabolisme.

Selon LEVITT (1980), les plantes sont réparties en deux groupes en halophytes et en glycophytes selon leur sensibilité à la salinité. Les halophytes sont des plantes qui peuvent se développer en présence des concentrations élevées de sels et ont un avantage concurrentiel par rapport aux plantes non-halophytes dans cet environnement.

Les Glycophytes sont les plantes sensibles aux concentrations relativement faibles en sels. Presque toutes les espèces.

## V. Outils de recherche développés pour la plante modèle *M.truncatula*

### V.1.1 Le *Medicago truncatula* Gene Expression Atlas (MtGEA)

Le serveur Web *Medicago truncatula* Gene Expression Atlas (MtGEA) est une plateforme d'analyse du transcriptome *Medicago*. Actuellement, le serveur Web héberge le gène données d'expression de 156 tableaux de génomes Affymetrix Gene Chip® *Medicago* dans 64 différents expériences, couvrant un large éventail de conditions de développement et d'environnement. Le serveur permet des analyses flexibles et multiformes des données de transcription et fournit une gamme de des informations sur les gènes, y compris les différents types d'annotations et les liens vers la séquence du génome, qui aident les utilisateurs à formuler des hypothèses sur la fonction des gènes. Les données de transcription sont accessibles en utilisant numéro d'identification de la sonde Affymetrix, séquence d'ADN, nom du gène, description fonctionnelle en langage naturel, termes d'annotation GO et KEGG et numéro de domaine InterPro. Les transcriptions peuvent également être découvert par co-expression ou analyse d'expression différentielle.

Des outils flexibles pour sélectionner un sous-ensemble d'expériences et pour visualiser et comparer les profils d'expression de plusieurs gènes ont été mis en œuvre. Les données peuvent être téléchargées, en partie ou en totalité, sous une forme tabulaire compatible avec logiciel d'analyse et de visualisation commun. Le serveur Web sera mis à jour régulièrement pour incorporer de nouvelles données d'expression génique et une annotation génomique, et est accessible.



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

## **I Des définitions**

### **I.1 Puce d'ADN**

La puce ADN est une technologie développée récemment et a été découverte il y a seulement pendant deux décennies.. Elle permet à des chercheurs de vérifier et analyser l'expression des milliers de gènes dans une réaction unique et d'aborder les éditions variées.

Une puce à ADN (ou DNA microarray) est constitué de fragments d'ADN immobilisés sur un support solide selon une disposition ordonnée. En effet, une puce comporte quelque centaine à plusieurs milliers de zones d'hybridation, appelé spots, chacune étant constitué d'un dépôt de fragments d'ADN ou d'oligonucléotides correspondant à des séquences connues de gènes.

### **I.2 Les différents types de puces et leur fabrication**

On distingue différents types de puces selon la densité des spots, le mode de fabrication et la nature des séquences nucléotidiques fixée (voire figure 1) Les premières puces mises au point, appelé macroarray, étaient sur des membranes de nylon en 1995. Depuis le début des années 2000, elles sont réalisées sur des lames de verres. L'utilisation d'un support solide, de marqueurs fluorescents et des progrès de la robotique permettent de fabriquer des puces avec une très haute densité de spots, susceptible ou capable de couvrir l'ensemble du transcriptome d'un organisme sur une lame de microscope. (Le revêtement le plus couramment utilisé est la polylysine, qui permet l'adhésion de l'ADN.

#### **a- Les macroarray ou filtre à haute densité**

Les dépôts (sondes) sont des clones d'ADNc ou des produits de PCR fixé sur une membrane de nylon de 8 par 12 cm. Le marquage des cibles est radioactif .Elles permettent une mesure de l'abondance relative des ARNm présent dans l'échantillon de départ.

#### **b- Les puces spottées**

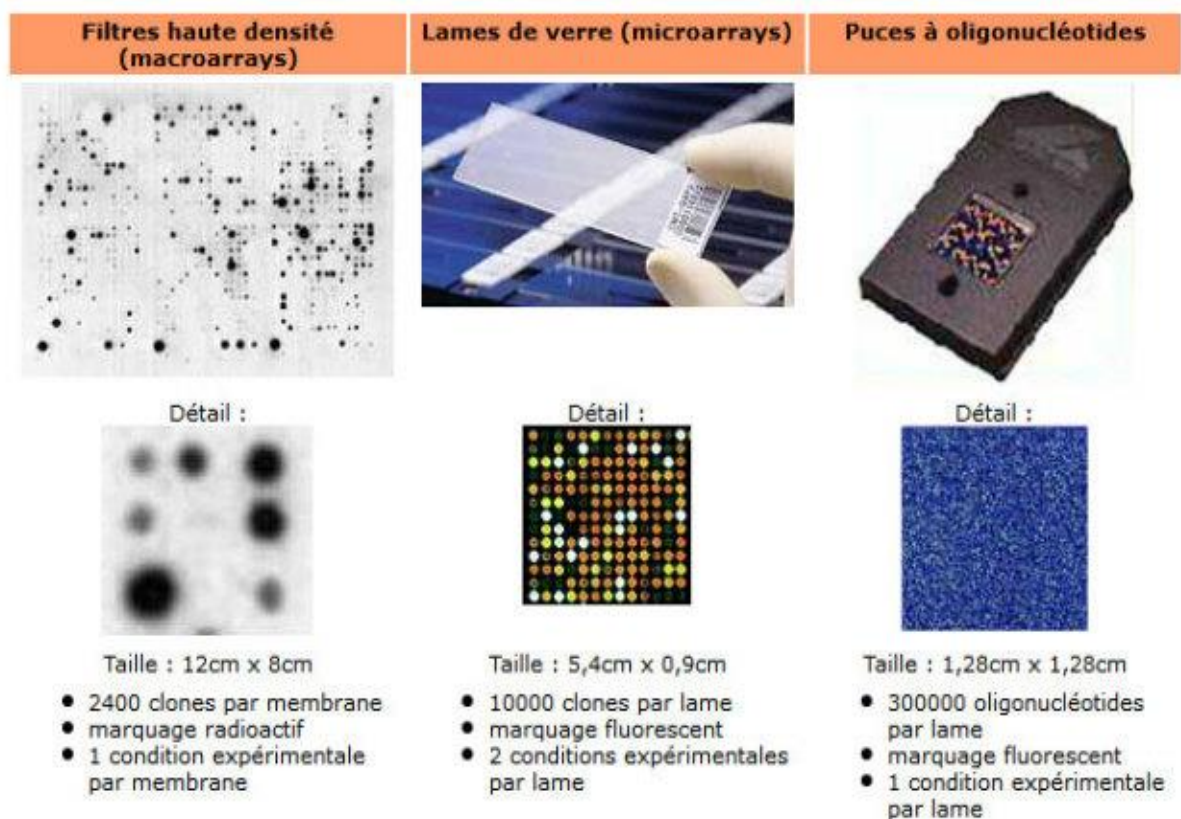
Les sondes sont des ADN doubles brin de 200 à 2000 paires de bases, amplifié par PCR ou plus récemment des oligonucléotides longs (50 à 70mères (unités)). Des microgouttelettes (spots) de ces solutions de sondes sont déposées selon une matrice d'emplacement défini à une densité supérieur ou égale à 1000 sondes/cm<sup>2</sup> par un robot sur des lames de verre



(jusqu'à 12000 sondes). En général, un spot correspond à un gène donné. Dans le cas de produit de PCR, l'ADN de la puce doit être dénaturé pour obtenir de l'ADN simple brin.

### c- Les puces à oligonucléotides synthétisés in situ (genechips)

Ces puces renferment des oligonucléotides simples brin synthétisé in situ (directement sur le support) par photolithographie. Ce type de puce permet donc une miniaturisation à l'extrême (250 000 spots/cm<sup>2</sup>) et une grande précision dans l'analyse du gène est représenté, car une quinzaine de sonde couvre un même gène, mais sur des portions différentes.



**Figure7** : Illustration montrant différents types de puces

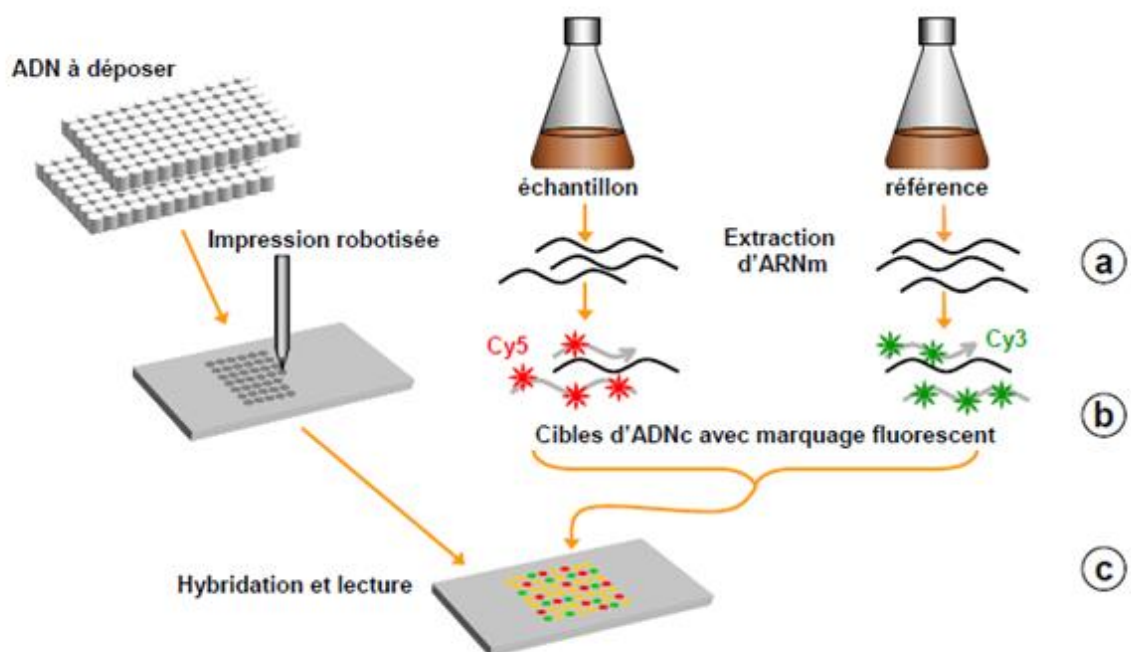
## II Application à l'analyse transcriptionnelle sur une puce spotée

### II.1 Principe général

L'analyse de l'expression transcriptionnelle des gènes (parfois appelée « expression profiling ») a été la première application pour laquelle la technologie des puces à ADN a été développée avec succès. C'est encore l'application largement dominante aujourd'hui.

L'hybridation d'un échantillon biologique sur une puce à ADN permet d'identifier et de mesurer l'abondance des espèces d'ARN messagers (ARNm) qu'il contient. Dans la suite de mon étude, pour simplifier, le terme expression désignera, sauf indication contraire, l'expression transcriptionnelle, c'est-à-dire la production d'ARNm transcrits à partir de la matrice d'ADN d'un gène activé.

□ L'utilisation des puces « spottées » permet d'acquérir une mesure relative du niveau d'expression des gènes dans un échantillon cellulaire par rapport à un témoin de référence, par exemple une souche mutée comparée à une souche sauvage, ou des cellules cultivées dans deux conditions différentes. Le principe expérimental est résumé dans la Figure 8 :



**Figure 8 :** principe général de l'analyse de l'expression transcriptionnelle sur une puce de type « spottée »

(a) L'ensemble des ARNm sont extraits des prélèvements de cultures cellulaires à analyser.

(b) Une transcription reverse est réalisée en présence de nucléotides modifiés permettant de coupler un marqueur fluorescent. Des cibles d'ADN complémentaires (ADNc) représentatives de l'ensemble des gènes exprimés pour chaque culture sont ainsi obtenues.

(c) Les deux échantillons sont marqués par des fluorochromes à spectres d'émission distincts (les plus couramment utilisées sont les carbocyanines Cy3 et Cy5) et hybridées simultanément sur une même puce. Au contact de la puce, les brins d'ADNc marqués

s'apparient avec les sondes de séquence complémentaire sur la lame. La mesure de l'intensité du signal fluorescent émis sur chaque spot permet ainsi d'estimer le taux d'expression différentiel du gène correspondant.

\*L'utilisation de puces à oligonucléotides de type Affymetrix permet de quantifier en Théorie l'abondance absolue de chaque ARNm transcrit. Les ARNm de l'échantillon à 10 analyser sont amplifiés, fragmentés et marqués par un système de couplage biotinstreptavidine pour l'hybridation sur la puce. Chaque gène est représenté sur la puce par une quinzaine de sondes constituées d'oligonucléotides courts de 20-25 bases couvrant différentes portions spécifiques du gène. Une estimation directe du niveau d'expression de chaque gène est obtenue en calculant le signal moyen sur l'ensemble des sondes représentant le gène.

### III Spot

Un grand nombre de fragments d'ADN sont fixés sur un support solide, on va hybrider ces fragments d'ADN fixés sur la puce avec une population d'acides nucléiques marqués. Sur la puce on peut définir une unité d'hybridation .

Chaque spot correspond au dépôt d'un fragment d'ADN de séquence connue, en quantité donnée et en un point précis (un même ADN est souvent déposé en deux spots pour faire une répétition).

#### III.1 Identification des spots

Dans un premier temps, les spots représentant les gènes doivent être repérés et distingués des artefacts de l'hybridation, dus par exemple à la précipitation de cibles ou à des contaminants (poussières,...) sur la surface de la lame. Le repérage de la position des spots s'appuie sur l'arrangement régulier des dépôts automatisés. Toutefois les intensités variables des signaux et le bruit de fond s'ajoutent aux irrégularités possibles de la grille de dépôt pour nécessiter un contrôle. Généralement, la localisation des spots est couplée avec l'analyse du bruit de fond. Pour les puces à ADN, il est important de calculer le bruit de fond spécifiquement à chaque spot, plutôt que globalement pour l'ensemble de la lame ou uniquement autour du spot.

Les ADNs fixés sur la puce s'appellent des sondes, l'avantage des puces c'est qu'on peut réaliser l'hybridation de milliers de sondes vis à vis d'une population choisie d'acides nucléiques. (<https://www.supagro.fr/ress-tice/PCR/5/co/puces.html>)

### III.2 Type de sondes

La puce à ADN contient des contrôles négatifs contenant du tampon seul et des séquences de levure, qui ne reconnaissent pas les cibles d'échantillon humain. Les contrôles positifs sont préparés avec des concentrations croissantes d'ADNc de gènes de ménage. Ces gènes s'expriment en permanence pour entretenir un bon fonctionnement de la cellule. Les échantillons contiennent ainsi une concentration relativement homogène d'ARNm de gènes de ménage. (<http://oalmeras.free.fr/BibliographiesAnalysePuce.htm>)

## IV méthodes de travail

The screenshot displays the MtGEA web interface. At the top, it identifies the Noble Research Institute and the Medicago truncatula Gene Expression Atlas. The current version is V3 (Feb 2015), with 274 experiments and 739 GeneChips. A search bar is available for Probeset ID. The left sidebar contains a navigation menu with categories like 'Home / Introduction', 'Microarray Sample Selection', 'Analysis', and 'Whole Dataset'. The main content area features an 'Introduction' section, a heatmap image of a Medicago truncatula plant, and detailed text about the project and the web server. It includes information on data availability, search capabilities, and a note about data normalization in the new version.

Figure 9 : interface de MtGEA

- Pour télécharger les données d'expressions dans la condition de Na Cl 200Mm on suit ses étapes :

The screenshot shows the Noble Research Institute's MtGEA website. The header includes the logo and the text "Noble Research Institute | Mt Gene Expression Atlas" and "Medicago truncatula Gene Expression Atlas". A navigation bar contains "Sample Selection" and "MTV".

On the left, a sidebar menu lists various options:
 

- Current Version: V3 (Feb 2015)
- # of Experiments: 274
- # of GeneChips: 739
- Quick Search: Probeset ID: [input] [Random] [Go]
- MtGEA: Home / Introduction, Microarray Sample Selection, Multi-transcript Viewer
- Search by...:
  - Probeset ID
  - Homolog Probeset ID
  - Gene Annotation...
    - Gene ID
    - Gene Description
    - GO Annotation
    - Protein Domain
    - KEGG Annotation
    - Transcription Factor Family
    - Membrane
    - Transporter Family
  - Sequence Alignment (BLAST)
  - Genomics Features (Genome Browser)
- Analysis:
  - Co-expression Analysis
  - Differential Expression Analysis
  - My Analysis History
- Gene Regulatory Network:
  - Legume Comparative GRN Server
- Whole Dataset:
  - Batch Download by Experiment
  - Download the mappings between probeset ID and MtGAG gene IDs
  - MtGEA version 1 Data (Old)
  - MtGEA version 2 Data (Old)
- More Information:
  - Probeset ID Naming Rules
  - References

The main content area features an "Introduction" section with a sub-heading "The *Medicago truncatula* Gene Expression Atlas (MtGEA) Project". It includes a small image of a plant and text describing the project's goals. Below this, there is a section for "The *Medicago truncatula* Gene Expression Atlas (MtGEA) Web Server" with a detailed description of its functionality. Two red warning icons highlight updates in the new version, such as the inclusion of more data and the renormalization of gene expression values.

Root 2wk Sdl Organ: root. Treatment Type: chemical and physical treatments.  
 Hydroponic Treatment: 2wk-old plants (hydroponics) - 0h under salt stress (200mM 200mM NaCl 0h: NaCl) - control  
 Selection:  RT\_2wks\_Sdl\_Hydroponic\_200mM\_NaCl\_0h\_1  [Mean \(RT 2wks Sdl Hydroponic 200mM NaCl 0h\)](#)

Root 2wk Sdl Organ: root. Treatment Type: chemical and physical treatments.  
 Hydroponic Treatment: 2wk-old plants (hydroponics) -1h under salt stress (200mM 200mM NaCl 1h: NaCl)  
 Selection:  RT\_2wks\_Sdl\_Hydroponic\_200mM\_NaCl\_1h\_1  [Mean \(RT 2wks Sdl Hydroponic 200mM NaCl 1h\)](#)

Root 2wk Sdl Organ: root. Treatment Type: chemical and physical treatments.  
 Hydroponic Treatment: 2wk-old plants (hydroponics) -2h under salt stress (200mM 200mM NaCl 2h: NaCl)  
 Selection:  RT\_2wks\_Sdl\_Hydroponic\_200mM\_NaCl\_2h\_1  [Mean \(RT 2wks Sdl Hydroponic 200mM NaCl 2h\)](#)

Root 2wk Sdl Organ: root. Treatment Type: chemical and physical treatments.  
 Hydroponic Treatment: 2wk-old plants (hydroponics) -5h under salt stress (200mM 200mM NaCl 5h: NaCl)  
 Selection:  RT\_2wks\_Sdl\_Hydroponic\_200mM\_NaCl\_5h\_1  [Mean \(RT 2wks Sdl Hydroponic 200mM NaCl 5h\)](#)

Root 2wk Sdl Organ: root. Treatment Type: chemical and physical treatments.  
 Hydroponic Treatment: 2wk-old plants (hydroponics) -10h under salt stress (200mM 200mM NaCl NaCl) 10h:  
 Selection:  RT\_2wks\_Sdl\_Hydroponic\_200mM\_NaCl\_10h\_1  [Mean \(RT 2wks Sdl Hydroponic 200mM NaCl 10h\)](#)

Root 2wk Sdl Organ: root. Treatment Type: chemical and physical treatments.  
 Hydroponic Treatment: 2wk-old plants (hydroponics) -24h under salt stress (200mM 200mM NaCl NaCl) 24h:  
 Selection:  RT\_2wks\_Sdl\_Hydroponic\_200mM\_NaCl\_24h\_1  [Mean \(RT 2wks Sdl Hydroponic 200mM NaCl 24h\)](#)

**Root drought 10d:** Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 10d drought stress (time-course)

Selection:  RT\_drought\_10d\_1  RT\_drought\_10d\_2  RT\_drought\_10d\_3  [Mean \(RT\\_drought\\_10d\)](#)

**Root drought 14d:** Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 14d drought stress (time-course)

Selection:  RT\_drought\_14d\_1  RT\_drought\_14d\_2  RT\_drought\_14d\_3  [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:  RT\_drought\_14d\_rewatered\_1d\_1  RT\_drought\_14d\_rewatered\_1d\_2  RT\_drought\_14d\_rewatered\_1d\_3  [Mean \(RT\\_drought\\_14d\\_rewatered\\_1d\)](#)

**Root watered d2:** Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 26-d well hydrated plants (control for drought experiment)

Selection:  RT\_watered\_d2\_1  RT\_watered\_d2\_2  RT\_watered\_d2\_3  [Mean \(RT\\_watered\\_d2\)](#)


**Root watered 4d:** Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 28-d well hydrated plants (control for drought experiment)

Selection:  RT\_watered\_4d\_1  RT\_watered\_4d\_2  RT\_watered\_4d\_3  [Mean \(RT\\_watered\\_4d\)](#)

**Download Options:**



Experiment Selection:  All  All Replicates  All Means  None

Probeset Selection:  Mtr: Medicago truncatula only  All, including Mtr, Msa, Sme and control


Noble Research Institute | [Mt Gene Expression Atlas](#)

### Medicago truncatula Gene Expression Atlas

**Current Version: V3 (Feb 2015)**  
 # of Experiments: 274  
 # of GeneChips: 739

 [Sample Selection](#)
 [MTV](#)

## Batch Download by Experiment

---

The data you requested is available for direct download now. Right click here and select 'Save link as...'  
 This is a tab-delimited text file. You may open it with any text editor or Excel.

This page lists the expression data by experiment (referred to as "chip", "slide" elsewhere) and allows you to download all expressions for experiments of your selection. Experiments are grouped by their data sources (authors).

**NOTE:** The download file will be generated from the database on the fly. Please be patient while you are expecting a large data set.

### Balzergue et al., unpublished

Hypocotyl A17 10C Organ: stem. Treatment Type: physical treatments. Treatment: A17 10 P1 35C-day1: Selection: <input type="checkbox"/> Hyptl_A17_10C_35C_day1_1 <input type="checkbox"/> <a href="#">Mean (Hyptl A17 10C 35C day1)</a>
Hypocotyl A17 10C Organ: stem. Treatment Type: physical treatments. Treatment: A17 10 P1 35C-day2: Selection: <input type="checkbox"/> Hyptl_A17_10C_35C_day2_1 <input type="checkbox"/> <a href="#">Mean (Hyptl A17 10C 35C day2)</a>
Hypocotyl F83 10C Organ: stem. Treatment Type: physical treatments. Treatment: F8310 P1 35C-day1: Selection: <input type="checkbox"/> Hyptl_F83_10C_35C_day1_1 <input type="checkbox"/> <a href="#">Mean (Hyptl F83 10C 35C day1)</a>
Hypocotyl F83 10C Organ: stem. Treatment Type: physical treatments. Treatment: F8310 P1 35C-day2: Selection: <input type="checkbox"/> Hyptl_F83_10C_35C_day2_1 <input type="checkbox"/> <a href="#">Mean (Hyptl F83 10C 35C day2)</a>

**Quick Search:**  
 Probeset ID:   
[\[Random\]](#)

**MtGEA:**  
[Home / Introduction](#)  
[Microarray Sample Selection](#)  
[Multi-transcript Viewer](#)

Search by...

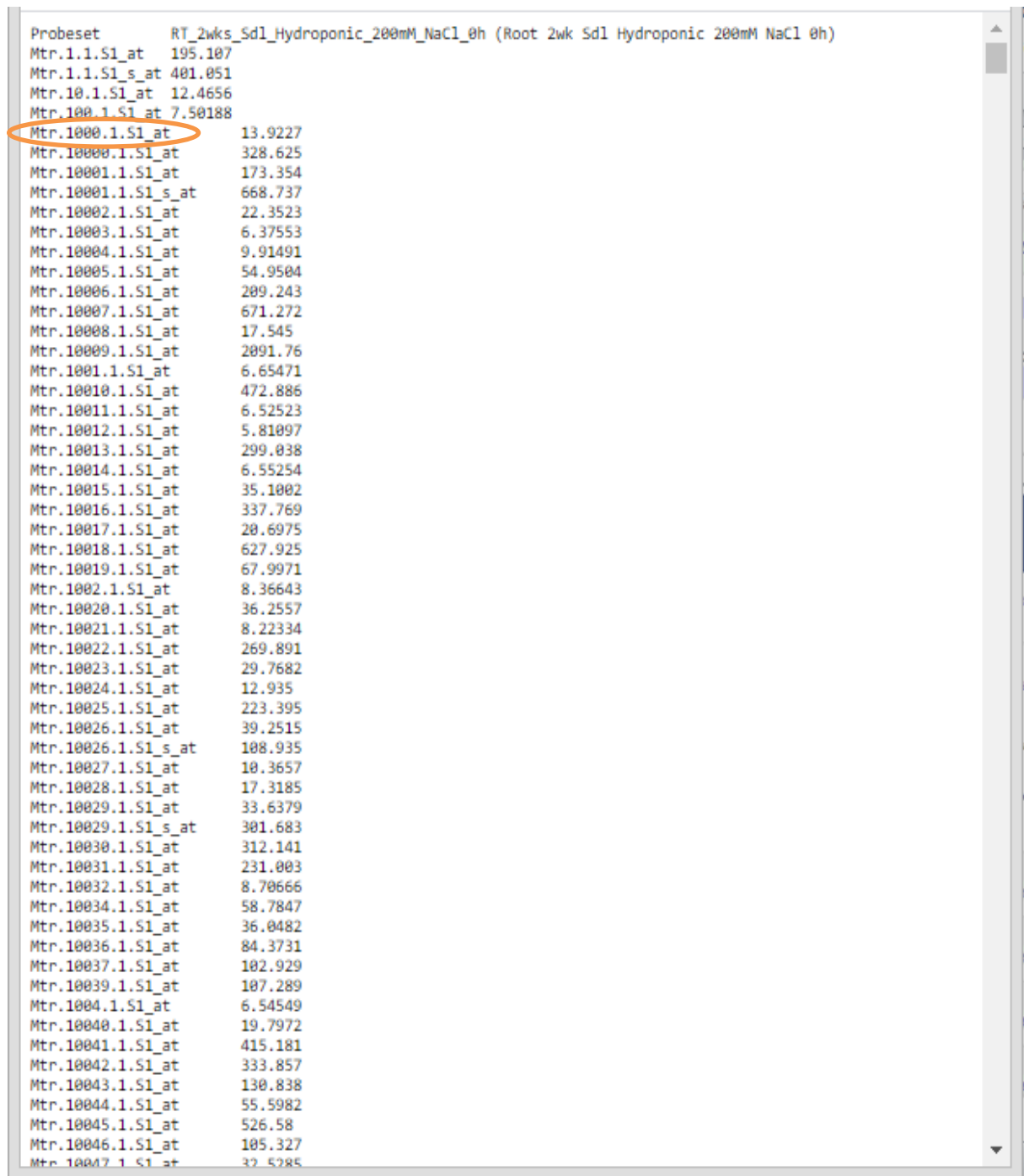
- [Probeset ID](#)
- [Homolog Probeset ID](#)
- [Gene Annotation...](#)
  - [Gene ID](#)
  - [Gene Description](#)
  - [GO Annotation](#)
  - [Protein Domain](#)
  - [KEGG Annotation](#)
  - [Transcription Factor Family](#)
  - [Membrane Transporter Family](#)
- [Sequence Alignment \(BLAST\)](#)
- [Genomics Features \(Genome Browser\)](#)

Analysis:

- [Co-expression Analysis](#)
- [Differential Expression Analysis](#)
- [My Analysis History](#)

Gene Regulatory Network:





Probeset RT\_2wks\_Sd1\_Hydroponic\_200mM\_NaCl\_0h (Root 2wk Sd1 Hydroponic 200mM NaCl 0h)

Mtr.1.1.S1_at	195.107
Mtr.1.1.S1_s_at	401.051
Mtr.10.1.S1_at	12.4656
Mtr.100.1.S1_at	7.50188
Mtr.1000.1.S1_at	13.9227
Mtr.10000.1.S1_at	328.625
Mtr.10001.1.S1_at	173.354
Mtr.10001.1.S1_s_at	668.737
Mtr.10002.1.S1_at	22.3523
Mtr.10003.1.S1_at	6.37553
Mtr.10004.1.S1_at	9.91491
Mtr.10005.1.S1_at	54.9504
Mtr.10006.1.S1_at	209.243
Mtr.10007.1.S1_at	671.272
Mtr.10008.1.S1_at	17.545
Mtr.10009.1.S1_at	2091.76
Mtr.1001.1.S1_at	6.65471
Mtr.10010.1.S1_at	472.886
Mtr.10011.1.S1_at	6.52523
Mtr.10012.1.S1_at	5.81097
Mtr.10013.1.S1_at	299.038
Mtr.10014.1.S1_at	6.55254
Mtr.10015.1.S1_at	35.1002
Mtr.10016.1.S1_at	337.769
Mtr.10017.1.S1_at	20.6975
Mtr.10018.1.S1_at	627.925
Mtr.10019.1.S1_at	67.9971
Mtr.1002.1.S1_at	8.36643
Mtr.10020.1.S1_at	36.2557
Mtr.10021.1.S1_at	8.22334
Mtr.10022.1.S1_at	269.891
Mtr.10023.1.S1_at	29.7682
Mtr.10024.1.S1_at	12.935
Mtr.10025.1.S1_at	223.395
Mtr.10026.1.S1_at	39.2515
Mtr.10026.1.S1_s_at	108.935
Mtr.10027.1.S1_at	10.3657
Mtr.10028.1.S1_at	17.3185
Mtr.10029.1.S1_at	33.6379
Mtr.10029.1.S1_s_at	301.683
Mtr.10030.1.S1_at	312.141
Mtr.10031.1.S1_at	231.003
Mtr.10032.1.S1_at	8.70666
Mtr.10034.1.S1_at	58.7847
Mtr.10035.1.S1_at	36.0482
Mtr.10036.1.S1_at	84.3731
Mtr.10037.1.S1_at	102.929
Mtr.10039.1.S1_at	107.289
Mtr.1004.1.S1_at	6.54549
Mtr.10040.1.S1_at	19.7972
Mtr.10041.1.S1_at	415.181
Mtr.10042.1.S1_at	333.857
Mtr.10043.1.S1_at	130.838
Mtr.10044.1.S1_at	55.5982
Mtr.10045.1.S1_at	526.58
Mtr.10046.1.S1_at	105.327
Mtr.10047.1.S1_at	32.5285

- Pour télécharger les données d'expressions dans la condition de Na Cl 200Mm en 10h suivez ses étapes:

le.org/v3/experiments.php

Hydroponic old plants (hydroponics) -1h under salt stress (200mM NaCl)  
200mM NaCl 1h:  
Selection:  RT\_2wks\_Sdl\_Hydroponic\_200mM\_NaCl\_1h\_1  [Mean \(RT\\_2wks\\_Sdl\\_Hydroponic\\_200mM\\_NaCl\\_1h\)](#)

Root 2wk Sdl Organ: root. Treatment Type: chemical and physical treatments. Treatment: 2wk-  
Hydroponic old plants (hydroponics) -2h under salt stress (200mM NaCl)  
200mM NaCl 2h:  
Selection:  RT\_2wks\_Sdl\_Hydroponic\_200mM\_NaCl\_2h\_1  [Mean \(RT\\_2wks\\_Sdl\\_Hydroponic\\_200mM\\_NaCl\\_2h\)](#)

Root 2wk Sdl Organ: root. Treatment Type: chemical and physical treatments. Treatment: 2wk-  
Hydroponic old plants (hydroponics) -5h under salt stress (200mM NaCl)  
200mM NaCl 5h:  
Selection:  RT\_2wks\_Sdl\_Hydroponic\_200mM\_NaCl\_5h\_1  [Mean \(RT\\_2wks\\_Sdl\\_Hydroponic\\_200mM\\_NaCl\\_5h\)](#)

Root 2wk Sdl Organ: root. Treatment Type: chemical and physical treatments. Treatment: 2wk-  
Hydroponic old plants (hydroponics) -10h under salt stress (200mM NaCl)  
200mM NaCl 10h:  
Selection:  RT\_2wks\_Sdl\_Hydroponic\_200mM\_NaCl\_10h\_1  [Mean \(RT\\_2wks\\_Sdl\\_Hydroponic\\_200mM\\_NaCl\\_10h\)](#)

Root 2wk Sdl Organ: root. Treatment Type: chemical and physical treatments. Treatment: 2wk-  
Hydroponic old plants (hydroponics) -24h under salt stress (200mM NaCl)  
200mM NaCl 24h:  
Selection:  RT\_2wks\_Sdl\_Hydroponic\_200mM\_NaCl\_24h\_1  [Mean \(RT\\_2wks\\_Sdl\\_Hydroponic\\_200mM\\_NaCl\\_24h\)](#)

**Limpens et al., 2013 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23734198>)**

Meristem cells Organ: Nodules LCM. Treatment Type: Biological. Treatment: 21 days post  
from *Medicago truncatula* root  
inoculation with *S. meliloti* 2011  
nodules:  
Selection:  Meristem\_root\_nodD\_rep1  Meristem\_root\_nodD\_rep3  Meristem\_root\_nodD\_rep4  [Mean \(Meristem\\_root\\_nodD\)](#)

Distal infection Organ: Nodules LCM. Treatment Type: Biological. Treatment: 21 days post  
zone cells from inoculation with *S. meliloti* 2011

org/v3/experiments.php

(time-course)  
 Selection:  RT\_drought\_7d\_1  RT\_drought\_7d\_2  RT\_drought\_7d\_3  [Mean \(RT\\_drought\\_7d\)](#)

**Root drought 10d:** Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 10d drought stress (time-course)  
 Selection:  RT\_drought\_10d\_1  RT\_drought\_10d\_2  RT\_drought\_10d\_3  [Mean \(RT\\_drought\\_10d\)](#)

**Root drought 14d:** Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 14d drought stress (time-course)  
 Selection:  RT\_drought\_14d\_1  RT\_drought\_14d\_2  RT\_drought\_14d\_3  [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:  RT\_drought\_14d\_rewatered\_1d\_1  RT\_drought\_14d\_rewatered\_1d\_2  RT\_drought\_14d\_rewatered\_1d\_3  [Mean \(RT\\_drought\\_14d\\_rewatered\\_1d\)](#)

**Root watered d2:** Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 26-d well hydrated plants (control for drought experiment)  
 Selection:  RT\_watered\_d2\_1  RT\_watered\_d2\_2  RT\_watered\_d2\_3  [Mean \(RT\\_watered\\_d2\)](#)

**Root watered 4d:** Organ: root. Treatment Type: physical treatments. Treatment: 28-d well hydrated plants (control for drought experiment)  
 Selection:  RT\_watered\_4d\_1  RT\_watered\_4d\_2  RT\_watered\_4d\_3  [Mean \(RT\\_watered\\_4d\)](#)

**Download Options:**  
 Experiment Selection:  All  All Replicates  All Means  None  
 Probeset Selection:  Mtr: Medicago truncatula only  All, including Mtr, Msa, Sme and control

© Noble Research Institute, LLC



[Sample Selection](#)



[MTV](#)

### Batch Download by Experiment

The data you requested is available for direct download now. [Right click here and select 'Save link as...'](#)

This is a tab-delimited text file. You may open it with any text editor or Excel.

Batch Download by Experi... x <https://mtgea.noble.org/v3/> x +

mtgea.noble.org/v3/download/export\_2020-09-05-... 🔍 ☆ N ⋮

Probeset	RT_2wks_Sd1_Hydroponic_200mM_NaCl_10h (Root 2wk Sd1 Hydroponic 200mM NaCl 10h)
Mtr.1.1.S1_at	153.471
Mtr.1.1.S1_s_at	438.53
Mtr.10.1.S1_at	10.3752
Mtr.100.1.S1_at	7.55975
Mtr.1000.1.S1_at	12.0378
Mtr.10000.1.S1_at	396.384
Mtr.10001.1.S1_at	169.44
Mtr.10001.1.S1_s_at	587.381
Mtr.10002.1.S1_at	28.3387
Mtr.10003.1.S1_at	6.04552
Mtr.10004.1.S1_at	11.583
Mtr.10005.1.S1_at	87.162
Mtr.10006.1.S1_at	365.431
Mtr.10007.1.S1_at	629.869
Mtr.10008.1.S1_at	17.3552
Mtr.10009.1.S1_at	863.365
Mtr.1001.1.S1_at	5.82657
Mtr.10010.1.S1_at	484.66
Mtr.10011.1.S1_at	6.56434
Mtr.10012.1.S1_at	7.11242
Mtr.10013.1.S1_at	150.273
Mtr.10014.1.S1_at	5.80967
Mtr.10015.1.S1_at	27.2446
Mtr.10016.1.S1_at	377.655
Mtr.10017.1.S1_at	18.6124
Mtr.10018.1.S1_at	769.637
Mtr.10019.1.S1_at	44.4939
Mtr.1002.1.S1_at	7.59062
Mtr.10020.1.S1_at	24.3769
Mtr.10021.1.S1_at	8.18336
Mtr.10022.1.S1_at	264.025
Mtr.10023.1.S1_at	14.9154
Mtr.10024.1.S1_at	13.3579
Mtr.10025.1.S1_at	200.399
Mtr.10026.1.S1_at	40.6999
Mtr.10026.1.S1_s_at	123.079
Mtr.10027.1.S1_at	9.53336
Mtr.10028.1.S1_at	16.6289
Mtr.10029.1.S1_at	110.653
Mtr.10029.1.S1_s_at	728.834
Mtr.10030.1.S1_at	639.83
Mtr.10031.1.S1_at	99.5844
Mtr.10032.1.S1_at	7.70638

On choisit les premiers 200 gènes. puis on les mettrait dans des tableaux Excel avec l'ordre les valeurs du plus grand au plus petit. (0h,10h)

	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1									
2		at 10h					at 0h		
3		Mtr.10045.1.S1_at	2618.68				Mtr,10009,1,S1_at	2091,76	
4		Mtr.10055.1.S1_at	1754.32				Mtr,10055,1,S1_at	1272,1	
5		Mtr.10079.1.S1_at	1393.65				Mtr,10077,1,S1_at	805,859	
6		Mtr.10009.1.S1_at	863.365				Mtr,10079,1,S1_at	711,503	
7		Mtr.10018.1.S1_at	769.637				Mtr,10007,1,S1_at	671,272	
8		Mtr.10029.1.S1_s_at	728.834				Mtr,10001,1,S1_s_at	668,737	
9		Mtr.10077.1.S1_at	677.114				Mtr,10018,1,S1_at	627,925	
10		Mtr.10092.1.S1_at	663.406				Mtr,10067,1,S1_s_at	530,638	
11		Mtr.10030.1.S1_at	639.83				Mtr,10045,1,S1_at	526,58	
12		Mtr.10007.1.S1_at	629.869				Mtr,10010,1,S1_at	472,886	
13		Mtr.10001.1.S1_s_at	587.381				Mtr,10041,1,S1_at	415,18	
14		Mtr.10049.1.S1_at	532.156				Mtr,1,1,S1_s_at	401,051	
15		Mtr.10041.1.S1_at	530.584				Mtr,10072,1,S1_at	344,036	
16		Mtr.10010.1.S1_at	484.66				Mtr,10016,1,S1_at	337,769	
17		Mtr.1.1.S1_s_at	438.53				Mtr,10042,1,S1_at	333,857	
18		Mtr.10088.1.S1_at	403.726				Mtr,10000,1,S1_at	328,625	
19		Mtr.10000.1.S1_at	396.384				Mtr,10059,1,S1_at	312,286	
20		Mtr.10085.1.S1_at	387.985				Mtr,10030,1,S1_at	312,141	
21		Mtr.10067.1.S1_s_at	382.546				Mtr,10049,1,S1_at	302,952	
22		Mtr.10016.1.S1_at	377.655				Mtr,10029,1,S1_s_at	301,683	
23		Mtr.10006.1.S1_at	365.431				Mtr,10013,1,S1_at	299,038	
24		Mtr.10059.1.S1_at	322.731				Mtr,10022,1,S1_at	269,891	
25		Mtr.10072.1.S1_at	307.365				Mtr,10031,1,S1_at	231,003	

**Noble Research Institute**  
 Noble Research Institute | Mt Gene Expression Atlas  
**Medicago truncatula Gene Expression Atlas**

Current Version: V3 (Feb 2015)  
 # of Experiments: 274  
 # of GeneChips: 739

Quick Search:  
 Probeset ID:

**Batch Download by Experiment**

The data you requested is available for direct download now. Right click here and select "Save link as..."  
 This is a tab-delimited text file. You may open it with any text editor or Excel.

This page lists the expression data by experiment (referred to as "chip", "slide" elsewhere) and allows you to download all expressions for experiments of your selection. Experiments are grouped by their data source (authors).

NOTE: The download file will be generated from the database on the fly. Please be patient while you are expecting a large data set.

**Balzergue et al., unpublished**

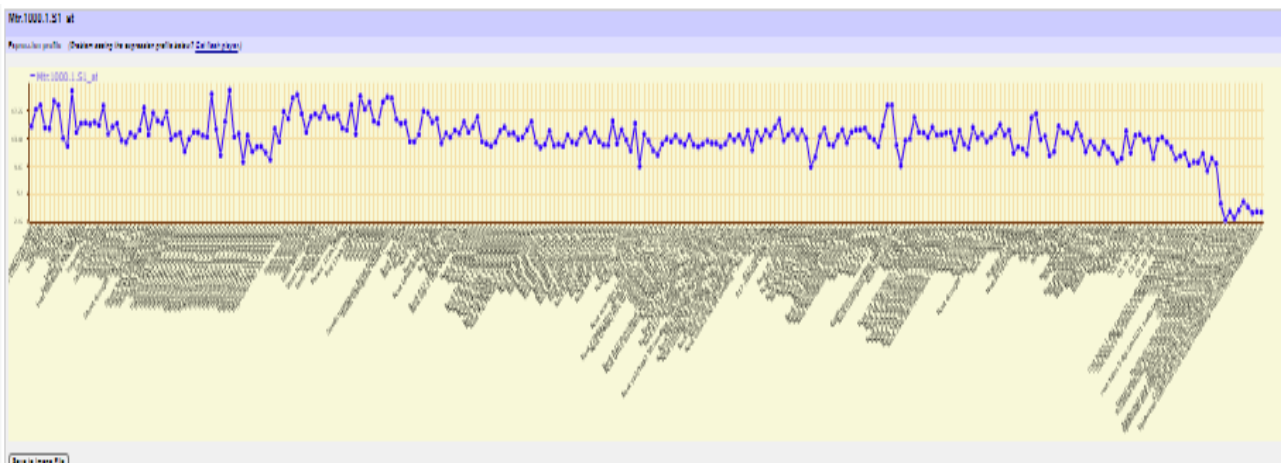
Hypocotyl A17 Organ: stem. Treatment Type: physical treatments. Treatment: A17 10C 35C-day1:  
 Selection:  Hyptl\_A17\_10C\_35C\_day1\_1  Mean (Hyptl\_A17\_10C\_35C\_...y1)

Hypocotyl A17 Organ: stem. Treatment Type: physical treatments. Treatment: A17 10C 35C-day2:  
 Selection:  Hyptl\_A17\_10C\_35C\_day2\_1  Mean (Hyptl\_A17\_10C\_35C\_...y2)

Hypocotyl F83 Organ: stem. Treatment Type: physical treatments. Treatment: F8310 P 10C 35C-day1:  
 Selection:  Hyptl\_F83\_10C\_35C\_day1\_1  Mean (Hyptl\_F83\_10C\_35C\_...y1)

Hypocotyl F83 Organ: stem. Treatment Type: physical treatments. Treatment: F8310 P 10C 35C-day2:  
 Selection:  Hyptl\_F83\_10C\_35C\_day2\_1  Mean (Hyptl\_F83\_10C\_35C\_...v2)

- Profil d'expression afficher par flash player :



- Suivez les mêmes étapes pour la condition de root drought :

<b>Root drought 2d:</b>	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 type="checkbox"/> <a href="#">Mean (RT_drought_2d)</a>
<b>Root drought 3d:</b>	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 type="checkbox"/> <a href="#">Mean (RT_drought_3d)</a>
<b>Root drought 4d:</b>	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 type="checkbox"/> <a href="#">Mean (RT_drought_4d)</a>
<b>Root drought 7d:</b>	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 type="checkbox"/> <a href="#">Mean (RT_drought_7d)</a>
<b>Root drought 10d:</b>	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 type="checkbox"/> <a href="#">Mean (RT_drought_10d)</a>
<b>Root drought 14d:</b>	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 type="checkbox"/> <a href="#">Mean (RT_drought_14d)</a>
<b>Root drought 14d rewatered 1d:</b>	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 type="checkbox"/> <a href="#">Mean (RT_drought_14d_rewatered_1d)</a>

	A	B	C
1			
2	Probeset	RT_drought_2d (Root drought 2d)	
3	Mtr.10009.1.S1_at		3053,47
4	Mtr.10013.1.S1_at		1691,06
5	Mtr.10077.1.S1_at		866,957
6	Mtr.10079.1.S1_at		753,238
7	Mtr.10001.1.S1_s_at		583,438
8	Mtr.1.1.S1_s_at		555,877
9	Mtr.10072.1.S1_at		547,256
10	Mtr.10088.1.S1_at		495,277
11	Mtr.10059.1.S1_at		481,18
12	Mtr.10041.1.S1_at		475,07
13	Mtr.10010.1.S1_at		474,611
14	Mtr.10045.1.S1_at		465,447
15	Mtr.10085.1.S1_at		451,627
16	Mtr.10067.1.S1_s_at		421,996
17	Mtr.10030.1.S1_at		408,031
18	Mtr.10007.1.S1_at		402,873
19	Mtr.10016.1.S1_at		375,681
20	Mtr.10042.1.S1_at		338,077
21	Mtr.10031.1.S1_at		310,889
22	Mtr.10019.1.S1_at		241,405
23	Mtr.10018.1.S1_at		240,036
24	Mtr.10000.1.S1_at		234,773
25	Mtr.10037.1.S1_at		224,963



	A	B
1		
2	Probeset	RT_drought_3d (Root drought 3d)
3	Mtr.10009.1.S1_at	2878,79
4	Mtr.10013.1.S1_at	2024,01
5	Mtr.10045.1.S1_at	763,694
6	Mtr.1.1.S1_s_at	755,054
7	Mtr.10077.1.S1_at	696,776
8	Mtr.10079.1.S1_at	665,989
9	Mtr.10001.1.S1_s_at	579,975
10	Mtr.10041.1.S1_at	505,46
11	Mtr.10072.1.S1_at	492,771
12	Mtr.10007.1.S1_at	492,453
13	Mtr.10067.1.S1_s_at	456,779
14	Mtr.10010.1.S1_at	453,292
15	Mtr.10059.1.S1_at	445,943
16	Mtr.10088.1.S1_at	444,23
17	Mtr.10030.1.S1_at	427,784
18	Mtr.10016.1.S1_at	418,561
19	Mtr.10019.1.S1_at	330,673
20	Mtr.10042.1.S1_at	327,847
21	Mtr.10000.1.S1_at	271,827
22	Mtr.10022.1.S1_at	254,953
23	Mtr.10018.1.S1_at	253,923
24	Mtr.10006.1.S1_at	237,145
25	Mtr.10031.1.S1_at	233,1

The screenshot shows the Microsoft Excel interface with the following data table:

	A	B	C
1			
2	Probeset	RT_drought_4d (Root drought 4d)	
3	Mtr.10013.1.S1_at	2163,2	
4	Mtr.10045.1.S1_at	1030,27	
5	Mtr.1.1.S1_s_at	957,001	
6	Mtr.10009.1.S1_at	943,389	
7	Mtr.10007.1.S1_at	735,537	
8	Mtr.10001.1.S1_s_at	670,327	
9	Mtr.10067.1.S1_s_at	569,958	
10	Mtr.10010.1.S1_at	557,587	
11	Mtr.10030.1.S1_at	554,046	
12	Mtr.10059.1.S1_at	549,72	
13	Mtr.10072.1.S1_at	509,132	
14	Mtr.10041.1.S1_at	506,614	
15	Mtr.10079.1.S1_at	505,224	
16	Mtr.10088.1.S1_at	502,478	
17	Mtr.10077.1.S1_at	443,581	
18	Mtr.10042.1.S1_at	414,895	
19	Mtr.10016.1.S1_at	410,512	
20	Mtr.10018.1.S1_at	380,598	
21	Mtr.10019.1.S1_at	363,364	
22	Mtr.10006.1.S1_at	356,915	
23	Mtr.10029.1.S1_s_at	345,105	
24	Mtr.10000.1.S1_at	329,754	
25	Mtr.10048.1.S1_at	274,821	

	A	B
1		
2	Probeset	SHT_drought_7d (Shoot drought 7d)
3	Mtr.10039.1.S1_at	3425,11
4	Mtr.10048.1.S1_at	1634,43
5	Mtr.10045.1.S1_at	1378,25
6	Mtr.10088.1.S1_at	762,868
7	Mtr.10070.1.S1_at	752,51
8	Mtr.1002.1.S1_at	728,455
9	Mtr.1.1.S1_s_at	616,527
10	Mtr.10072.1.S1_at	576,644
11	Mtr.10067.1.S1_s_at	545,672
12	Mtr.10029.1.S1_s_at	540,991
13	Mtr.10001.1.S1_s_at	538,295
14	Mtr.10035.1.S1_at	534,808
15	Mtr.10013.1.S1_at	512,715
16	Mtr.10009.1.S1_at	452,848
17	Mtr.10010.1.S1_at	405,49
18	Mtr.10016.1.S1_at	405,324
19	Mtr.10059.1.S1_at	396,686
20	Mtr.10030.1.S1_at	366,193
21	Mtr.10007.1.S1_at	359,789
22	Mtr.10064.1.S1_at	337,534
23	Mtr.10041.1.S1_at	332,627
24	Mtr.10042.1.S1_at	326,074
25	Mtr.10049.1.S1_at	288,029

	A	B	C
1			
2	Probeset	RT_drought_10d (Root drought 10d)	
3	Mtr.10045.1.S1_at	1225,46	
4	Mtr.10007.1.S1_at	1102,9	
5	Mtr.10013.1.S1_at	950,547	
6	Mtr.1.1.S1_s_at	946,032	
7	Mtr.10009.1.S1_at	825,792	
8	Mtr.10001.1.S1_s_at	758,628	
9	Mtr.10088.1.S1_at	695,058	
10	Mtr.10067.1.S1_s_at	668,607	
11	Mtr.10030.1.S1_at	657,188	
12	Mtr.10042.1.S1_at	626,661	
13	Mtr.10072.1.S1_at	583,053	
14	Mtr.10010.1.S1_at	582,062	
15	Mtr.10044.1.S1_at	570,14	
16	Mtr.10079.1.S1_at	445,025	
17	Mtr.10019.1.S1_at	408,931	
18	Mtr.10041.1.S1_at	407,17	
19	Mtr.10000.1.S1_at	392,11	
20	Mtr.10018.1.S1_at	385,351	
21	Mtr.10077.1.S1_at	348,245	
22	Mtr.10059.1.S1_at	337,783	
23	Mtr.10016.1.S1_at	337,002	
24	Mtr.10029.1.S1_s_at	327,248	
25	Mtr.10031.1.S1_at	322,024	

	A	B
1		
2	Probeset	RT_drought_14d (Root drought 14d)
3	Mtr.10045.1.S1_at	1285,88
4	Mtr.10007.1.S1_at	1203,3
5	Mtr.1.1.S1_s_at	977,971
6	Mtr.10013.1.S1_at	817,047
7	Mtr.10001.1.S1_s_at	782,99
8	Mtr.10042.1.S1_at	782,018
9	Mtr.10044.1.S1_at	744,816
10	Mtr.10030.1.S1_at	651,614
11	Mtr.10088.1.S1_at	638,592
12	Mtr.10067.1.S1_s_at	635,793
13	Mtr.10010.1.S1_at	626,788
14	Mtr.10072.1.S1_at	576,367
15	Mtr.10000.1.S1_at	525,503
16	Mtr.1.1.S1_at	509,152
17	Mtr.10022.1.S1_at	456,096
18	Mtr.10079.1.S1_at	439,677
19	Mtr.10041.1.S1_at	413,298
20	Mtr.10006.1.S1_at	393,643
21	Mtr.10066.1.S1_at	359,881
22	Mtr.10031.1.S1_at	349,594
23	Mtr.10018.1.S1_at	342,865
24	Mtr.10016.1.S1_at	315,569
25	Mtr.10048.1.S1_at	313,234

Batch Download by Experiment

mtgea.noble.org/v3/experiments.php

**NOBLE RESEARCH INSTITUTE**  
Noble Research Institute | *Mt* Gene Expression Atlas  
*Medicago truncatula* Gene Expression Atlas

Current Version: V3 (Feb 2015)  
# of Experiments: 274  
# of GeneChips: 739

Quick Search:  
Probeset ID:

**MtGEA:**  
[Home / Introduction](#)  
[Microarray Sample Selection](#)  
[Multi-transcript Viewer](#)  
Search by...  

- [Probeset ID](#)
- [Homolog Probeset ID](#)
- [Gene Annotation...](#)
  - [Gene ID](#)
  - [Gene Description](#)
  - [GO Annotation](#)
  - [Protein Domain](#)
  - [KEGG Annotation](#)
  - [Transcription Factor Family](#)
  - [Membrane](#)
  - [Transporter Family](#)
- [Sequence Alignment \(BLAST\)](#)
- [Genomics Features \(Genome Browser\)](#)

 Analysis:  

- [Co-expression Analysis](#)
- [Differential Expression Analysis](#)
- [My Analysis History](#)

**Batch Download by Experiment**

The data you requested is available for direct download now. [Right-click here to save link as...](#)  
This is a tab-delimited text file. You may open it with any text editor.

This page lists the expression data by experiment (referred to as "chip", "slide" etc) and you can download all expressions for experiments of your selection. Experiments are grouped by (authors).

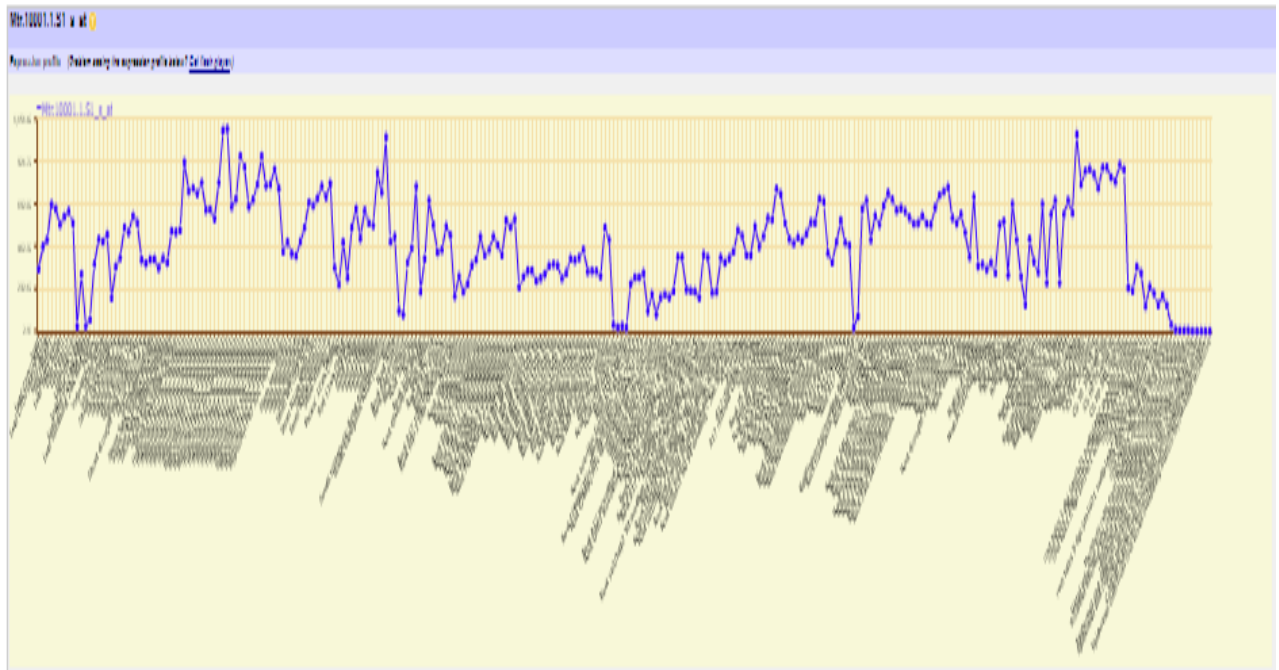
**NOTE:** The download file will be generated from the database on the fly. Please be expecting a large data set.

**Balzergue et al., unpublished**

Hypocotyl A17 Organ: stem. Treatment Type: physical treatments. 10C 35C-day1:  
Selection:  Hyptl\_A17\_10C\_35C\_day1\_1  [Mean \(Hypr y1\)](#)

Hypocotyl A17 Organ: stem. Treatment Type: physical treatments. 10C 35C-day2:  
Selection:  Hyptl\_A17\_10C\_35C\_day2\_1  [Mean \(Hypr y2\)](#)

Hypocotyl F83 Organ: stem. Treatment Type: physical treatments. 10C 35C-day1:



- Les 20 gènes ont été choisis pour créer un arbre phylogénétique:

Ces valeurs ont été enregistrés par le profil d'expression afficher par flash player .

Etre élevé en 10h et faible en 0h dans le cas de NaCl 200mM

Etre élevé en 14d et faible en 2d dans le cas de Root drought .

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
		0h(NaCl)	1h(NaCl)	2h(NaCl)	5h(NaCl)	10h(NaCl)	Root drought 2d:	Root drought 3d:	Root drought 4d:	Root drought 7d:	Root drought 10d:	Root drought 14d:
1												
2												
3	Mtr,10048,1,S1_at	149.78	139.07	138.28	171.31	185.91	123.82	154.3	274.82	217.93	252.86	313.23
4	Mtr,10029,1,S1_s_at	301.68	371.64	542.3	622.39	728.83	176.86	217.17	345.11	322.82	327.25	296.06
5	Mtr,10045,1,S1_at	526.58	1864.23	4185.25	4237.18	2618.68	465.45	763.69	1030.27	1220.63	1225.46	1285.88
6	Mtr,10044,1,S1_at	55.6	58.3	83.31	159.34	244.57	44.2	45.71	154.21	331.78	570.14	744.82
7	Mtr,10018,1,S1_at	627.92	620.97	577.72	622.78	769.64	240.04	253.92	380.6	426.53	385.35	342.87
8	Mtr,10030,1,S1_at	312.14	342.59	583.47	678.96	629.83	408.03	427.78	554.05	586.05	657.19	651.61
9	Mtr,10049,1,S1_at	302.95	161.66	369.26	766.25	532.16	164.51	168.82	233.09	249	232.96	245.59
10	Mtr,10068,1,S1_at	107.64	132	147.87	172.74	173.9	126.01	123.56	119.6	108.58	117.28	141.44
11	Mtr,10066,1,S1_at	95.81	107.37	107.71	140.79	134.93	132.98	139.48	195.19	257.6	270.32	359.88
12	Mtr,10029,1,S1_at	33.64	45.2	58.86	69.65	110.65	30.21	39.48	53.13	50.22	64.12	58.09
13	Mtr,10000,1,S1_at	328.63	284	305.75	399.88	396.38	234.77	271.83	329.75	366.88	392.11	525.5
14	Mtr,10058,1,S1_at	40.21	46.43	24.49	59.01	82.53	41.37	49.76	154.94	90.47	78.87	47.31
15	Mtr,1,1,S1_s_at	401.05	424.91	469.37	526.85	438.53	555.88	755.05	975	949.69	946.03	977.97
16	Mtr,10006,1,S1_at	209.24	137.18	352.82	446.98	365.43	146.8	237.15	356.92	291.07	316.09	393.64
17	Mtr,10010,1,S1_at	472.89	345.17	487.4	491.82	484.66	474.61	453.29	557.59	565.01	582.06	626.79
18	Mtr,10084,1,S1_at	46.67	52.58	79	87.14	94.62	53.64	45.59	77.59	82.53	91.45	97.77
19	Mtr,10107,1,S1_at	66.52	93.43	125.36	139.17	140.06	115.98	153.68	201.64	141.87	139.87	121.77
20	Mtr.1018.1.S1_s_at	733.91	738.49	1101.57	1111.64	1045.54	864.51	775.89	780.24	749.63	798.33	886.84
21	Mtr.10200.1.S1_at	279.52	446.35	504.82	547.78	584.71	360.43	535.58	612.28	478.82	485.51	574.13
22	Mtr.10026.1.S1_s_at	108.94	82.23	98.13	86.09	123.08	146.07	157.31	194.58	167.72	159.47	171.3
23												



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



I Résultat

Le résultat est un arbre phylogénétique de 20 gènes impliqués dans la tolérance au stress salin de medicago truncatula qui a été traité par logiciel R studio :

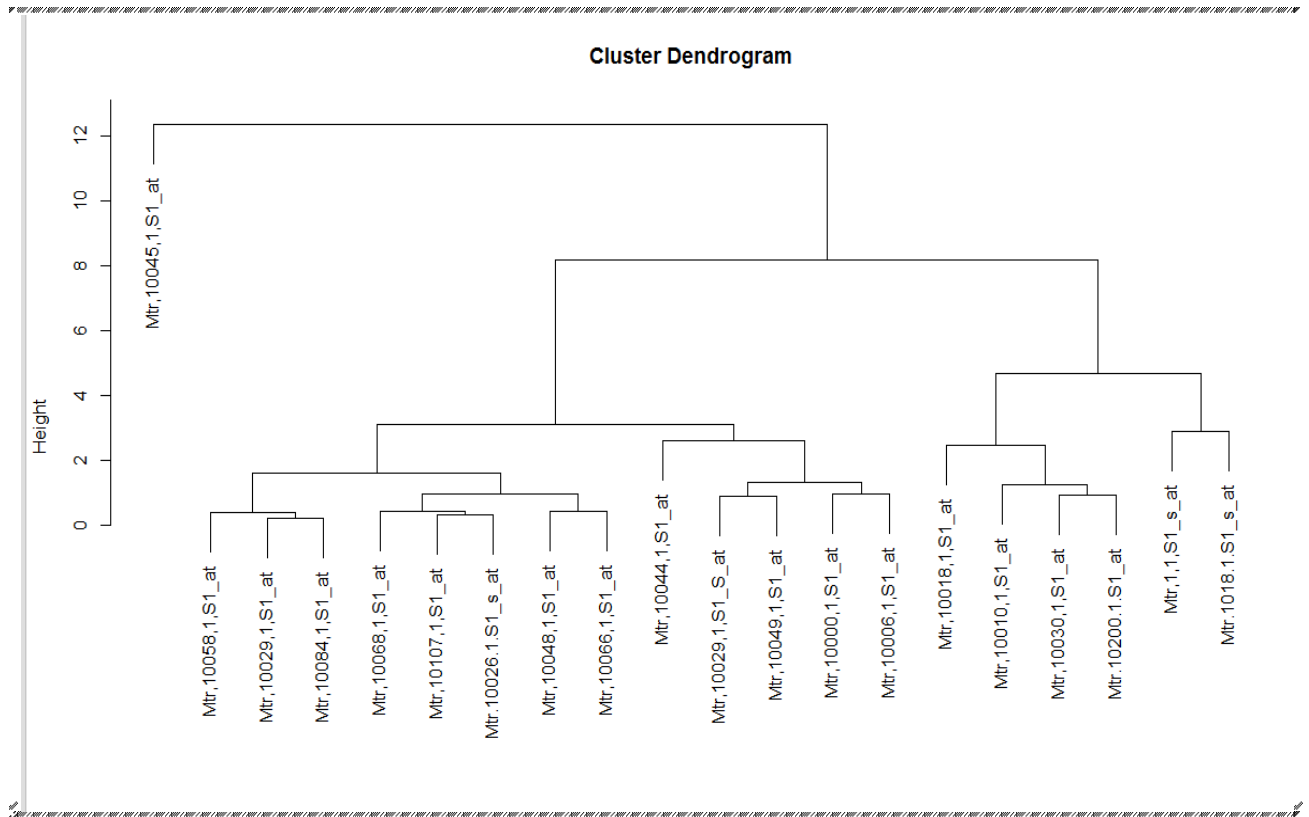


Tableau 1: les fonctions des gènes (Probset).

Probset :	Transcript ID :	Description :
Mtr.10045.1.S1_at	Medtr3g449620.1	polyamine oxidase-likeprotein
Mtr.10029.1.S1_S_at	Medtr5g032720.1	MATE efflux familyprotein
Mtr.10048.1.S1_at	Medtr8g463650.2 Medtr8g463650.4 Medtr8g463650.3 Medtr8g463650.1	P-loopnucleoside triphosphate hydrolase superfamilyprotein
Mtr.10044.1.S1_at	No information	No information available

	<i>available</i>	
Mtr.10018.1.S1_at	Medtr1g030265.1	GDSL-like lipase/acylhydrolase
Mtr.10030.1.S1_at	Medtr4g116460.1 Medtr4g116460.2	zinc finger, C3HC4 type (RING finger) protein
Mtr.10049.1.S1_at	Medtr2g099040.1 Medtr2g099040.4 Medtr2g099040.2 Medtr2g099040.3	electrontransferflavoproteinubiquinoneoxidoreduct ase
Mtr.10068.1.S1_at	Medtr3g111090.1	symplekintightjunctionproteincarboxy-terminal protein
Mtr.10066.1.S1_at	Medtr2g014890.1	Hypothetical protein
Mtr.10029.1.S1_at	<i>No information available.</i>	<i>No information available.</i>
Mtr.10000.1.S1_at	Medtr7g102610.1	PHD zinc finger protein
Mtr.10058.1.S1_at	Medtr5g074270.1	GDSL-like lipase/acylhydrolase
Mtr.1.1.S1_s_at	Medtr5g029640.1	RNA recognition motif, a.k.a. RRM, RBD protein
Mtr.10006.1.S1_at	Medtr3g085130.1 Medtr3g085130.2	cytokininreceptor histidine kinase
Mtr.10010.1.S1_at	Medtr1g029400.2 Medtr1g029400.1	Transcriptional corepressor SEUSS-likeprotein
Mtr.10084.1.S1_at	Medtr2g104760.1	F-box/LRR protein
Mtr.10107.1.S1_at	Medtr8g093870.1	Pmr5/Cas1p GDSL/SGNH-likeacyl-esterase family protein
Mtr.1018.1.S1_s_at	Medtr3g096310.4 Medtr3g096310.2	GDP-mannose transporter GONST1 GDP-mannose transporter GONST1

	Medtr3g096310.1 Medtr3g096310.3 Medtr5g005320.1	GDP-mannose transporter GONST1 GDP-mannose transporter GONST1 GDP-mannose transporter GONST2
Mtr.10200.1.S1_at	Medtr7g079510.2 Medtr7g079510.1	transmembrane protein, putative
Mtr.10026.1.S1_s_a t	Medtr0249s0070. 2 Medtr0249s0070. 3 Medtr0249s0070. 4 Medtr0249s0070. 1	zinc finger A20 and AN1 domain stress-associated protein

Au niveau de distance d=12 on a un clade qui défini deux groupe majeurs des gènes :

**1<sup>er</sup> groupee:**

Tableau2 : représenter 1<sup>er</sup> groupe du 1<sup>er</sup> clade de la distance 12.

Probset :	Transcript ID :	Description :
Mtr.10045.1.S1_at	Medtr3g449620.1	Polyamine oxidase-like protein

**2<sup>eme</sup> groupee:**

Tableau 3 : représenter 2<sup>eme</sup> groupe du clade de la distance 12.

Mtr.10029.1.S1_S_at	Medtr5g032720.1	MATE efflux family protein
Mtr.10048.1.S1_at	Medtr8g463650.2 Medtr8g463650.4 Medtr8g463650.3 Medtr8g463650.1	P-loop nucleoside triphosphate hydrolase super family protein

Mtr.10044.1.S1_at	<i>No information available</i>	<i>No information available</i>
Mtr.10018.1.S1_at	Medtr1g030265.1	GDSL-like lipase/acylhydrolase
Mtr.10030.1.S1_at	Medtr4g116460.1 Medtr4g116460.2	zinc finger, C3HC4 type (RING finger) protein
Mtr.10049.1.S1_at	Medtr2g099040.1 Medtr2g099040.4 Medtr2g099040.2 Medtr2g099040.3	electrontransfer flavoprotein ubiquinone oxidoreductase
Mtr.10068.1.S1_at	Medtr3g111090.1	Symplekintightjunction proteincarboxy-terminal protein
Mtr.10066.1.S1_at	Medtr2g014890.1	Hypothetical protein
Mtr.10029.1.S1_at	<i>No information available.</i>	<i>No information available.</i>
Mtr.10000.1.S1_at	Medtr7g102610.1	PHD zinc finger protein
Mtr.10058.1.S1_at	Medtr5g074270.1	GDSL-like lipase/acylhydrolase
Mtr.1.1.S1_s_at	Medtr5g029640.1	RNA recognition motif, a.k.a. RRM, RBD protein
Mtr.10006.1.S1_at	Medtr3g085130.1 Medtr3g085130.2	Cytokinin receptor histidine kinase
Mtr.10010.1.S1_at	Medtr1g029400.2 Medtr1g029400.1	Transcriptional corepressor SEUSS-likeprotein
Mtr.10084.1.S1_at	Medtr2g104760.1	F-box/LRR protein
Mtr.10107.1.S1_at	Medtr8g093870.1	Pmr5/Cas1p GDSL/SGNH- likeacyl-esterase family protein

Mtr.1018.1.S1_s_at	Medtr3g096310.4 Medtr3g096310.2 Medtr3g096310.1 Medtr3g096310.3 Medtr5g005320.1	GDP-mannose transporter GONST1 GDP-mannose transporter GONST1 GDP-mannose transporter GONST1 GDP-mannose transporter GONST1 GDP-mannose transporter GONST2
Mtr.10200.1.S1_at	Medtr7g079510.2 Medtr7g079510.1	transmembrane protein, putative
Mtr.10026.1.S1_s_at	Medtr0249s0070.2 Medtr0249s0070.3 Medtr0249s0070.4 Medtr0249s0070.1	zinc finger A20 and AN1 domain stress-associated protein

\*au niveau de distance d=8 on a un clade qui défini deux groupe majeurs des gènes :

**1<sup>er</sup> groupee :**

**Tableau 4:** représenter 1<sup>er</sup> groupe du clade de la distance 8.

Probset :	Transcript ID :	Description :
Mtr.1018.1.S1_s_at	Medtr3g096310.4 Medtr3g096310.2 Medtr3g096310.1 Medtr3g096310.3 Medtr5g005320.1	GDP-mannose transporter GONST1 GDP-mannose transporter GONST1 GDP-mannose transporter GONST1 GDP-mannose transporter GONST1 GDP-mannose transporter GONST2
Mtr.10010.1.S1_at	Medtr1g029400.2 Medtr1g029400.1	Transcriptional corepressor SEUSS-likeprotein

Mtr.10030.1.S1_at	Medtr4g116460.1 Medtr4g116460.2	zinc finger, C3HC4 type (RING finger) protein
Mtr.10200.1.S1_at	Medtr7g079510.2 Medtr7g079510.1	transmembrane protein, putative
Mtr.1.1.S1_s_at	Medtr5g029640.1	RNA recognition motif, a.k.a. RRM, RBD protein
Mtr.10018.1.S1_at	Medtr1g030265.1	GDSL-like lipase/acylhydrolase

**2<sup>ème</sup> groupe:**

**Tableau5** : représenter 2<sup>ème</sup> groupe du clade de la distance 8.

Mtr.10006.1.S1_at	Medtr3g085130.1 Medtr3g085130.2	cytokininreceptor histidine kinase
Mtr.10058.1.S1_at	Medtr5g074270.1	GDSL-like lipase/acylhydrolase
Mtr.10029.1.S1_at	<i>No information available.</i>	<i>No information available.</i>
Mtr.10084.1.S1_at	Medtr2g104760.1	F-box/LRR protein
Mtr.10068.1.S1_at	Medtr3g111090.1	symplekintightjunctionproteincarboxy-terminal protein
Mtr.10107.1.S1_at	Medtr8g093870.1	Pmr5/Cas1p GDSL/SGNH-likeacyl-esterase family protein
Mtr.10026.1.S1_s_at	Medtr0249s0070.2 Medtr0249s0070.3 Medtr0249s0070.4 Medtr0249s0070.1	zinc finger A20 and AN1 domain stress- associatedprotein
Mtr.10048.1.S1_at	Medtr8g463650.2 Medtr8g463650.4 Medtr8g463650.3 Medtr8g463650.1	P-loopnucleoside triphosphate hydrolase superfamilyprotein
Mtr.10066.1.S1_at	Medtr2g014890.1	Hypothetical protein

Mtr.10044.1.S1_at	No information available	No information available
Mtr.10029.1.S1_S_at	Medtr5g032720.1	MATE efflux familyprotein
Mtr.10049.1.S1_at	Medtr2g099040.1 Medtr2g099040.4 Medtr2g099040.2 Medtr2g099040.3	electrontransferflavoproteinubiquinoneoxidoreductase
Mtr.10000.1.S1_at	Medtr7g102610.1	PHD zinc finger protein

Au niveau de distance d=5 on a un clade qui défini deux groupe majeurs des gènes:

**1<sup>er</sup> groupe :**

**Tableau 6:** représenter 1<sup>er</sup> groupe du clade de la distance 5.

Probset :	Transcript ID :	Description :
Mtr.1.1.S1_s_at	Medtr5g029640.1	RNA recognition motif, a.k.a. RRM, RBD protein
Mtr.1018.1.S1_s_at	Medtr3g096310.4	GDP-mannose transporter GONST1
	Medtr3g096310.2	GDP-mannose transporter GONST1
	Medtr3g096310.1	GDP-mannose transporter GONST1
	Medtr3g096310.3	GDP-mannose transporter GONST1
	Medtr5g005320.1	GDP-mannose transporter GONST2

**2<sup>ème</sup> groupe:**

**Tableau 7:** représenter 2<sup>ème</sup> groupe du clade de la distance 5.

Probset :	Transcript ID :	Description :
Mtr.10018.1.S1_at	Medtr1g030265.1	GDSL-like lipase/acylhydrolase
Mtr.10010.1.S1_at	Medtr1g029400.2 Medtr1g029400.1	Transcriptional corepressor SEUSS-likeprotein
Mtr.10030.1.S1_at	Medtr4g116460.1 Medtr4g116460.2	zinc finger, C3HC4 type (RING finger) protein
Mtr.10200.1.S1_at	Medtr7g079510.2 Medtr7g079510.1	transmembrane protein, putative

Au niveau de distance d=3 on a un clade qui définit deux groupes majeurs des gènes :

**1<sup>er</sup> groupe:**

**Tableau 8:** représenter 1<sup>er</sup> groupe du clade de la distance 3.

Probset :	Transcript ID :	Description :
Mtr.10058.1.S1_at	Medtr5g074270.1	GDSL-like lipase/acylhydrolase
Mtr.10029.1.S1_at	<i>No information available.</i>	<i>No information available.</i>
Mtr.10084.1.S1_at	Medtr2g104760.1	F-box/LRR protein
Mtr.10068.1.S1_at	Medtr3g111090.1	symplekintightjunctionproteincarboxy-terminal protein
Mtr.10107.1.S1_at	Medtr8g093870.1	Pmr5/Cas1p GDSL/SGNH-likeacyl-esterase family protein
Mtr.10026.1.S1_s_at	Medtr0249s0070.2	zinc finger A20 and AN1 domain



	Medtr0249s0070.3 Medtr0249s0070.4 Medtr0249s0070.1	stress-associatedprotein
Mtr.10048.1.S1_at	Medtr8g463650.2 Medtr8g463650.4 Medtr8g463650.3 Medtr8g463650.1	P-loopnucleoside triphosphate hydrolase super family protein
Mtr.10066.1.S1_at	Medtr2g014890.1	Hypothetical protein

**2<sup>ème</sup> groupee:**

**Tableau 9:** représenter 2<sup>ème</sup> groupe du clade de la distance 3.

Probset :	Transcript ID :	Description :
Mtr.10044.1.S1_at	<i>No information available</i>	<i>No information available</i>
Mtr.10029.1.S1_S_at	Medtr5g032720.1	MATE efflux familyprotein
Mtr.10049.1.S1_at	Medtr2g099040.1 Medtr2g099040.4 Medtr2g099040.2 Medtr2g099040.3	electrontransferflavoproteinubiquinoneoxidoreduc tase
Mtr.10000.1.S1_at	Medtr7g102610.1	PHD zinc finger protein
Mtr.10006.1.S1_at	Medtr3g085130.1 Medtr3g085130.2	cytokininreceptor histidine kinase

**Discussion:**

le groupe 1 de distance d=12 jeu un rôle essentiel dans la floraison ,le développement, La sénescence (Sobieszczuk-Nowicka et .,2015 ; Sobieszczuk-Nowicka ,2017) et la réponse au

stress abiotique (salin) , ( Liu et al .,2015 ;Montilla-Bascon et al .,2017)parc qu' il contient les bases azotés aliphatiques les polyamines ( Ahmed et al .,2017).

Le groupe 2 formé de un 19 gène sont des transporteurs et des facteurs de transcription travail de manière intégrée lors de exposition de la plante au stress salin et lui résisté, chaque un son fonction.

Le groupe 1 de distance d=8 qui ont des fonctions multiples et complémentaires représentées dans la transmission d'informations de l'environnement externe vers l'environnement interne (transmission de signaux biologiques) et certains d'entre eux transportent des sucres et des nucléotides nécessaires dans le métabolisme de la cellule. Et également représenté dans la régulation et la reproduction des cellules et contrôlant leur division au cours de la croissance, ainsi que dans le rôle du facteur de transcription et de sa régulation et dans la stabilité des protéines.

Le groupe 2 de distance d=8. Chaque gène a un rôle efficace dans le contrôle du cycle cellulaire, qui est représenté dans la transcription des gènes, le développement et la croissance des racines de la plante *Medicago truncatula*, la tolérance au stress salin, la pression osmotique et la résistance à la sécheresse, ainsi que ceux qui ont des fonctions de base dans les mécanismes physiologiques et le métabolisme de la plante.

Ces gènes contribuent à la résistance et la tolérance de la plante mt à la salinité en fonction de son hôte.

Le groupe 1 de distance d=5 :

- **Mtr.1018.1.S1 s at** : Il agit comme un transporteur d'informations de l'environnement externe vers le support interne. (Anantharaman V, Aravind L; Biol Direct. 2010)
- **Mtr.1.1.S1 s at**: sa fonction est d'être un facteur de liaison et de transcription ARN, et il agit également pour réguler sa stabilité et sa traduction. (*reviews . Molecular CellBiology*, vol. 8, n° 6, juin 2007, p. 479).
- le groupe 2 de distance d=5 :
- **Mtr.10200.1.S1 at** : il agit comme un transporteur et convertit les signaux biologiques présents dans la cellule. (Anantharaman V, Aravind L; Biol Direct. 2010)
- **Mtr.10030.1.S1 at** : sa fonction est d'être un facteur de transcription en abondance dans les génomes eucaryotes et a un rôle important dans la stabilité des protéines.(Berg JM, Shi Y 1996)
- **Mtr.10010.1.S1 at** : Il a pour fonction de réguler la prolifération cellulaire dans la plaque de pétales en développement et le développement du bord médian, il régule également

la forme des pétales et contrôle la division cellulaire au fur et à mesure de leur croissance.

(Sridhar V.V., Surendrarao A., Gonzalez D., Conlan R.S., Liu Z., 2004)

- **Mtr.10018.1.S1 at** : c'est enzyme qui décompose l'eau . (Akoh CC, Lee GC, Liaw YC, Huang TH, Shaw JF ProgLipidRes. ,2004)

le groupe 1 de distance d=3

- **Mtr.10066.1.S1 at et Mtr.10048.1.S1 at** : Il se trouve dans les replis protéiques attachés aux nucléotides (STAND.,2004) et a un rôle dans l'hydrolyse de la liaison. (Kumar K, Prakash A, Tasleem M, Islam A, Ahmad F, Hassan MI.,2014).

- **Mtr.10026.1.S1. s .at** : Il a pour fonction de résister au sel et à la pression osmotique et a une association avec le stress C'est un gène qui est régulé par une sous-culture répressive et tolérant la sécheresse.(Christine Gimeno-Gilles 1, Marie-Laure Gervais, Elisabeth Planchet, Pascale Satour, Anis M Limami.,2011)

- **Mtr.10107.1.S1 at**: modifie les biopolymères à la surface cellulaire tels que: les glycanes et glycoprotéines. (Bischoff V, Selbig J, Scheible WR;, Plant Signal Behav. 2010)

**Mtr.10068.1.S1 at**: Il fonctionne sur la transcription des gènes et la polarité cellulaire et est perméable à se propager à travers l'espace à côté de la cellule entre les cellules voisines. (Zihni C, Mills C, Matter K., 2016)

- **Mtr.10084.1.S1 at** : A un rôle dans la dégradation sélective des protéines et active l'altération du contrôle du cycle cellulaire. (Kim H.J., Oh S.A., Brownfield L., Hong S.H., Ryu H., Hwang I., Twell D., Nam H.G.,2008)

- **Mtr.10029.1.S1 at**: No information available.

- **Mtr.10058.1.S1 at**: C'est une enzyme hydrolytique qui a le type de régularité.( Akoh CC, Lee GC, Liaw YC, Huang TH, Shaw JF ProgLipidRes. 2004)

Le groupe 2 de distance d=3

- **Mtr.10044.1.S1\_** : No information available
- **Mtr.10029.1.S1\_S\_at**: des fonctions de base en physiologie végétale .

- **Mtr.10049.1.S1\_at**: Il fonctionne pour relier le processus du métabolisme central à la chaîne respiratoire. ( Nicholas J. Watmough; Frank E. Frerman.,2010).

- **Mtr.10000.1.S1\_at**: travaille sur la transcription génique, la traduction et la contrebande d'ARNm. Fonctionne sur la régulation du cytosquelette et le remodelage de la chromatine. (Iwase S, Lan F, Bayliss P, de la Torre-Ubieta L, Huarte M, Qi HH, et al.)

- **Mtr.10006.1.S1\_at:** Contrôle le développement des racines et la croissance du *Medicago truncatula*. (Bleecker AB, Schaller GE Plant Physiol. 1996)

La salinité régule l'expression de nombreux gènes végétaux aux niveaux transcriptionnel et post-traductionnel au plusieurs légumineuses, dont *M. truncatula*, ont des cultivars qui se sont adaptés aux sols salins (Dipanjana Ghoch ,Quigsong lin,Xu-2017).

A graphic consisting of three overlapping rectangular layers of marbled paper. The top layer is slightly offset to the right and down, creating a 3D effect. The marbling pattern is a complex, organic, grey and white swirl. In the center of the top layer, the word "Conclusion" is written in a bold, black, serif font.

# Conclusion

## **Conclusion:**

Tout au long de la préparation de mémoire de fin d'études nous avons essayé de mettre en pratique la connaissance acquises durant nos études universitaires. Ce travail permet d'identifier des gènes impliqués dans la tolérance de la plante *Medicago truncatula* au stress salin par l'analyse *in silico* des données de transcription.

Cette identification *in silico* des gènes et des protéines responsables de la tolérance au stress salin chez cette plante, s'avère très utile. Pour cela, nous avons utilisé les bases de données (MtGEA) pour faciliter l'identification des gènes de tolérance au stress abiotiques (stress salin).

Grâce au profil d'expression dans les conditions :

- NaCl 200mM <0h,1h,2h,5h,10h>.
- Root drought <2d, 3d,4d,7d,10d,14d>.

Nous avons formé un arbre phylogénétique (logiciel R studio) constitué de 20 gènes qui sont regroupés dans plusieurs clades.

Chaque clade est défini un groupe des gènes ayant des rôles très importants dans la réponse et tolérance de la plante *Medicago truncatula* au stress salin.

Ces gènes contribuent à la résistance et la tolérance de la plante mt à la salinité en fonction de son hôte.

Cette étude également confirmé le rôle important qui joue les facteurs de transcriptions dans la tolérance de *Medicago truncatula* au stress salin.

- **Perspective:**

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

L'analyse de transcriptome ouvre perspective dans la compréhension et l'analyse de l'expression différentielle des gènes impliqués dans ce type de stress et d'autres types.

Pour identifier les gènes de la tolérance au stress salin ou autre stress et les fonctions de ses gènes on peut utiliser des bases de données moléculaires disponibles dans le web (NCBI et EMBL-EBI).

L'identification de la fonction des gènes qui est étudié dans ce travail peut être déterminé à la combinaison de plusieurs approches expérimentales qu'elles soient informatiques (analyse *in silico*) ou bien de nature biochimique ou génétique (analyses *in vivo* et *in vitro*). Ces différentes approches sont clairement complémentaires, les conclusions et les résultats pouvant être confirmées ou infirmées par l'autre.

A graphic consisting of three overlapping rectangular frames with a wavy bottom edge. The frames are filled with a light-colored marbled paper pattern. The text is centered within the innermost frame.

**Références  
bibliographiques**



## Références bibliographiques

**Abdelguerfi A ., 1994 .** Auto écologie de quelques légumineuses spontanées d'intérêt fourrager et pastoral en Algérie .in « Facteurs limitant la fixation symbiotique dans le bassin méditerranéen ». Montpellier, les colloques de l'INRA.

**Anantharaman V., Aravind L., 2010 .**Biologie Direct Noveleukaryotic enzymes modifyingcell-surfac biopolymers. PUBMED:20056006 EPMC:20056006

**Assmann S., M Snyder J., A Etle., Y J., 2000.** ABA-deficient (aba1) and ABAinsensitive (abi1-1, abi2-1) mutants of Arabidopsis have a wild-type stomatal reponse to humidity. Plant Cell Environ, 23: p. 387-395.

**Bischoff V., Selbig J., Scheible WR., Plant Signal Behav., 2010 .** Epubahead of print. InvolvementofTBL/DUF231proteinsintocellwallbiology. PUBMED:20657172 EPMC:20657172.

**Blondon F ., Marie D., Brown S., Kondorosi A., 1994.** Genome size and base composition in Medicago sativa and M. truncatula species. Genome, 37: p. 264-70.

**Bonnin I .,Huguet T., Ghérardi M., ProspériJM., Oliviéri I., 1996.** High level of polymorphism and spatial structure in a selfing plant species Medicago truncatula Gaertn. Using RAPDs markers. Am J Bot, 83: p. 843-55.

**Brunel S ., 2008.** Caractérisation écophysiological de différents génotypes de medicago truncatula au cours des phases de germination et de croissance hétérotrophe. Thèse de doctorat en sciences agronomiques d'angers.

**Delalande M., Greene S., Hughes S., Nair R., Huguet T., Aouani M.E., Prospero J.M., 2007.** Wild accessions / populations Medicago truncatula handbook. Pp. 1-27.

**Galibert F., et al., 2001.** The composite genome of the legume symbiont Sinorhi zobium meliloti. Science, 293: p. 668-72.

**Lesins K., Lesins I., 1979.** Genus Medicago (Leguminosae), a taxogenetic study. Plant ecology, 50 : p. 228- 229.

**Singla S., Krattinger G.,2016.** in Encyclopedia of Food Grains. (Second Edition).

**The Arabidopsis Genome Initiative ., 2000.** Analysis of the genome sequence of the flowering plant Arabidopsis thaliana. Nature, 408: p.796-815.

**Udvardi Mk., (2001).** Legume model sstruttheirstuff. Mol Plant Microbe Interact, 14: p. 6-9.

**Vicky Buchanan-Wollaston1., 1996.** Plant Molecular Biology Laboratory. Department of Biological Sciences. Wye College.University of London. Wye, Ashford. Kent TN255AH.UK Received 27 March 1996. Accepted 30 August 1996.

## Résumé

Le présent travail a concentré sur l'analyse in silico des données de transcription et identifier des gènes impliqués dans la tolérance au stress salin par chez la plante modèle *medicago truncatula* .et cela en utilisant le profile d'expression des gènes en certain condition (NaCl 200mM <0h,1h,2h,5h,10h>, Root drought <2d,3d,4d,7d,10d,14d>).

Et puis en choisissant des gènes candidats ayant des expressions similaires dans ces condition .

Et puis regroupé ces gènes entre eux dans un arbre phylogénétique en utilisant la programmation avec le programme (R studio).

Les résultats ont démontrés par l'arbre phylogénétique des gènes qui se comporte de manière convergente et quelque peu similaire dans la résistance de la plante aux différents conditions. Leurs fonctions permettent à la plante *medicago truncatula* de faire face au stress salin .

### **Mots clés:**

*medicago truncatula*, stress salin, l'expression des genes.

## ملخص:

ركز العمل الحالي على التحليل السليكي لبيانات النسخ وتحديد الجينات المشاركة في تحمل الإجهاد الملحي في نموذج نبات ميديكاغو *truncatula* وهذا باستخدام ملف تعريف الجينات في ظروف معينة (كلوريد الصوديوم 200 م <0 س ، 1 س ، 2 س ، 5 س ، 10 س> ، جفاف الجذر <2 d ، 3d ، 4d ، 7d ، 10d ، 14d>).

ثم باختيار الجينات المرشحة لدينا تعبيرات متشابهة في هذه الظروف.

ثم جمعت هذه الجينات مع بعضها في شجرة النشوء والتطور باستخدام البرمجة مع برنامج (R

studio)

تم توضيح النتائج من خلال شجرة النشوء والتطور للجينات التي تتصرف بشكل متقارب ومتشابه إلى حد ما في مقاومة النبات للظروف المختلفة. تسمح وظائفهم لنبات ميديساغو *truncatula* بالتعامل مع إجهاد الملح.

الكلمات الدالة: إجهاد الملح ، التعبير الجيني ، قصة برميلية.

**Abstract:**

The present work focused on the in silico analysis of transcription data and identifying genes involved in salt stress tolerance in the model plant *medicago truncatula*. And this by using the expression profile of genes in certain conditions (NaCl 200mM <0h, 1h, 2h, 5h, 10h>, Root drought <2d, 3d, 4d, 7d, 10d, 14d>).

And then by choosing candidate genes we have similar expressions in these conditions.

And then grouped these genes together in a phylogenetic tree using the programming with the program (R studio)

The results were demonstrated by the phylogenetic tree of genes that behaves convergently and somewhat similarly in the resistance of the plant to different conditions. Their functions allow the *medicago truncatula* plant to cope with salt stress.

Keywords: *medicago truncatula*, salt stress, gene expression.