



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



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

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Appliquée

قسم : البيولوجيا التطبيقية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Bioinformatique

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Comparaison entre les séquences des légumineuses et des céréales

Présenté par :

DJEZZAZ Lamis

GUEDOUAH Ouissal Aridj

Le : 25/06/2025

Jury d'évaluation :

Président : Dr.GHERBOUDJ. O (MCA) (U.Constantine 1 Frères Mentouri)

Encadrant : Dr.AMINE KHODJA.I R (MCB) (U.Constantine 1 Frères Mentouri)

Examinateur : Dr. DJEZZAR. N (MCB) (U.Constantine 1 Frères Mentouri)

Année universitaire
2024/2025

Dédicaces

Avant tout, je rends grâce à Allah, Celui qui a entendu mes prières silencieuses, vu mes larmes discrètes, et placé sur mon chemin les bonnes personnes au bon moment.

Ma profonde gratitude va à Madame AMINE KHODJA Ihsene Rokia, mon encadrante, pour sa bienveillance, sa patience et ses conseils sincères. Vous avez su m'éclairer avec douceur et rigueur, et je vous en serai toujours reconnaissante.

À GUEDOUAH Ouissal Aridj, mon binôme, mon alliée dans ce combat silencieux...

Merci d'avoir partagé chaque étape avec moi, dans la fatigue comme dans les éclats de rire.

Ta présence a tout changé.

Et à mon trio de lumière, Khawla et Yasmine... avec moi, depuis le début, dans les moments de panique, de joie, de doute, dans les couloirs, les cafés, les regards qui en disent long sans rien dire. Ce trio, c'était notre force.

Vous étiez ma respiration dans l'étouffement, mes repères dans le flou.

Merci pour l'amour vrai, celui qui ne demande rien et donnant tout.

À mon père, Mohamed, ta sérénité et ton soutien silencieux m'ont portée bien plus que tu ne l'imagines.

À ma mère, Amel, mon refuge. Tes bras m'ont recueillie tant de fois, ton amour m'a soignée quand j'avais mal à l'âme.

Ce mémoire, c'est le fruit de vos sacrifices, de vos prières, de votre foi en moi.

À ma sœur, Asma, le symbole de l'amour fraternel, de la complicité, de l'amitié profonde.

Merci d'avoir été présente, d'avoir cru en moi, de m'avoir soutenue dans chaque étape de ce parcours.

À mes cousines, Sara, Douaa, Nihel... Merci d'avoir été mes amies, mes soutiens, mes complices.

Je suis Lamis, et ce mémoire, ce n'est pas qu'un devoir universitaire.

C'est un morceau de ma vie.

DJEZZAZ Lamis

Dédicaces

Je rends grâce à Allah, Le Tout-Puissant, pour les facultés qu'Il m'a accordées : la raison, la constance, la volonté. C'est par Sa grâce que ce travail a pu voir le jour, et c'est à Lui que revient toute louange, pour m'avoir guidée, soutenue et inspirée tout au long de ce parcours.

À Madame AMINE KHODJA Ihsene Rokia, mon encadrante, Je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour votre accompagnement rigoureux, votre disponibilité constante et la qualité de vos orientations scientifiques. Votre encadrement attentif et vos conseils judicieux ont constitué un appui précieux dans la réalisation de ce mémoire. Veuillez recevoir l'expression de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

À ma binôme, DJEZZAZ Lamis , Je vous remercie pour votre collaboration exemplaire, votre implication constante et votre sérieux tout au long de ce travail. Votre sens de l'organisation et votre esprit de coopération ont contribué de manière significative à la qualité de ce projet. Je vous souhaite un brillant avenir, à la hauteur de vos efforts et de vos qualités humaines.

À mon père, Mourad, Je rends hommage à votre présence rassurante, votre soutien discret mais fondamental, et à la confiance que vous m'avez toujours témoignée. Votre droiture et votre constance ont été pour moi une source d'équilibre et d'inspiration.

À ma mère, Amel, Je vous adresse toute ma reconnaissance pour votre affection indéfectible, votre patience dans les moments d'incertitude et votre foi en mes capacités. Votre rôle dans ce cheminement dépasse les mots ; vous êtes la lumière de ma réussite.

À mon frère, Mouhamed, Merci pour votre soutien silencieux, vos encouragements sincères, et votre présence apaisante tout au long de ce parcours.

À mes sœurs, Alaa Arwa et Rawane Miral ,Votre spontanéité, votre tendresse et vos gestes innocents ont constitué, dans les périodes de fatigue, une source de réconfort et de motivation.

À mes amies sincères, Je vous remercie pour votre écoute, votre bienveillance et vos encouragements continus. Votre amitié, précieuse et authentique, a été un véritable soutien moral durant les étapes les plus exigeantes de ce travail.

Puisse cette modeste œuvre porter le témoignage de ma gratitude à l'égard de celles et ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à son aboutissement.

GUEDOUAH Ouissal Aridj

Remerciements

On dit souvent que le chemin compte tout autant que la destination.

*Ces années passées m'ont offert l'opportunité d'en faire l'expérience, de grandir,
d'apprendre et de surmonter de nombreux obstacles.*

*Au terme de ce travail, je souhaiterais adresser mes sincères remerciements à mon encadreur
AMINE KHODJA Ihsene Rokia, pour son précieux suivi, ses recommandations, et le soutien
constant qu'elle m'a apporté tout au long de ce mémoire.*

*Je veux également remercier Madame GHERBOUDJ Ouissemm , président du jury, et Madame
DJAZZAR Nedjma, membre du jury, d'avoir pris le temps d'évaluer ce travail.*

Leurs remarques et suggestions ont été précieuses afin d'en assurer la pertinence.

*Mes remerciements vont aussi à Monsieur ALIOUANE Salah, qui m'a aidée et soutenue
jusqu'au bout de ce projet.*

*Enfin, je n'oublie pas mes professeurs en bio-informatique, qui, par leur expérience et leur
dévouement, m'ont offert les connaissances fondamentales utilisées dans ce mémoire.*

Résumé :

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires végétaux impliqués dans divers processus biologiques, notamment dans la signalisation symbiotique entre les légumineuses et les bactéries fixatrices d'azote. Ce mémoire vise à comparer les gènes impliqués dans la biosynthèse des flavonoïdes entre deux groupes majeurs de plantes : les légumineuses symbiotiques (*Fabaceae*) et les céréales non symbiotiques (*Poaceae*). Pour cela, une base de données bio-informatique simulée, nommée FlavoSymDB, a été développée. Elle regroupe 28 gènes issus de plusieurs espèces végétales modèles (*Medicago truncatula*, *Pisum sativum*, *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare*, *Arabidopsis thaliana*) et une bactérie symbiotique (*Rhizobium leguminosarum*). Ces gènes ont été annotés, comparés, et représentés via une interface web locale conçue en HTML/CSS/JavaScript, sans serveur. Les résultats montrent une diversité génétique plus marquée et une expression plus ciblée des gènes flavonoïdes chez les *Fabaceae*, notamment dans les racines et les nodules. En revanche, les *Poaceae* présentent une expression faible et une absence d'implication dans la symbiose. Le projet FlavoSymDB offre ainsi un outil pédagogique interactif, adaptable à d'autres études comparatives en bioinformatique végétale.

Mots-clés : flavonoïdes, *Fabaceae*, *Poaceae*, gènes, symbiose, bioinformatique.

Abstract:

Flavonoids are plant secondary metabolites involved in various biological processes, particularly in the symbiotic signaling between legumes and nitrogen-fixing bacteria. This study aims to compare genes involved in the flavonoid biosynthesis pathway between two major groups of plants: symbiotic legumes (*Fabaceae*) and non-symbiotic cereals (*Poaceae*).

To achieve this, a simulated bioinformatics database named FlavoSymDB was developed. It includes 28 genes from various model plant species (*Medicago truncatula*, *Pisum sativum*, *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare*, *Arabidopsis thaliana*) and one symbiotic bacterium (*Rhizobium leguminosarum*). These genes were annotated, compared, and displayed through a local web interface built using HTML/CSS/JavaScript without any server.

The results reveal a higher genetic diversity and stronger expression of flavonoid genes in *Fabaceae*, particularly in roots and symbiotic nodules. Conversely, *Poaceae* exhibit weaker expression and no significant involvement in symbiosis. The FlavoSymDB project thus provides an interactive pedagogical tool suitable for comparative studies in plant bioinformatics.

Keywords : flavonoids, *Fabaceae*, *Poaceae*, genes, symbiosis, bioinformatics.

الملخص

تُعد الفلافونويدات من المركبات الثانوية النباتية التي تلعب أدواراً بيولوجية متعددة، أبرزها دورها في التواصلكيميائي بين النباتات البقولية والبكتيريا المثبتة للنيتروجين. يهدف هذا البحث إلى مقارنة الجينات المسئولة عن تصنيع الفلافونويدات بين مجموعتين رئيسيتين من النباتات: البقوليات التكافلية (*Fabaceae*) والحبوب غير التكافلية (*Poaceae*). لهذا الغرض، تم تطوير قاعدة بيانات الاعلام الالي الحيوي محاكية تسمى FlavoSymDB ، تضم 28 جيناً مأخوذاً من عدة أنواع نباتية نموذجية مثل (*Hordeum aestivum* ، *Triticum aestivum* ، *Pisum sativum* ، *Medicago truncatula* ، *Rhizobium vulgare* ، *Arabidopsis thaliana*) وبكتيريا تكافلية (*leguminosarum*). تم تحليل هذه الجينات، وتوصيفها، وعرضها من خلال واجهة ويب محلية مبرمجة باستخدام HTML و CSS و JavaScript.

كشفت النتائج عن تنوع جيني أكبر وتعبير وظيفي أقوى للفلافونويدات لدى البقوليات، خصوصاً في الجذور والعقد التكافلية، عكس الحبوب التي أظهرت تعبيراً ضعيفاً وعدم انخراطها في عملية التكافل. ويُعد مشروع FlavoSymDB أداة تعليمية تفاعلية قابلة للتوسيع تُسهم في دعم التعليم والبحث في مجال الاعلام الالي الحيوي النباتي.

الكلمات المفتاحية: الفلافونويدات، البقوليات، الحبوب، الجينات، التكافل، الاعلام الالي الحيوي .

LISTE DES ABREVIATIONS :

- ADN : Acide désoxyribonucléique
- AMF : Arbuscular Mycorrhizal Fungi
- AMT2.1 : Ammonium Transporter 2.1
- ARN : Acide ribonucléique
- CCaMK : Calcium and Calmodulin-dependent Kinase
- CHI : chalcone isomérase
- CHS : chalcone synthase
- CRE1 : Cytokinin Response 1
- CSSP : Common Symbiosis Signaling Pathway
- DFR : Dihydroflavonol Reductase
- DMI1 / DMI2 / DMI3 : Doesn't Make Infections
- ENOD11 / ENOD12 : Early Nodulin genes
- ERN1 : Ethylene Response Factor Required for Nodulation 1
- F3'H / F3'5'H : Flavonoid 3'-hydroxylase / Flavonoid 3',5'-hydroxylase
- F3H : flavanone-3-hydroxylase
- FLS :Flavonol Synthase
- FNS I/II : Flavone Synthase I / II
- LysM : Lysin Motif
- MtAMT2.1 : Ammonium Transporter in *Medicago truncatula*
- MtNFP / MtLYK3 : Symbiosis receptors in *Medicago truncatula*
- MtSULTR : Sulfate Transporter in *M. truncatula*
- Na CL : Chlorure de sodium
- NCBI : Le National Center for Biotechnology Information
- NCR : Nodule-specific Cysteine-Rich peptides
- NFP : Nod Factor Perception
- NIH : National Institutes of Health
- NIN : Nodule Inception
- NOD : Nucleotide-binding Oligomerization Domain proteins
- NSP1 / NSP2 : Nodulation Signaling Pathway transcription factors

- PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria
- PsSYM10 / PsSYM9 : Symbiosis receptors in *Pisum sativum*
- qRT-PCR : Quantitative Reverse Transcription PCR
- SEN1 : Senescence-related gene 1
- UGTs : udp-glucosyltransferas

Liste des figures

Figure 1 morphologie et cycle de vie d' <i>arabidopsis thaliana</i>	2
Figure 2 cycle d'azote	9
Figure 3 Sénescence du nodule	10
Figure 4 Anatomie d'une plante du pois	12
Figure 5 Les différentes étapes de l'initiation et du développement d'un nodule racinaire de légumineuse.....	15
Figure 6 Fixation biologique du diazote — Wikipédia.....	16
Figure 7 Différentes étapes de l'établissement de la symbiose rhizobia -légumineuse.	17
Figure 8 <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i> souche GB30 en microscopie électronique à balayage (à gauche) et à transmission (au centre) et morphologie des colonies sur milieu solide $\frac{1}{2}$ LA (à droite). Figure de <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i> souche GB30 en microscopie électronique à balayage (à gauche) et à transmission (au centre) et morphologie des colonies sur milieu solide $\frac{1}{2}$ LA (à droite). RESEARCHGATE	18
Figure 9 Diagramme Entité-Relation	28
Figure 10 Interface de NCBI	30
Figure 11 Interface de clustal omega	30
Figure 12 alignement flavonoïde MEDICAGO	31
Figure 13 Structure de données JavaScript représentant une espèce végétale dans FlavoSymDB	32
Figure 14 l'interface web	33

La liste tableau

Tableau 1 classification <i>Arabidopsis thaliana</i>	2
Tableau 2 classification phylogénétique des <i>fabaceae</i> selon LPWG (2017)	5
Tableau 3 Classification scientifique <i>Medicago truncatula</i>	7
Tableau 4 Classification scientifique <i>Pisum sativum</i>	12
Tableau 5 Classification scientifique <i>Rhizobium</i>	18
Tableau 6 Classifications <i>Triticum aestivum</i>	19
Tableau 7 Classifications <i>Hordeum vulgare</i>	20
Tableau 8 Relations et cardinalité	29
Tableau 9 tableaux principaux FlavoSymDB	33
Tableau 10 Comparaison des gènes flavonoïdes entre les <i>Fabaceae</i> et les <i>Poaceae</i>	37

Table des matières

I	Introduction :	1
II	<i>Arabidopsis thaliana</i> :	1
	II.1 Position systématique	2
	II.2 Intérêt en tant que modèle :	3
	II.3 Flavonoïdes chez <i>Arabidopsis Thaliana</i> :	3
	II.4 Rôle particulier en tant que modèle comparatif	3
	II.5 Importances en biologie végétale	4
III	Les légumineuses :	4
	III.1 Spécificité biologique des légumineuses :	4
	III.2 Le rôle clé des flavonoïdes dans la symbiose :	4
	III.3 Diversité génétique et évolution des voies flavonoïdes	4
	III.4 Classification phylogénétique des genres Légumineuse :	5
	III.5 La Luzerne tronquée (<i>Medicago truncatula</i>)	6
	III.6 Les étapes de la symbiose <i>medicago truncatula – rhizobium (sinorhizobium meliloti)</i> :7	
	III.6.1 Rôle des flavonoïdes dans la symbiose chez <i>Medicago truncatula</i> :	10
	III.7 Petit pois (<i>Pisum sativum</i>) :.....	11
	III.7.1 Origine et historique du petit pois :	11
	III.7.2 Position systématique	12
	III.7.3 Intérêt du Pois :	13
IV	Symbiose rhizobienne et rôle des flavonoïdes chez <i>pisum sativum</i> :	13
	IV.1.1 Le développement nodulaire :	13
V	<i>Rhizobium</i> :	14
	V.1 Présentation du genre <i>Rhizobium</i> :	14
	V.2 Les étapes de la nodulation :	14
	V.3 Intérêt agronomique et perspectives	16
	V.4 Classification du genre <i>Rhizobium</i>	18
VI	Les céréales	18
	VI.1 Blé tendre (<i>Triticum aestivum</i>).....	18
	VI.1.1 Origine et classification de blé tendre :	18
	VI.1.2 Symbiose et interactions racinaires	19
	VI.1.3 Flavonoïdes chez le blé : fonctions et biosynthèse	20
	VI.2 Orge (<i>Hordeum vulgare</i>)	20
	VI.2.1 Génome et caractéristiques moléculaires :	21
	VI.2.2 Absence de nodulation et interactions symbiotiques alternatives :	21
VII	Les flavonoïdes :	21

VII.1	Rôle des flavonoïdes dans les interactions racinaires :	21
VII.2	Intérêt scientifique et perspectives de recherche :	21
VII.3	Rôle comparé des flavonoïdes chez les légumineuses et les céréales.....	22
VIII	Matériel et méthodes :.....	25
VIII.1	Données biologiques :.....	25
VIII.2	Choix des gènes étudiés :.....	25
VIII.3	Sources et outils bio-informatiques :	26
VIII.4	Environnement technologique :	26
VIII.5	Identification et collecte des gènes :	29
VIII.6	Alignement des séquences et étude de l'homologie	30
VIII.7	Structuration des données dans une base relationnelle	31
VIII.8	Développement de l'interface web pédagogique	32
VIII.9	Analyse comparative fonctionnelle.....	33
VIII.10	Conception et modélisation de la base de données FlavoSymDB	33
IX	Résultat et Discussion :.....	36
IX.1	Résultats :	36
IX.1.1	Présentation des données génétiques.....	36
IX.1.2	Comparaison du nombre de gènes entre espèces :	36
IX.2	Discussion :	38
IX.2.1	Richesse et diversification génique chez les <i>Fabaceae</i> :	38
IX.2.2	Expression ciblée dans les tissus symbiotiques :	38
IX.2.3	Absence de spécialisation chez les céréales	38
IX.2.4	Importance pédagogique de FlavoSymDB :	38
IX.3	Conclusion et perspective :	39
IX.3.1	Perspectives :.....	39
X	Liste des références bibliographiques :.....	42

INTRODUCTION

I Introduction :

Les plantes maintiennent des communautés microbiennes dynamiques dans leur environnement, jouant un rôle crucial dans la nutrition, la croissance et la résistance au stress. Parmi ces interactions, la symbiose légumineuse–Rhizobium demeure un modèle phare : les légumineuses, telles que *Pisum sativum* et *Medicago truncatula*, hébergent des bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium leguminosarum*), permettant la conversion de N₂ atmosphérique en ammonium échangeable contre des photosynthèses (Oldroyd & Downie, 2008 ; Udvardi & Poole, 2013).

Ce processus moléculaire débute par la libération de flavonoïdes racinaires, des substances phénoliques spécifiques qui stimulent les gènes nod des bactéries, entraînant ainsi la génération des facteurs Nod. Des récepteurs LysM (NFP/LYK3 pour *M. truncatula*, PsSYM10/PsSYM9 pour *P. sativum*) détectent ces signaux, déclenchant une chaîne de signalisation calcique et la création des tuniques d'infection qui mènent à la formation de nodules où se fait la fixation de l'azote (Hassan & Mathesius, 2012 ; Liu & Murray, 2016).

La séquence complète du génome de *M. truncatula*, réalisée en 2011 (Young *et al.*, 2011), ainsi que la base de mutants accessible en ligne nous offrent un large éventail de ressources tant génétiques que fonctionnelles. *P. sativum* a également bénéficié d'analyses transcriptomiques approfondies, en particulier pour les gènes de la voie de biosynthèse des flavonoïdes, confirmés par qRT-PCR (MDPI 2022).

À l'opposé, des espèces comme *Triticum aestivum* (blé), *Hordeum vulgare* (orge) et *Arabidopsis thaliana* ne forment pas de telles symbioses. Les témoignages issus de projets de métabolomique ciblée indiquent que les flavonoïdes spécialisés (ex. isoflavones) sont très abondants dans les légumineuses comme *P. sativum* (200 composés détectés) mais nettement moins présents dans les céréales, bien que celles-ci présentent une diversité de flavonoïdes. Les études métabolomiques et transcriptomiques chez le pois montrent une abondance de flavonols, flavones, isoflavones... confirmant l'engagement spécifique de la voie des flavonoïdes dans les légumineuses.

II *Arabidopsis thaliana* :

Arabidopsis thaliana (L.) Heynh., de la famille des *Brassicaceae*, est la plante modèle par excellence en biologie végétale. Son petit génome (environ 135-157 Mb) (*Arabidopsis* Genome Initiative, 2000) et son cycle de vie court (6 semaines) en font l'espèce la plus utilisée en

recherches fondamentales de génétique, de physiologie, de métabolisme secondaire, et de développement des plantes (Jin *et al.*, 2005)

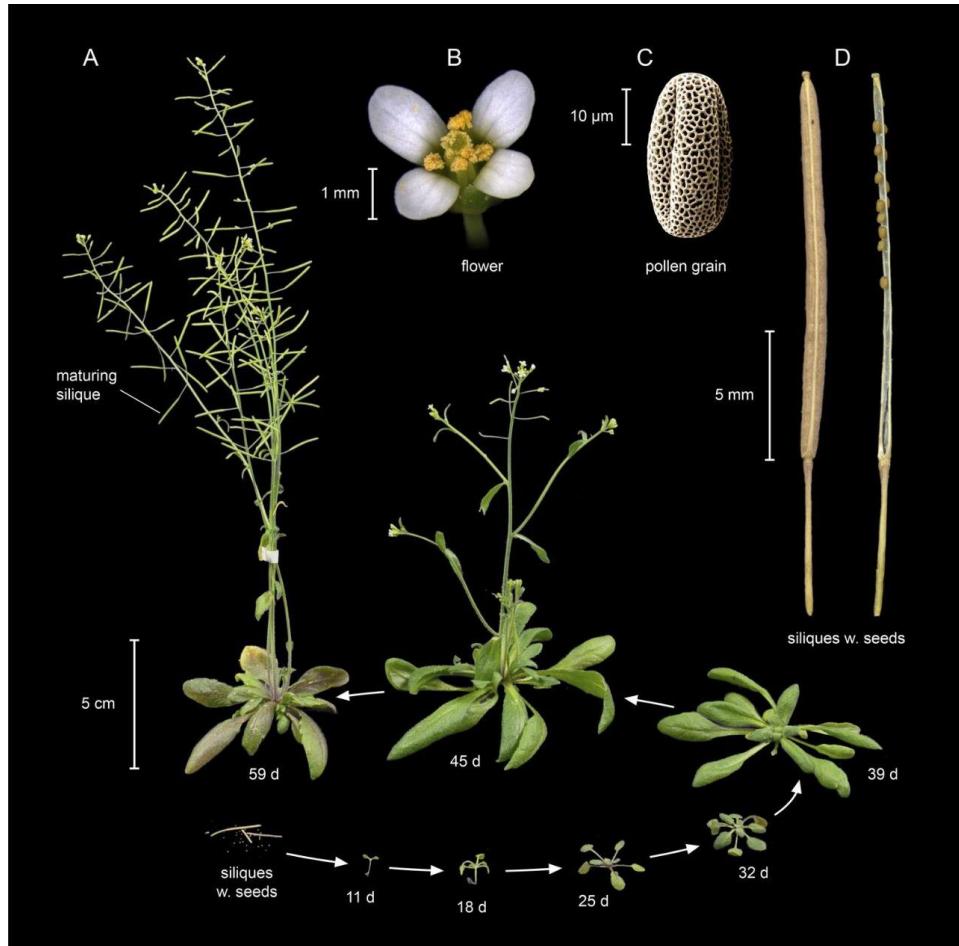


Figure 1 morphologie et cycle de vie *d'arabidopsis thaliana*

II.1 Position systématique

Tableau 1 classification *Arabidopsis thaliana*

Règne	Plantae
Embranchement	Angiospermes
Classe	<i>Eudicotylédones</i>
Ordre	<i>Brassicales</i>
Famille	<i>Brassicaceae</i>
Genre	<i>Arabidopsis</i>
Espèce	<i>A. Thaliana (L.) Heynh.</i>

II.2 Intérêt en tant que modèle :

Arabidopsis Thaliana est la plante modèle par excellence en biologie végétale en raison de : Son petit génome (environ 135-157 Mb), complètement séquencé (*Arabidopsis* Genome Initiative, 2000). Son cycle de vie court (6 semaines) (Jin *et al.*, 2005). La facilité de transformation par *Agrobacterium tumefaciens*, simplement par la Floral-Dip (Feldmann, 1991 ; Zhang *et al.*, 2006). La grande collection de mutants d'insertion T-DNA disponible, facilitant l'étude de la fonction des gènes liés, par exemple, à la biosynthèse des flavonoïdes

II.3 Flavonoïdes chez *Arabidopsis Thaliana* :

❖ Rôle des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires dérivés de la voie des phénylpropanoïdes. Ils jouent de nombreux rôles physiologiques :

- Pigmentation des tissus (comme le tégument de la graine).
- Protection contre le rayonnement UV.
- Défense contre certains pathogènes.
- Régulation de l'auxine, influençant le développement de la plante (Peer & Murphy, 2007).

❖ Voie de biosynthèse des flavonoïdes :

Elle prend son origine dans la phénylalanine, transformée par la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) en acide cinnamique. Puis, la *chalcone synthase* (CHS) catalyse l'étape clé de formation de la *naringénine-chalcone*. D'autres équipes d'enzymes (comme CHI, F3'H, FLS, DFR) vont conduire à la formation de divers flavonoïdes, anthocyanines et proanthocyanidines (Tohge & Fernie, 2017).

II.4 Rôle particulier en tant que modèle comparatif

Arabidopsis Thaliana ne forme pas de nodulation avec *Rhizobium*, ce qui en fait le modèle parfait afin d'étudier le fonctionnement de la voie des flavonoïdes en l'absence de symbiose. Ainsi, la plante sert de point de référence afin de mieux appréhender le rôle des flavonoïdes en conditions non-symbiotiques. Comparer *Arabidopsis thaliana*, qui ne forme pas de nodules, avec des légumineuses capables de symbiose avec *Rhizobium* permet de mieux comprendre le rôle des flavonoïdes, en distinguant leur fonction dans un contexte non-symbiotique et dans un contexte symbiotique.

II.5 Importances en biologie végétale

Arabidopsis Thaliana est devenu le modèle de référence pour :

- la biologie du développement
- la régulation des gènes de biosynthèse des métabolites secondaires
- l'étude des interactions plante-environnement (comme le stress UV)

III Les légumineuses :

III.1 Spécificité biologique des légumineuses :

Les *Fabaceae* (légumineuses) constituent l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs et se distinguent par leur capacité unique à établir une symbiose racinaire avec des bactéries fixatrices d'azote du genre *Rhizobium*. Cette relation mutualiste permet la formation de nodules racinaires spécialisés, où l'azote atmosphérique (N_2) est transformé en ammonium assimilable par la plante. Grâce à cette capacité, les légumineuses réduisent fortement leur dépendance aux engrains azotés, ce qui leur confère un avantage écologique et agronomique considérable (Sprent, 2001).

III.2 Le rôle clé des flavonoïdes dans la symbiose :

La mise en place de la symbiose est déclenchée par un échange de signaux chimiques entre la plante et la bactérie. Les flavonoïdes — produits secondaires spécifiques des plantes — sont excrétés par les racines des légumineuses dans la rhizosphère. Ces composés (*lutéoline*, *génistéine*, *apigénine*...) induisent les gènes *nod* chez les *rhizobia* via la protéine NodD, un facteur de transcription bactérien. Cela conduit à la synthèse des facteurs Nod, essentiels à l'infection racinaire et à l'organogenèse des nodules (Peters *et al.*, 1986 ; Oldroyd & Downie, 2008).

Exemple : chez Medicago truncatula, la lutéoline est un inducteur puissant de l'expression des gènes nod chez Sinorhizobium meliloti.

Des expériences de mutagenèse ont montré que l'interruption de la voie flavonoïde diminue fortement la nodulation, confirmant le rôle central de ces composés dans la signalisation symbiotique (Wasson *et al.* 2006)

III.3 Diversité génétique et évolution des voies flavonoïdes

La richesse des légumineuses en flavonoïdes repose sur une diversité génétique importante. Plusieurs gènes-clés interviennent dans cette voie : CHS, CHI, F3H, FLS, UGTs,

etc. Ces gènes sont souvent dupliqués dans les génomes des *Fabaceae*, ce qui leur permet de produire une gamme élargie de flavonoïdes bioactifs (LPWG, 2017 ; Dong & Song, 2020).

Les études transcriptomiques confirment une expression élevée de ces gènes dans les racines et nodules de *Pisum sativum* et *Medicago truncatula*, dès les premiers stades de l'interaction avec les *rhizobia* (Gifford *et al.*, 2018).

En revanche, les céréales (*Poaceae*) possèdent ces gènes mais leur expression est faible et leur fonction limitée à des rôles comme la pigmentation, la défense ou la photo protection, sans implication dans la symbiose (Genre *et al.*, 2020)

III.4 Classification phylogénétique des genres Légumineuse :

La famille des *Fabaceae* est une des plus vastes chez les angiospermes. Elle joue un rôle écologique et agronomique majeur grâce à sa capacité à établir une symbiose avec les bactéries fixatrices d'azote (ex. *Rhizobium*)

- Sous-familles principales :

Tableau 2 classification phylogénétique des *fabaceae* selon LPWG (2017)

Sous-famille	Exemples de genres	Caractéristiques	Statut symbiotique
<i>Papilionoideae</i> (<i>Faboideae</i>)	<i>Medicago</i> , <i>Pisum</i> , <i>Glycine</i>	Fleurs papilionacées, graines comestibles. Grande richesse en flavonoïdes.	Symbiotique avec <i>Rhizobium</i>
<i>Caesalpinioideae</i>	<i>Senna</i> , <i>Cercis</i> , <i>Delonix</i>	Groupe basal ; fleurs souvent irrégulières. Phylogénie parfois non résolue.	Partiellement symbiotique
<i>Mimosoideae</i>	<i>Acacia</i> , <i>Mimosa</i> , <i>Albizia</i>	Inflorescences globuleuses, souvent tropicales.	Symbiotique (autres bactéries)
<i>Cercidoideae</i>	<i>Cercis</i>	Arbres ou arbustes des zones tempérées ou tropicales.	Symbiose rare ou absente
<i>Detarioideae</i>	<i>Tamarindus</i> , <i>Copaifera</i>	Espèces ligneuses tropicales ; diversification ancienne.	Variable
<i>Dialioideae</i>	<i>Dialium</i> , <i>Poeppigia</i>	Sous-famille récemment reconnue. Distribution tropicale.	Peu étudiée

III.5 La Luzerne tronquée (*Medicago truncatula*)

Medicago truncatula (Gaertn.) est une légumineuse de la sous-famille des *Papilionoideae*, tribu des *Trifolieae*, largement utilisée comme organisme modèle pour l'étude des symbioses fixatrices d'azote. Classée dans la famille des *Fabaceae*, elle est proche d'espèces cultivées comme la luzerne (*Medicago sativa*) ou le pois (*Pisum sativum*) (Young et al., 2011 ; Doyle & Luckow, 2003). Son choix comme modèle biologique est motivé par plusieurs avantages : sa petite taille, un cycle de vie court (environ 90 jours), l'autofécondation, une transformation génétique efficace, et un génome relativement compact (~500 Mb) bien annoté.

Le génome complet de *M. truncatula* a été séquencé en 2011 par Young et al., révélant plus de 50 000 gènes, dont un grand nombre impliqué dans les voies de signalisation symbiotique et la biosynthèse de composés secondaires, tels que les flavonoïdes ; génome diploïde de petite taille, de son auto fertilité, de son cycle de vie court, de sa forte capacité de production de graines et de sa facilité de transformation génétique, *M. truncatula* est devenue un organisme modèle de référence pour la recherche en biologie des légumineuses (Young et al., 2011).

Cette avancée a permis une compréhension fine des mécanismes moléculaires régulant la formation des nodules racinaires, structures spécialisées dans lesquelles les bactéries symbiotiques (principalement *Sinorhizobium meliloti*) réduisent l'azote atmosphérique en ammonium utilisable par la plante (Oldroyd & Downie, 2008).

La symbiose rhizobienne chez *M. truncatula* commence par la sécrétion de flavonoïdes racinaires (ex. : *apigénine, lutéoline*) qui induisent l'expression des gènes *nod* chez *S. meliloti*, notamment *nodD*. Cette interaction déclenche la production de facteurs *Nod*, reconnus par les récepteurs de la plante tels que *MtNFP* et *MtLYK3*, localisés à la surface des cellules épidermiques (Arrighi et al., 2006). Cette reconnaissance active une cascade de signalisation intracellulaire incluant *DMI1, DMI2, DMI3, NSP1, et NSP2*, conduisant à la déformation des poils racinaires et à la formation d'un fil d'infection, à travers lequel les bactéries pénètrent les cellules végétales (Catoira et al., 2000 ; Oldroyd & Downie, 2008).

Par la suite, des gènes du développement nodulaire tels que *NIN* (Nodule Inception), *ERN1*, et *ENOD11* sont activés, coordonnant la division cellulaire dans le cortex et l'organogenèse du nodule (Marsh et al., 2007). Ce processus est crucial pour l'établissement

d'une symbiose fonctionnelle et efficace. Le développement du nodule dépend également de l'expression de transporteurs spécialisés (ex. : MtAMT2.1, MtSULTR) assurant l'échange de nutriments entre la plante et la bactéries (Limpens *et al.*, 2013).

Un autre aspect fondamental chez *M. truncatula* concerne la biosynthèse des flavonoïdes, composés phénoliques impliqués non seulement dans la signalisation symbiotique, mais aussi dans la défense et la pigmentation. Les gènes clés de cette voie incluent CHS (*chalcone synthase*), CHI (*chalcone isomerase*), F3'H, F3'5'H, et UGTs (UDP-glucosyltransférases) (Subramanian *et al.*, 2006 ; Biala *et al.*, 2017). Le profil de ces composés, et leur régulation transcriptionnelle, font l'objet de nombreuses études de transcriptomique comparée, en particulier entre légumineuses et céréales.

*Tableau 3 Classification scientifique *Medicago truncatula**

Classification scientifique :	
Règne	Plantae (Plantes)
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i> (Angiospermes)
Classe	<i>Magnoliopsida</i> (Dicotylédones)
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i> (Légumineuses)
Sous-famille	<i>Faboideae</i> (<i>Papilionoideae</i>)
Tribu	<i>Trifolieae</i>
Genre	<i>Medicago</i>
Espèce	<i>Medicago truncatula</i>

III.6 Les étapes de la symbiose *medicago truncatula – rhizobium (sinorhizobium meliloti)* :

La symbiose entre *Medicago truncatula* et *Sinorhizobium meliloti* est un processus finement réglé en plusieurs étapes successives. Elle aboutit à la formation de nodules racinaires capables de fixer l'azote atmosphérique.

- Perception initiale et signalisation chimique :

Les racines de *M. truncatula* sécrètent dans le sol des flavonoïdes (ex. : *lutéoline*, *apigénine*), qui agissent comme inducteurs de l'expression des gènes nod chez *S. meliloti*.

En réponse, la bactérie produit des facteurs Nod (*lipo-chitooligosaccharides*), qui sont perçus par des récepteurs spécifiques de la plante : MtNFP (Nod Factor Perception) et MtLYK3 (LysM receptor-like kinase). (OLDROYD & DOWNIE (2008), ARRIGHI *ET AL.* (2006), SUBRAMANIAN *ET AL.* (2006))

- Transduction du signal et activation nucléaire :

La reconnaissance des facteurs Nod active une cascade de signalisation intracellulaire appelée CSSP (Common Symbiosis Signaling Pathway).

Les gènes DMI1, DMI2, DMI3 et CCaMK (calcium calmodulin kinase) sont activés, entraînant une oscillation calcique dans le noyau. Cette signalisation conduit à l'activation des facteurs de transcription NSP1, NSP2, et NIN (Nodule Inception).(CATOIRA *ET AL.* (2000), SMIT *ET AL.* (2005), MARSH *ET AL.* (2007))

- Réponses morphologiques : courbure des poils racinaires et infection :

Les poils racinaires de *M. truncatula* se courbent et capturent les bactéries fixées à leur surface. Une structure appelée fil d'infection se forme : un tunnel de paroi végétale à travers lequel les bactéries progressent vers le cortex. Des gènes précoce comme ENOD11 et ERN1 sont fortement exprimés.(journet *et al.* (2001), oldroyd & downie (2008))

- Division corticale et organogenèse nodulaire :

En parallèle, les cellules corticales de la racine commencent à se diviser sous l'effet des gènes NIN, CRE1 (cytokinine receptor), et NOOT. Ces divisions aboutissent à la formation d'un primordium nodulaire, qui se développe en un nodule racinaire. Le nodule possède une structure méristématique, avec différentes zones : méristème apical, zone d'infection, zone de fixation. (marsh *et al.* (2007), limpens *et al.* (2013))

- Libération des bactéries et différenciation :

À l'intérieur du nodule, les bactéries sont libérées dans les cellules hôtes sous forme de symbiosomes : vacuoles contenant des bactéroïdes. *M. truncatula* contrôle cette différenciation par des protéines nodule-specific cysteine-rich (NCR), responsables de la conversion des bactéries en bactéroïdes fixateurs d'azote. (van de velde *et al.* (2010), mergaert *et al.* (2006))

- Fixation de l'azote atmosphérique :

Les bactéroïdes expriment le complexe enzymatique nitrogénase, capable de réduire l'azote moléculaire (N_2) en ammonium (NH_4^+). L'ammonium est ensuite intégré par la plante,

notamment via des transporteurs comme AMT2.1. La plante fournit en retour des dicarboxylates (malate) comme source de carbone.(udvardi & poole (2013), roux *et al.* (2014)

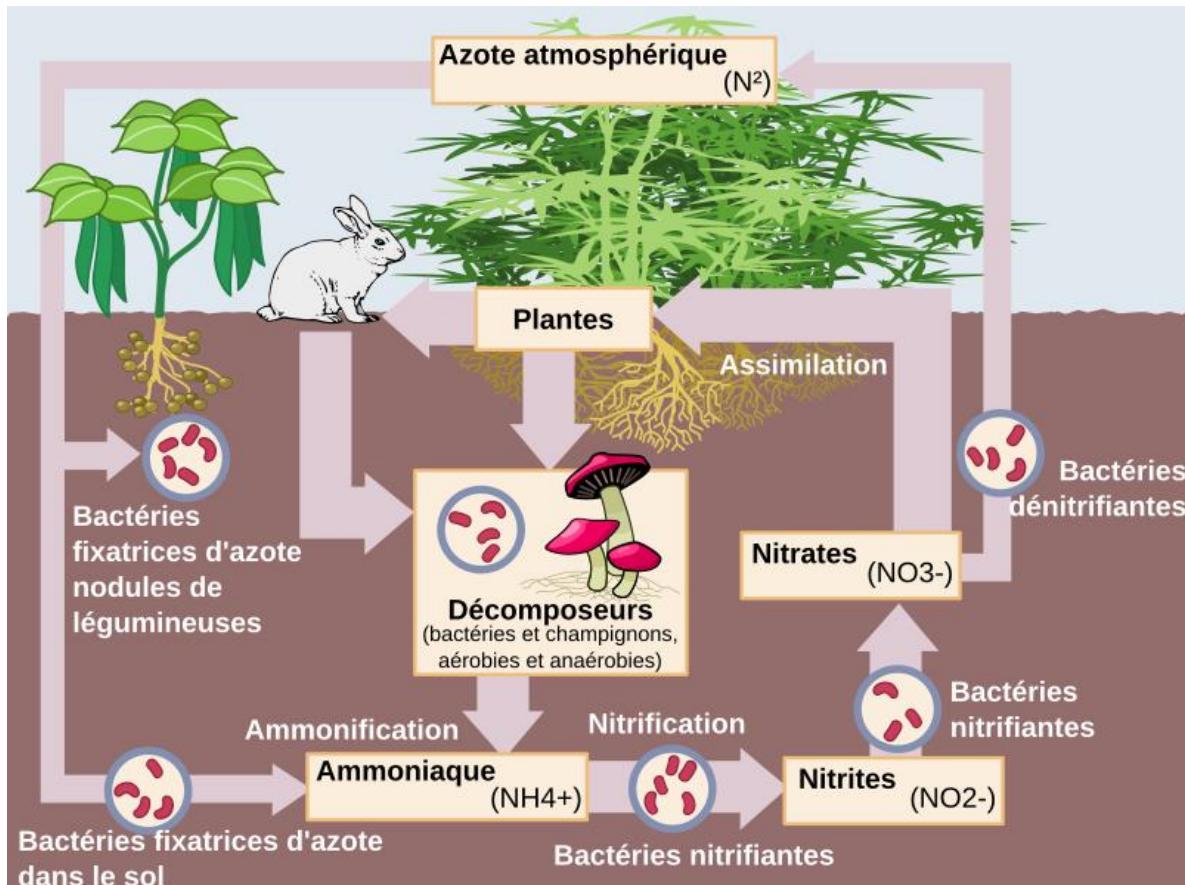


Figure 2 cycle d'azote

- Sénescence du nodule :

Après plusieurs semaines, le nodule entre en phase de sénescence, marquée par la dégradation des bactéroïdes et la réabsorption des nutriments. Des gènes spécifiques à la sénescence sont exprimés pour clore la symbiose. (perez guerra *et al.* (2010), limpens *et al.* (2013))

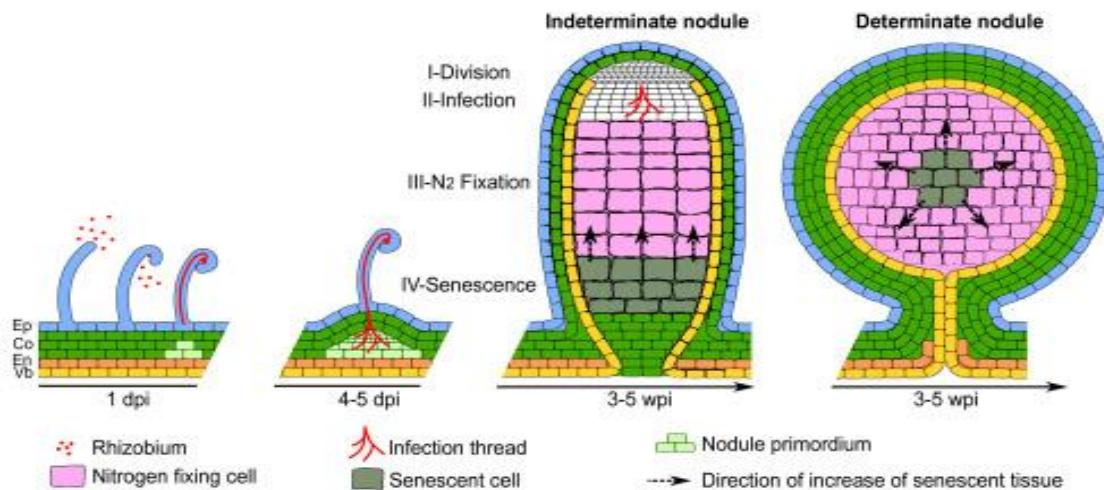


Figure 3 Sénescence du nodule

III.6.1 Rôle des flavonoïdes dans la symbiose chez *Medicago truncatula* :

Les flavonoïdes jouent un rôle fondamental dans l'initiation du dialogue moléculaire entre *Medicago truncatula* et *Sinorhizobium meliloti* au cours de la symbiose fixatrice d'azote. Ces composés phénoliques secondaires, issus de la voie des phénylpropanoïdes, sont sécrétés par les racines des légumineuses en réponse à des conditions environnementales défavorables, notamment la carence en azote. Ils agissent comme des molécules signal spécifiques qui initient la reconnaissance du partenaire bactérien compatible. Chez *M. truncatula*, les flavonoïdes – tels que les *chalcones*, *isoflavones* et *flavonols* – interagissent directement avec la protéine régulatrice NodD de *S. meliloti*. Ce facteur de transcription, une fois activé par les flavonoïdes, se fixe aux promoteurs des opérons nod (notamment nodABC), entraînant la synthèse des facteurs Nod, des *lipochitooligosaccharides* essentiels pour la perception par la plante hôte. Ces facteurs déclenchent ensuite, chez la plante, une cascade de signalisation aboutissant à la courbure des poils absorbants, à la formation du filament d'infection et à l'induction de l'organogenèse nodulaire.

Ce mécanisme de signalisation est hautement spécifique : les flavonoïdes produits sont souvent propres à l'espèce, voire au cultivar, ce qui permet une reconnaissance fine et un contrôle strict de la symbiose. Cette spécificité repose sur des différences structurales dans les flavonoïdes racinaires, qui déterminent leur capacité à activer NodD de manière efficace.

Plusieurs gènes clés de la biosynthèse des flavonoïdes ont été identifiés chez *M. truncatula* et démontrent leur rôle essentiel dans la symbiose :

- CHS (*chalcone synthase*) : catalyse la première étape du cœur flavonoïde.
- CHI (*chalcone isomerase*) : isomérise les chalcones en flavanones.

- F3H (*flavanone-3-hydroxylase*) : hydroxyle les flavanones en dihydroflavonols.
- UGT (*UDP-glucosyltransferase*) : glycosyle les flavonoïdes, influençant leur stabilité et leur transport.

Des expériences de mutants chs et chi chez *M. truncatula* ont démontré une réduction significative de la nodulation, confirmant l'importance centrale de ces enzymes dans l'établissement de la symbiose (Subramanian *et al.*, 2006). Par ailleurs, des études transcriptomiques révèlent une régulation fine de ces gènes en fonction du partenaire bactérien et du statut nutritionnel de la plante (Hassan & Mathesius, 2012).

Ces éléments montrent que les flavonoïdes, loin d'être de simples métabolites secondaires, sont des médiateurs actifs du dialogue symbiotique, jouant à la fois un rôle de signal de reconnaissance et de régulation de l'expression génique bactérienne, tout en assurant la compatibilité et la spécificité de l'interaction .

III.7 Petit pois (*Pisum sativum*) :

III.7.1 Origine et historique du petit pois :

Le petit pois (*Pisum sativum L.*) est une plante agronomique très appréciée dans le monde, elle a servi comme un excellent sujet pour les études génétiques et physiologiques, son cycle biologique court et la richesse de sa variation morphologique ont servi à de nombreuses recherches scientifiques. L'origine et les ancêtres de *Pisum sativum* sont mal connus. La région méditerranéenne, l'Asie centrale et occidentale et l'Ethiopie ont été envisagées comme centres d'origine. La FAO a désigné l'Ethiopie et l'Asie occidentale comme centres de diversité, avec des centres secondaires dans le sud de l'Asie et la région méditerranéenne (Cousin et Bannerot , 1992 ; Brink et Belay , 2006). Le petit pois est une plante très anciennement cultivée dans l'Ancien monde, puisque sa culture a vraisemblablement commencée il y a environ 8 000 ans dans la région du Croissant fertile, dans le même processus que certaines céréales (blé, orge) et d'autre légumineuses (vesce, lentille). Ils ont été découverts dans des sites archéologiques du Néolithique de la Grèce à l'Irak entre 7 500 et 5 000 ans avant Jésus-Christ, des restes provenant soit de plantes de cueillette, soit de plantes domestiquées. Par la suite, sa culture s'est diffusée vers l'ouest (Europe) et vers l'est (Inde). On en trouve trace notamment dans le site archéologique de Troie, en Europe centrale (vers -4 000 ans), en Europe occidentale et en Inde (vers -2 000 ans) (Cousin et Bannerot).

III.7.2 Position systématique

La classification botanique de cette plante peut être résumée de la façon suivante (Coussin, 1974).

Tableau 4 Classification scientifique *Pisum sativum*

Classification scientifique :	
Règne	Plantae (Plantes)
Embranchement	<i>Magnoliophyta (Angiospermes)</i>
Classe	<i>Magnoliopsida (Dicotylédones)</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae (Légumineuses)</i>
Genre	<i>Pisum</i>
Espèce	<i>Pisum sativum (Pois)</i>

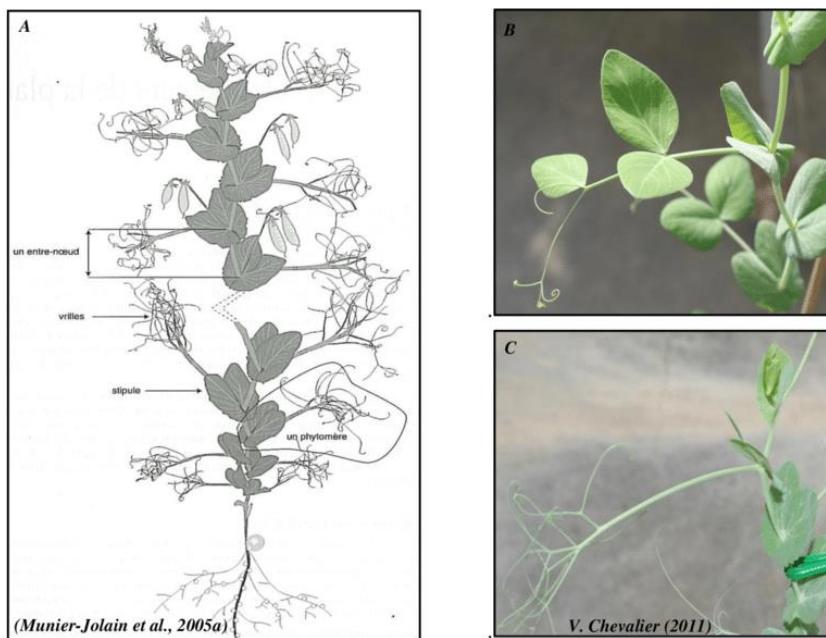


Figure 4 Anatomie d'une plante du pois

III.7.3 Intérêt du Pois :

Le petit Pois présente des avantages sur le plan agronomique, nutritionnel et écologique. Du point de vue agronomique et écologique, le Pois est considéré comme très bonne tête de rotation, il laisse un sol enrichi en azote de 30 à 50 Kg/ha (Boveldiou, 1991). Sa capacité de fixer l'azote atmosphérique par le truchement des Azotobacters du système racinaire, permet de réduire le coût de production, et de limiter la pollution des nappes phréatiques par les engrains azorés (Androsoff *et al.* 1995). Du point de vue nutritionnel, dans l'alimentation humaine, le Pois peut être consommé à l'état frais ou encore sous forme de grains secs récoltés à maturité complète. Richesse du Pois en protéines. Contient de l'amidon digestible (50%), des sucres solubles (5%), fibres, minéraux et vitamines. Ils contiennent également un assortiment unique de phyto-nutriments bénéfiques pour la santé, Un de ces phyto-nutriments un polyphénol appelé coumestrol est venu récemment à la pointe de la recherche en matière de protection contre le cancer de l'estomac (Hernandez-Ramirez *et al.*, 2009).

IV Symbiose rhizobienne et rôle des flavonoïdes chez *pisum sativum* :

La symbiose entre *Pisum sativum* (pois cultivé) et *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* constitue un modèle canonique de symbiose fixatrice d'azote chez les légumineuses à nodules indéterminés. Ce processus repose sur une communication moléculaire fine, initiée par la sécrétion de flavonoïdes racinaires par la plante hôte, principalement en réponse à des conditions de carence en azote dans le sol (Subramanian *et al.*, 2006 ; Hassan & Mathesius, 2012). Ces flavonoïdes — incluant des chalcones, flavones et isoflavones — jouent un double rôle : ils agissent comme molécules signal déclenchant la transcription des gènes nod chez la bactérie symbiotique, tout en contribuant à la spécificité de l'hôte par reconnaissance moléculaire ciblée. Chez *R. leguminosarum*, les flavonoïdes activent le régulateur transcriptionnel NodD, qui induit à son tour l'expression des gènes nodABC, responsables de la synthèse des facteurs Nod (*lipo-chitooligosaccharides*). Ces derniers sont reconnus par des récepteurs de type LysM à la surface des cellules racinaires de *P. sativum* (ex. : PsSym10), déclenchant une cascade de signalisation calcique (via PsSym33) et l'expression de gènes précoce tels que ENOD12, associés à la formation des nodules (Oldroyd & Downie, 2008 ; Borisov *et al.*, 2004).

IV.1.1 Le développement nodulaire :

1. attraction chimique des *rhizobia* par les flavonoïdes
2. activation de l'expression nod chez la bactérie.

3. Production de nod factors, perçus par la plante.
4. Réarrangement du cytosquelette et formation du fil d'infection.
5. Division cellulaire dans le cortex et formation du primordium nodulaire.
6. Colonisation intracellulaire du nodule et différenciation en bacteroïdes.
7. Fixation de l'azote atmosphérique grâce à la nitrogénase bactérienne.

Sur le plan moléculaire, plusieurs gènes de la voie des flavonoïdes sont activement exprimés pendant cette interaction, notamment chs (*chalcone synthase*), chi (*chalcone isomerase*), f3h (*flavanone-3-hydroxylase*) et ugt (*udp-glucosyltransferase*). La diversité structurale de ces composés permet une discrimination fine des *rhizobia* compatibles, renforçant ainsi la coévolution spécifique entre *p. sativum* et *r. leguminosarum* (dakora & phillips, 2002 ; hassan & mathesius, 2012).

V *Rhizobium* :

V.1 Présentation du genre *Rhizobium* :

Rhizobium est un genre de bactéries à Gram négatif, aérobies, appartenant à la famille des *Rhizobiaceae*, bien connu pour sa capacité à établir une symbiose mutualiste avec les plantes de la famille des *Fabaceae* (légumineuses). Cette interaction aboutit à la formation de nodules racinaires, au sein desquels la bactérie fixe l'azote atmosphérique (N_2) en le convertissant en ammonium (NH_4^+), une forme assimilable par la plante (Oldroyd & Downie, 2008 ; Udvardi & Poole, 2013).

V.2 Les étapes de la nodulation :

- Déclenchement du dialogue symbiotique

Le processus commence par la sécrétion de flavonoïdes spécifiques par les racines des légumineuses, en réponse à une carence en azote. Ces composés sont perçus par la protéine NodD chez *Rhizobium*, qui active ensuite l'expression des gènes nodABC, responsables de la synthèse des facteurs Nod, molécules signal clés dans la reconnaissance symbiotique (Lerouge *et al.*, 1990 ; Perret *et al.*, 2000).

- Reconnaissance entre plante et bactérie

Les facteurs Nod sont perçus par des récepteurs de type LysM localisés à la surface des cellules épidermiques des racines. Chez *Medicago truncatula*, ces récepteurs incluent MtNFP et MtLYK3 ; chez *Pisum sativum*, PsSYM10 et PsSYM9 jouent un rôle similaire. Cette reconnaissance déclenche une cascade de signalisation intracellulaire appelée CSSP (Common

Symbiosis Signaling Pathway), impliquant notamment les gènes DMI1, DMI2, CCaMK, NSP1, NSP2 et NIN (Catoira *et al.*, 2000 ; Arrighi *et al.*, 2006).

- Formation du nodule racinaire

Cette signalisation provoque la courbure des poils absorbants et la formation d'un fil d'infection, canal par lequel les bactéries pénètrent dans les tissus de la plante. Simultanément, les cellules corticales subissent des divisions contrôlées pour former un primordium nodulaire, qui deviendra un nodule racinaire fonctionnel (Marsh *et al.*, 2007 ; Limpens *et al.*, 2013).

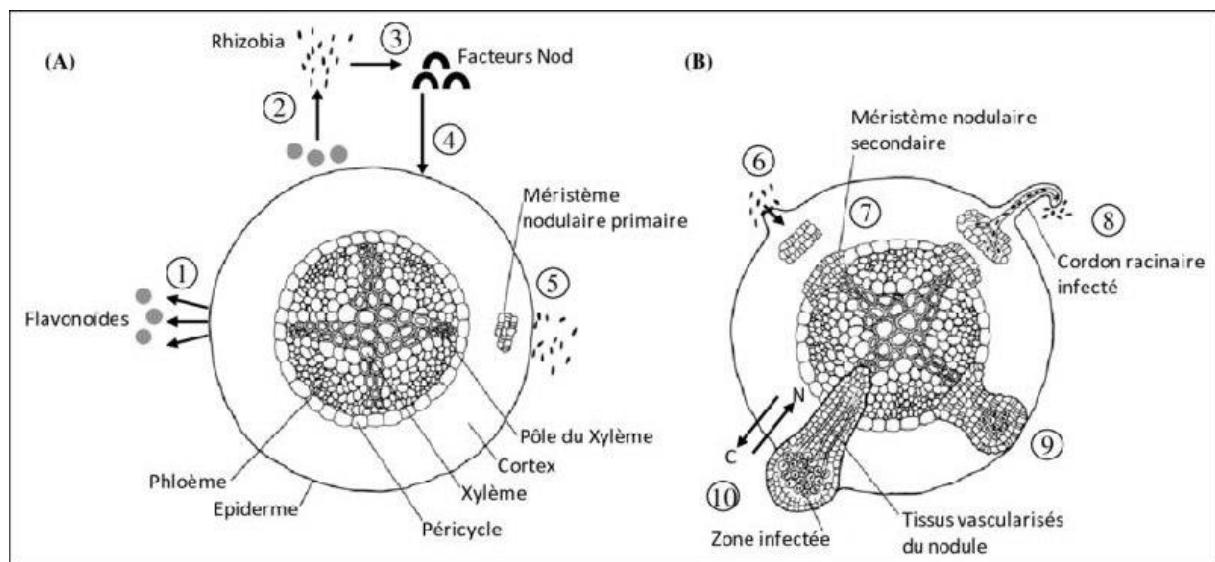


Figure 5 Les différentes étapes de l'initiation et du développement d'un nodule racinaire de légumineuse.

- Différenciation bactérienne et symbiose active

À l'intérieur du nodule, les bactéries sont internalisées dans des structures appelées symbiosomes, et se différencient en bactéroïdes. Cette différenciation est contrôlée par des peptides riches en cystéine (NCR) produits par la plante, qui bloquent la division cellulaire bactérienne et induisent l'état symbiotique (Van de Velde *et al.*, 2010 ; Mergaert *et al.*, 2006).

- Fixation biologique de l'azote

Les bactéroïdes expriment alors le complexe nitrogénase (gènes nifH, nifD, nifK), qui réduit le diazote (N_2) en ammonium (NH_4^+). Ce processus est très énergivore et nécessite l'apport de composés carbonés par la plante, notamment du malate et du succinate. En retour, la plante récupère l'azote fixé pour sa croissance (Udvardi & Poole, 2013 ; Roux *et al.*, 2014).

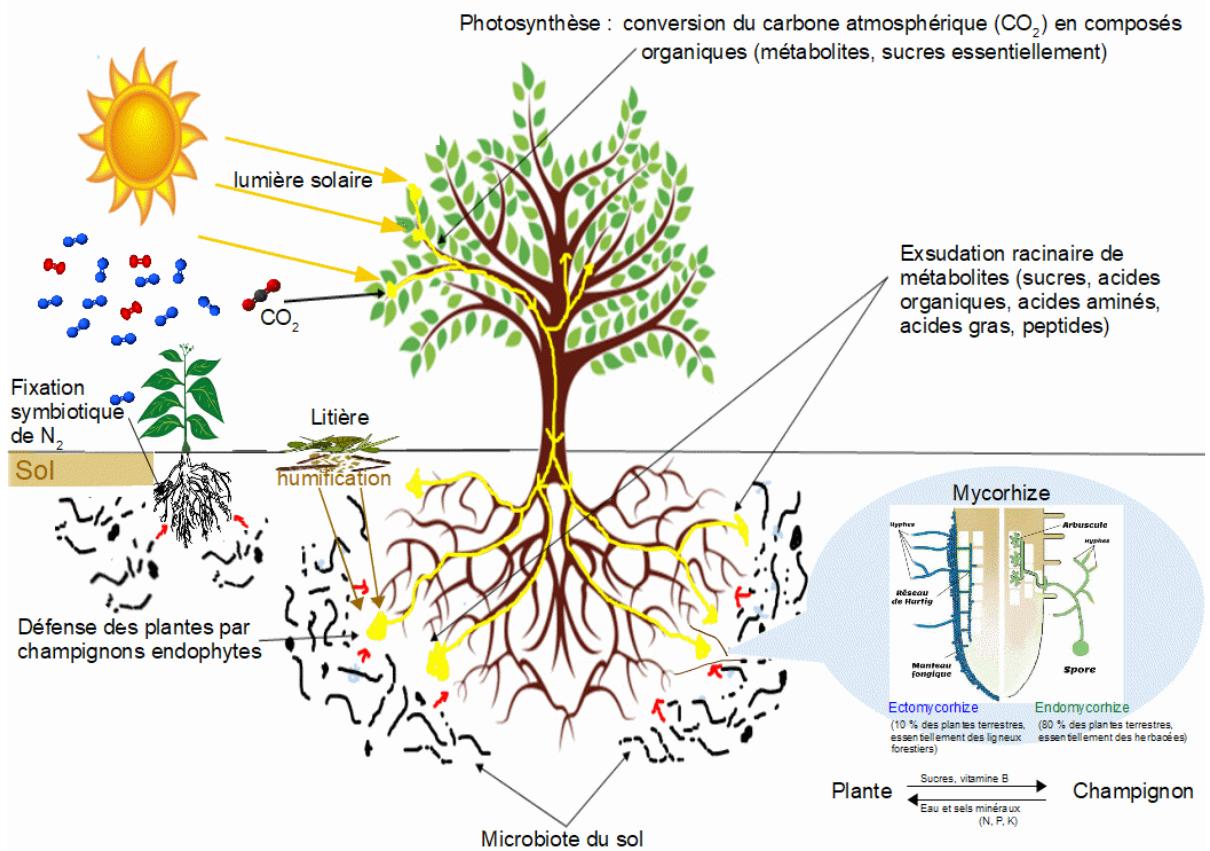


Figure 6 Fixation biologique du diazote — Wikipédia

- Sénescence du nodule

Lorsque le nodule vieillit, un processus de sénescence programmée est déclenché. Les bactéroïdes sont dégradés et les nutriments sont recyclés par la plante. Cette étape implique l'expression de gènes spécifiques comme SEN1 et permet de maintenir l'efficacité du système symbiotique (Pérez Guerra *et al.*, 2010 ; Limpens *et al.*, 2013)

➤ Diversité symbiotique chez les Rhizobium

Certaines bactéries, comme les *Bradyrhizobium* photosynthétiques, sont capables de fixer l'azote sans posséder les gènes nod classiques, ou bien forment des nodules sur les tiges (symbiose caulinaire) chez des légumineuses tropicales du genre *Aeschynomene* (Giraud *et al.*, 2007 ; Chaintreuil *et al.*, 2000).

V.3 Intérêt agronomique et perspectives

La symbiose *Rhizobium*-légumineuses présente un intérêt majeur pour l'agriculture durable. Elle permet de réduire l'usage des engrains chimiques, restaurer la fertilité des sols, et améliorer la résilience des cultures. Des projets de biotechnologie visent à transférer cette

capacité symbiotique vers des céréales comme le blé ou le riz, ce qui constituerait une avancée majeure pour l'agriculture mondiale (Rogers & Oldroyd, 2014).

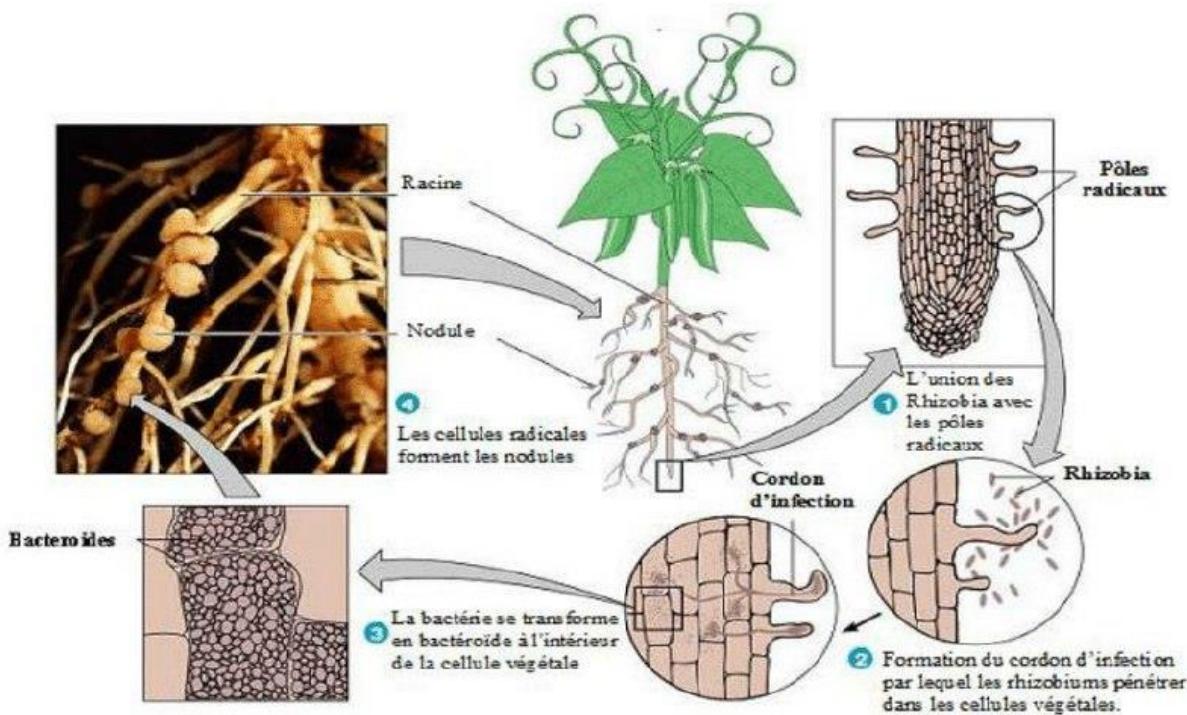


Figure 7 Différentes étapes de l'établissement de la symbiose rhizobia -légumineuse.

V.4 Classification du genre *Rhizobium*

Tableau 5 Classification scientifique *Rhizobium*

Classification scientifique :	
Règne	Proteobacteria
Domaine	<i>Bacteria</i> (Bactéries)
Classe	<i>Alphaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Rhizobiales</i>
Famille	<i>Rhizobiaceae</i>
Genre	<i>Rhizobium</i>

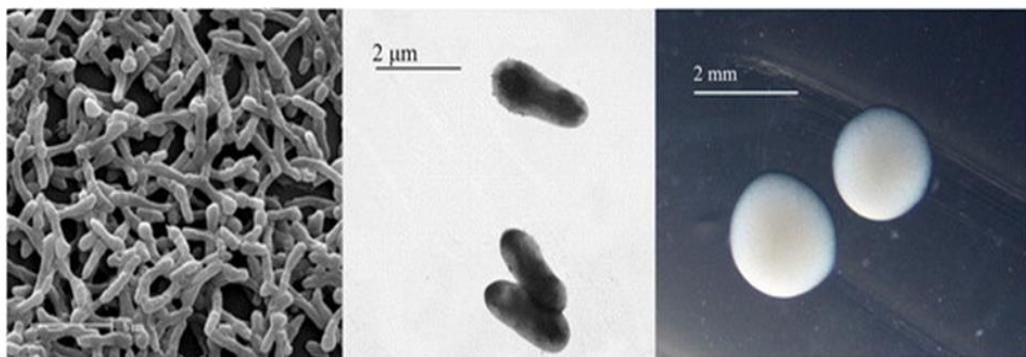


Figure 8 *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* souche GB30 en microscopie électronique à balayage (à gauche) et à transmission (au centre) et morphologie des colonies sur milieu solide ½LA (à droite). Figure de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* souche GB30 en microscopie électronique à balayage (à gauche) et à transmission (au centre) et morphologie des colonies sur milieu solide ½LA (à droite). RESEARCHGATE

VI Les céréales

VI.1 Blé tendre (*Triticum aestivum*)

VI.1.1 Origine et classification de blé tendre :

Le genre *Triticum*, qui regroupe les différentes espèces de blé, Sur le plan génétique, ces espèces peuvent être classées en trois groupes selon leur niveau de ploïdie : diploïdes, tétraploïdes et hexaploïdes. Selon la classification de Dhalgren et Clifford (1985), citée par Brabri et Derradji (2005), le blé tendre est une plante *monocotylédone* appartenant au superordre des Commeliniflorales, à l'ordre des *Poales*, à la famille des *Poaceae*, et au genre

Triticum. L'évolution des espèces de blé résulte de plusieurs événements successifs de *polypliodisation*, survenus à la suite de croisements interspécifiques entre trois espèces diploïdes ancestrales. Le premier événement de *polypliodisation* a impliqué *Triticum monococcum* et *Aegilops speltoides*, donnant naissance au blé dur tétraploïde. Un second événement, impliquant cette forme tétraploïde et une autre espèce diploïde, *Aegilops tauschii*, a conduit à l'apparition du blé tendre hexaploïde (*Triticum aestivum L.*), actuellement cultivé. Cette espèce possède un génome hexaploïde, avec un nombre chromosomique de $2n = 6x = 42$ (Chalhoub, 2005)

- Classifications *Triticum aestivum* :

Tableau 6 Classifications *Triticum aestivum*

Classification scientifique :	
Règne	Plantae (Plantes)
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i> (Angiospermes)
Classe	<i>Liliopsida</i> (<i>Monocotylédones</i>)
Ordre	<i>Poales</i>
Famille	<i>Poaceae</i> (<i>Graminées</i>)
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum aestivum</i> (Blé tendre)

VI.1.2 Symbiose et interactions racinaires

Contrairement aux légumineuses, *T. aestivum* n'est pas capable de former une symbiose fixatrice d'azote avec les bactéries du genre *Rhizobium*. En effet, le blé ne possède ni les récepteurs spécifiques nécessaires à la reconnaissance des facteurs Nod, ni la voie de signalisation symbiotique commune (CSSP). Toutefois, *T. aestivum* entretient des interactions bénéfiques avec des champignons *mycorhiziens arbusculaires* (AMF) et certaines bactéries promotrices de croissance végétale (PGPR), comme *Azospirillum* ou *Pseudomonas fluorescens*, qui améliorent la nutrition et la tolérance au stress. Des recherches biotechnologiques récentes visent à transférer des éléments de la voie de nodulation des légumineuses vers des céréales comme le blé, afin de leur conférer la capacité à fixer l'azote via symbiose. Ces efforts impliquent l'introduction de gènes tels que NFR1/NFR5, CCaMK, CYCLOPS, ou NIN dans le génome du blé (Radhakrishnan *et al.*, 2020).

VI.1.3 Flavonoïdes chez le blé : fonctions et biosynthèse

Bien que le blé ne participe pas à la nodulation, il produit une diversité de composés phénoliques, y compris des flavonoïdes, qui remplissent d'autres fonctions biologiques. Les flavonoïdes chez *T. aestivum* sont impliqués dans :

- La défense contre les pathogènes (par ex. *Fusarium graminearum*).
- La protection contre les stress abiotiques (UV, sécheresse, oxydation).
- La signalisation rhizosphérique pour l'attraction de microorganismes bénéfiques.
- Les principaux types de flavonoïdes produits sont :
 - Flavones (*apigénine, lutéoline*)
 - Flavonols (*kaempférol, quercétine*)
 - Chalcones
 - Anthocyanines (dans certaines variétés colorées)

Des gènes clés comme CHS (*chalcone synthase*), CHI (*chalcone isomerase*), F3H (*flavanone-3-hydroxylase*), et DFR (*dihydroflavonol reductase*) sont exprimés dans divers tissus, notamment les graines, les racines et les feuilles

VI.2 Orge (*Hordeum vulgare*)

L'orge est l'une des plus anciennes céréales domestiquées par l'Homme, originaire du Croissant fertile. Elle est aujourd'hui largement cultivée dans le monde entier à des fins alimentaires, fourragères et brassicoles. Elle est considérée comme un modèle pour l'étude des graminées de climat tempéré.

- Classification botanique

Tableau 7 Classifications *Hordeum vulgare*

Classification scientifique :	
Règne	Plantae (Plantes)
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i> (Angiospermes)
Classe	<i>Liliopsida</i> (Monocotylédones)
Ordre	<i>Poales</i>
Famille	<i>Poaceae</i> (Graminées)
Genre	<i>Hordeum</i>
Espèce	<i>Hordeum vulgare</i> (Orge)

VI.2.1 Génome et caractéristiques moléculaires :

Le génome de *Hordeum vulgare* est l'un des plus complexes parmi les céréales diploïdes, avec une taille d'environ 5,1 gigabases (Gb), dont environ 80 % sont constitués d'éléments transposables répétés (Mascher *et al.*, 2017). Il contient environ 39 000 gènes codants, répartis sur 7 chromosomes. Ce génome a été séquencé et assemblé avec précision grâce à des technologies avancées telles que le Hi-C et le BAC-by-BAC. L'accès aux données est possible via les plateformes Ensembl Plants, IPK Barley BLAST et GrainGenes, facilitant les analyses comparatives avec d'autres graminées comme le blé ou le riz.

VI.2.2 Absence de nodulation et interactions symbiotiques alternatives :

Contrairement aux légumineuses, *Hordeum vulgare* ne forme pas de nodules racinaires et ne participe pas à une symbiose fixatrice d'azote avec *Rhizobium*. En revanche, elle établit une symbiose *mycorhizienne* arbusculaire (SMA) avec des champignons du sol (ex : Glomus intraradices, *Rhizophagus irregularis*) : Ces champignons colonisent les racines de l'orge et forment des arbuscules à l'intérieur des cellules corticales. Ils facilitent l'absorption du phosphate, du zinc, du cuivre, et améliorent la tolérance au stress hydrique et salin. Les gènes du « symbiotic toolkit » comme DMI1, DMI3, SYMRK sont conservés chez l'orge, suggérant un ancêtre commun aux voies symbiotiques chez les plantes terrestres.

VII Les flavonoïdes :

VII.1 Rôle des flavonoïdes dans les interactions racinaires :

Bien qu'elle ne développe pas de symbiose rhizobienne, *Hordeum vulgare* sécrète une variété de flavonoïdes dans la rhizosphère. Ces composés jouent un rôle important dans la communication interspécifique, l'attraction de microbes bénéfiques (comme les *mycorhizes*), la défense contre les pathogènes, et la structuration du microbiote racinaire (Treutter, 2006 ; Weston *et al.*, 2012). Parmi les flavonoïdes majoritaires dans les exsudats racinaires de l'orge, on retrouve la *tricine*, *l'apigénine* et la *lutéoline*. Ces métabolites sont synthétisés par des enzymes clés telles que la CHS (*chalcone synthase*), la CHI (*chalcone isomerase*), et la FNS I/II (flavone synthase), indiquant une conservation fonctionnelle partielle avec les légumineuses.

VII.2 Intérêt scientifique et perspectives de recherche :

Grâce à son génome entièrement séquencé, ses nombreuses variétés cultivées, et sa proximité phylogénétique avec le blé, *Hordeum vulgare* est devenu un modèle pour les études

sur la tolérance au stress, les interactions racinaires et la biologie évolutive des flavonoïdes. Il permet également de comparer les stratégies symbiotiques des *monocotylédones* (AMF) à celles des dicotylédones (nodulation rhizobienne), contribuant ainsi à mieux comprendre les origines évolutives de la symbiose chez les plantes.

VII.3 Rôle comparé des flavonoïdes chez les légumineuses et les céréales

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques secondaires largement conservés chez les plantes vasculaires, mais leurs fonctions biologiques divergentes fortement entre les familles végétales. Chez les légumineuses comme *Medicago truncatula* ou *Pisum sativum*, les flavonoïdes jouent un rôle crucial dans la mise en place de la symbiose fixatrice d'azote avec des bactéries du genre *Rhizobium*. En conditions de carence azotée, les racines des légumineuses sécrètent ces métabolites dans la rhizosphère, ce qui active chez la bactérie symbiotique le gène *nodD*, un régulateur transcriptionnel qui induit à son tour les gènes *nodABC* responsables de la biosynthèse des facteurs Nod, nécessaires à l'infection racinaire (Subramanian *et al.*, 2006 ; Hassan & Mathesius, 2012). Ce mécanisme de signalisation très spécifique permet une reconnaissance fine du partenaire bactérien compatible, et constitue une signature moléculaire propre à la symbiose légumineuse. En revanche, chez les céréales comme *Triticum aestivum* (blé) ou *Hordeum vulgare* (orge), la voie de biosynthèse des flavonoïdes est conservée mais ne participe pas à des interactions symbiotiques. Les flavonoïdes y sont plutôt associés à des réponses de défense contre les stress abiotiques (rayonnement UV, sécheresse, métaux lourds) ou biotiques (pathogènes), sans implication directe dans la signalisation mutualiste. Par ailleurs, plusieurs enzymes clés telles que *chalcone synthase* (CHS) ou *chalcone isomerase* (CHI) montrent une plus grande diversité de gènes et une expression régulée spatialement dans les légumineuses comparées aux céréales, ce qui reflète une évolution fonctionnelle spécialisée (Zhao *et al.*, 2010 ; Shoeva *et al.*, 2015). Ainsi, bien que les voies flavonoïdes soient ancestrales et largement partagées au niveau génomique, leurs fonctions biologiques se sont divergées entre les grandes familles végétales. Cette spécialisation s'est accompagnée d'une diversification des profils d'expression, des structures de gènes, et de la régulation transcriptionnelle, notamment chez les *Fabaceae* où les flavonoïdes sont devenus des messagers moléculaires essentiels de la symbiose.

MATERIEL ET METHODES

VIII Matériel et méthodes :

VIII.1 Données biologiques :

Les données utilisées dans ce travail sont de nature bio-informatique et ont été simulées à des fins pédagogiques. Elles modélisent des entités biologiques telles que des espèces végétales, des gènes, des séquences, des annotations fonctionnelles, et des niveaux d'expression. Ces données ont été organisées dans une base relationnelle locale et explorées via une interface web développée en HTML/CSS/JavaScript.

Les espèces végétales sélectionnées pour l'étude sont :

- *Medicago truncatula* (légumineuse symbiotique)
- *Pisum sativum* (légumineuse symbiotique)
- *Triticum aestivum* (céréale non symbiotique)
- *Hordeum vulgare* (céréale non symbiotique)
- *Arabidopsis thaliana* (espèce modèle non symbiotique)
- *Rhizobium leguminosarum* (bactérie symbiotique)

VIII.2 Choix des gènes étudiés :

Un total de 28 gènes impliqués dans la biosynthèse des flavonoïdes ont été sélectionnés dans cette étude. Ces gènes couvrent les principales enzymes intervenant dans les étapes initiales, intermédiaires et terminales de la voie flavonoïde. Le choix s'est basé sur leur importance fonctionnelle, leur présence chez plusieurs espèces végétales (légumineuses et céréales),

Ainsi que la disponibilité de leurs séquences et annotations dans les bases de données publiques. Parmi les gènes les plus représentatifs figurent :

- CHS (*Chalcone Synthase*)
- CHI (*Chalcone Isomerase*)
- F3H (*Flavanone 3-Hydroxylase*)

Et d'autres gènes secondaires intervenant dans l'oxydation, la méthylation et la glycosylation des flavonoïdes.

Tous les gènes ont été modélisés sous forme de fiches bio-informatiques comprenant : leur nom, leur fonction, leur séquence (ADN, ARN et protéine), leur annotation (InterPro), et leur niveau d'expression simulé dans différents tissus ou conditions.

VIII.3 Sources et outils bio-informatiques :

Les outils et bases de données suivants ont été utilisés pour construire le référentiel d'analyse :

• NCBI : Le National Center for Biotechnology Information (NCBI) est un centre de recherche américain qui fait partie des National Institutes of Health (NIH). Il abrite plusieurs bases de données importantes pour la biotechnologie et la biomédecine. Il a été utilisé pour identifier le nom du gène et ses informations

• ClustalW : un programme informatique utilisé en bio-informatique pour réaliser des alignements multiples de séquences. Un alignement multiple permet de comparer et d'aligner des séquences d'acides aminés (protéines) ou de nucléotides (ADN, ARN) provenant de différents organismes.

• FASTA : est un format de fichier texte largement utilisé en bio-informatique pour

Stocker des séquences d'acides aminés (protéines) ou de nucléotides (ADN, ARN). Il permet de représenter une ou plusieurs séquences de manière simple et lisible.

• EnsemblPlants : base de données spécialisée dans les génomes végétaux, utilisée pour accéder à la position génomique des gènes, leur structure, et leurs annotations fonctionnelles (familles, introns/exons...).

• UniProt : plateforme internationale pour l'annotation des protéines ; utilisée ici pour obtenir les propriétés des produits protéiques (masse moléculaire, point isoélectrique, domaine fonctionnel, localisation subcellulaire...).

Les séquences, annotations et informations biologiques ont été extraites, adaptées, puis intégrées dans une base locale sous format relationnel.

VIII.4 Environnement technologique :

L'environnement technique utilisé pour la conception et l'exploration des données comprend :

- HTML5 / CSS3 / JavaScript : utilisés pour le développement de l'interface web interactive permettant la navigation, la visualisation et l'interaction avec les données génétiques
- Modélisation relationnelle : les données ont été organisées à l'aide d'un diagramme entité-relation (ERD) simulant une base contenant des tables principales : GENES, SPECIES, SEQUENCES, ANNOTATIONS, EXPRESSIONDATA, etc.

- Visualisation dynamique : des filtres interactifs, un système de tri et des fiches descriptives ont été mis en œuvre pour permettre une exploration intuitive des informations.
- Formats de données : les séquences ont été stockées au format FASTA, et les objets biologiques représentés via des structures JSON. La base est simulée sans serveur ni SGBD (type SQL), en utilisant des relations logiques locales.

Cette configuration permet de reproduire un environnement d'analyse fonctionnel, tout en restant léger, pédagogique et sans dépendances externes.

- Modèle Relationnel – FlavoSymDB :

SPECIES	GENES	ANNOTATIONS
id (PK) scientific_name common_name Kingdom genome_size num_chromosomes gc_content assembly_name assembly_type num_contigs publication_date bioproject_accession sequencing_technology publication_reference	id(PK) species_id(FK) gene_name gene_function sequence_title sequence_length num_exons Position Chromosome Locus gene_family type reference_id	id(PK) gene_id (FK) Pathway enzyme_code pfam_ids go_terms interpro_ids

SEQUENCES	ProteinProduct
id(PK)	id(PK)
gene_id (FK)	gene_id (FK)
nucleotide_seq	protein_id
protein_seq	protein_name
source_database	molecular_weight
	isoelectric_point
	subcellular_localization
	uniprot_id

ExpressionData
id(PK)
gene_id (FK)
Tissue
Condition
species_id
expression_level
reference

- Diagramme Entité-Relation :

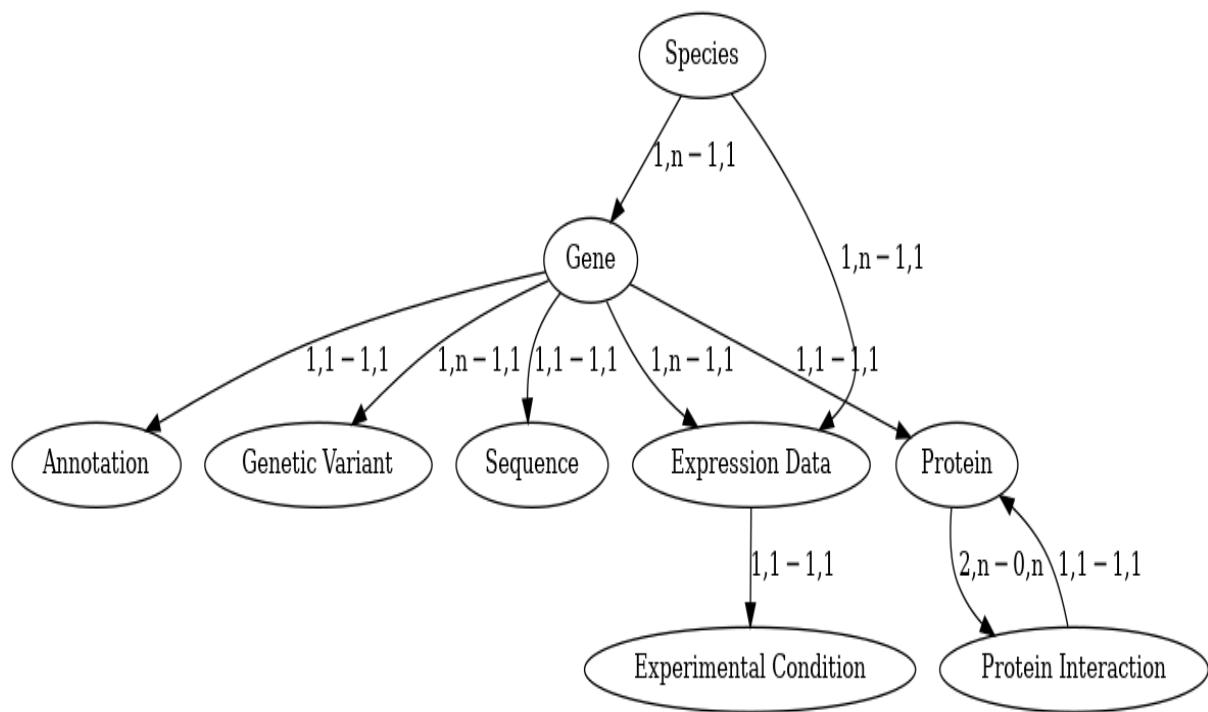


Figure 9 Diagramme Entité-Relation

- Relations et cardinalité :

Tableau 8 Relations et cardinalité

relations et cardinalité	Interpretation
Species (1,n) —— (1,1) Gene	Une espèce possède plusieurs gènes
Gene (1,1) —— (1,1) Annotation	Chaque gène a une seule annotation
Gene (1,1) —— (1,1) Sequence	Chaque gène a une seule séquence
Gene (1,1) —— (1,1) Protein	Chaque gène code pour une seule protéine
Species (1,n) —— (1,1) ExpressionData	Une espèce est associée à plusieurs mesures d'expression
Gene (1,n) —— (1,1) ExpressionData	Un gène peut avoir plusieurs mesures d'expression
ExpressionData (1,1) —— (1,1) ExperimentalCondition	Une mesure d'expression a une seule condition expérimentale
Gene (1,n) —— (1,1) GeneticVariant	Un gène peut avoir plusieurs variants génétiques
Protein (2,n) —— (0,n) ProteinInteraction	Une interaction implique exactement deux protéins
ProteinInteraction (1,1) —— (1,1) Protein (pour chaque participant)	Chaque interaction cible exactement une protéine participante

(1,1) : obligation d'unicité (exactement une entité)

(1,n) : au moins une entité, potentiellement plusieurs

(0,n) : une entité peut ne pas exister ou exister plusieurs fois

(2,n) : l'entité est toujours en binôme (ex. interactions protéiques)

VIII.5 Identification et collecte des gènes :

Les gènes impliqués dans la biosynthèse des flavonoïdes ont été identifiés à partir des bases NCBI, EnsemblPlants et UniProt. Les séquences ADN et protéiques ont été téléchargées au format FASTA, accompagnées d'annotations fonctionnelles (GO terms, domaines Pfam, InterPro, EC numbers, etc.).

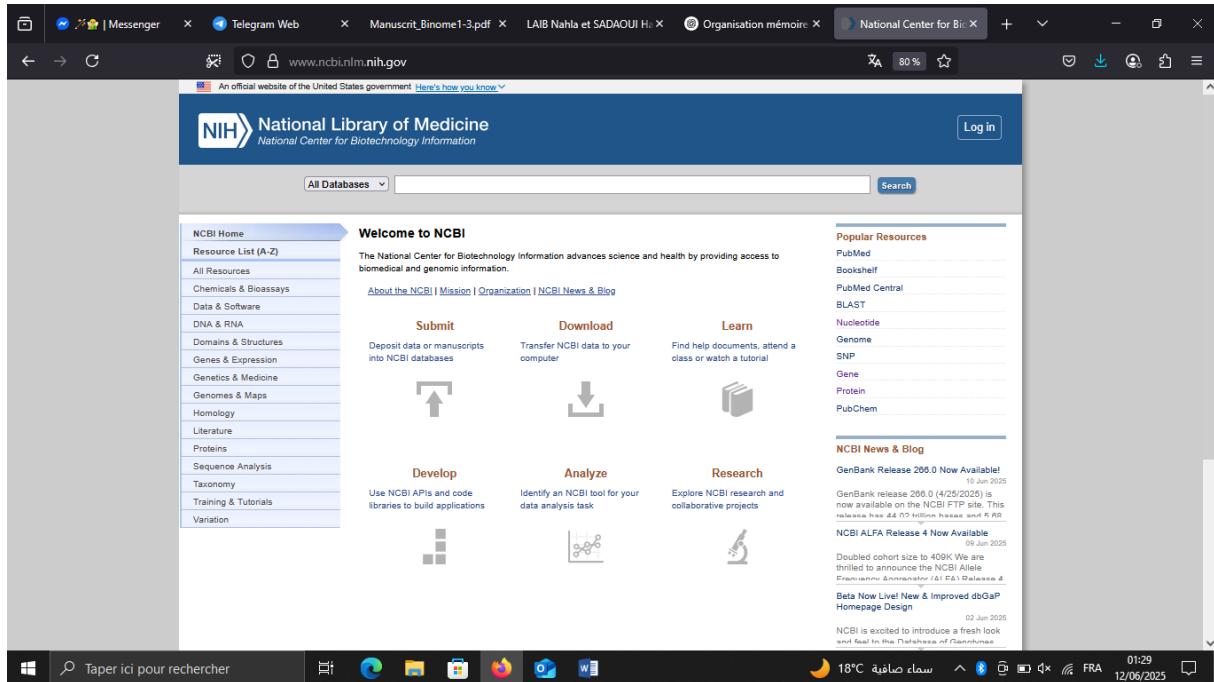


Figure 10 Interface de NCBI

VIII.6 Alignement des séquences et étude de l'homologie

Pour comparer les séquences entre espèces, des alignements multiples ont été effectués à l'aide de l'outil ClustalW. Cette étape a permis de mettre en évidence les similarités et les divergences des gènes orthologues entre légumineuses et céréales.

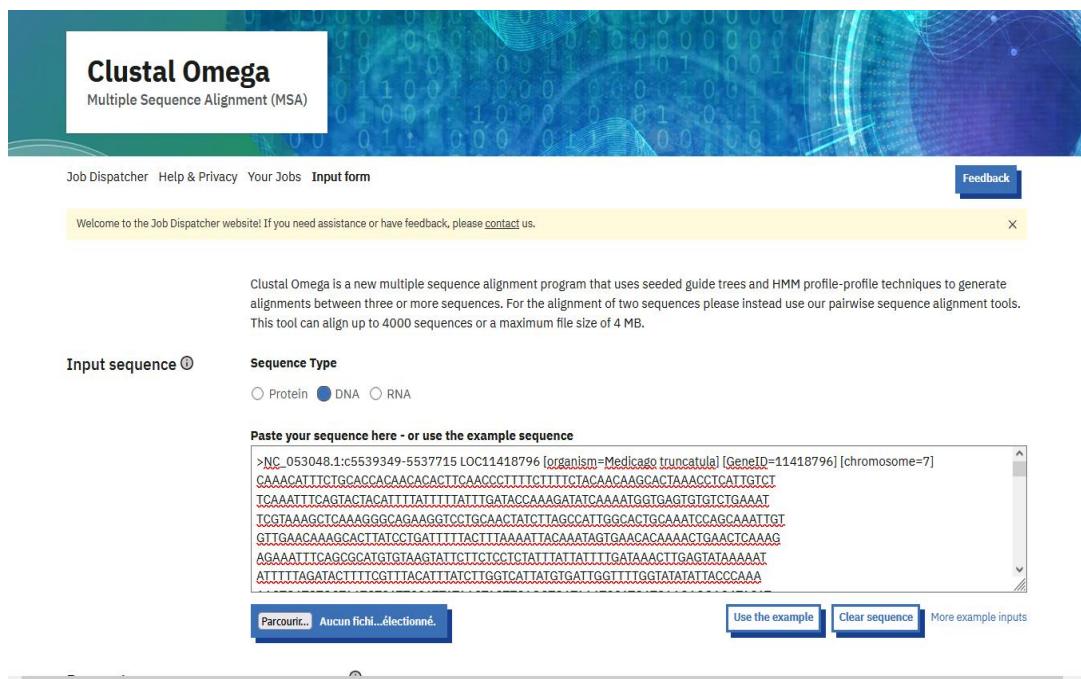


Figure 11 Interface de clustal omega

Alignment with colours		CLUSTAL O (1.2.4) multiple sequence alignment	
Hide			
NC_053048..1:c5539349-5537715	CAAAACATTTCTGCACCAACACACTTCACCCCTTCTTCATAACACAAGCCTAAC	60	
NC_053042..1:c56041442-56040110	----CCTGTCGTTCTCTTCATATTTCACACTTTCACATCATTGACGCCCTACCTACCA	56	
	*** * * * * ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *		
NC_053048..1:c5539349-5537715	CT-CATTGCTCTCAAATTTCAGTACTACATTATTTTTTTTGATACCAAGATATCAA	119	
NC_053042..1:c56041442-56040110	CTTAATTACATACAAAC---CTGTATTATATTATTTACTA---CAACACACTATACAA	111	
	*** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *		
NC_053048..1:c5539349-5537715	AATGGTGAGTGTCTGAATTGGTAAAGGCTCAAAGGCGGAAGGCTCTGCAACTATCTT	179	
NC_053042..1:c56041442-56040110	ATTCAA---CGAATTCTAA---GTTAACACCC-GTTGATTAATGGCACCTCCGT	162	
	* * *** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *		
NC_053048..1:c5539349-5537715	AGCCATTGGCAATTCAGCAAACTTCAGCAAAATTGGTTGAAACAAAGACTTATCCGATTTTA	239	
NC_053042..1:c56041442-56040110	CACTGACAGCTTTGGATTCGAAGACTACCGCATTCCTT-----TCCCA	204	
	*** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *		
NC_053048..1:c5539349-5537715	CTTTAAAATTACAAATAGTGAACACAAAACTGAACTCAAAGAGAAATTTCAGGGCATGTG	299	
NC_053042..1:c56041442-56040110	CGCTGAACACC-----GATCTCACACAACTTCTCTCGGGGGTG	249	
	* * *** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *		
NC_053048..1:c5539349-5537715	TAAGTATCTTCTCTCTATTATTATTATTGATAAACTTGGATATAAAATTTTAGA	359	
NC_053042..1:c56041442-56040110	CAGG-----AGAGAGGCAATTCAACAAATTCAAGA-----CA	279	
	* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *		
NC_053048..1:c5539349-5537715	TACTTTCTTACATTTATCTGGTCATTATGTGATGGTTT-----TGGTATATTTA	414	
NC_053042..1:c56041442-56040110	AATTGTCAAATTCACGCCCATGGTTTTATTCAGGATAATCGCTGTTCCATATCTTG	339	
	* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *		
NC_053048..1:c5539349-5537715	CCCCAAAATGATGTCTAAATGTCATTCACATTAAACTACTTCAGGTGATA-----AAT	468	
NC_053042..1:c56041442-56040110	CAGAGAAATGGAAAGGCCAGATCTGGCTCAAGATAATTACGGATAACGGTCTCTTCAGAG	399	
	* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *		
NC_053048..1:c5539349-5537715	CCATGTCAGGAGGATACATGATCTAACAGAAAGAAATTGGAAAGAAAATCCAAAGTG	528	
NC_053042..1:c56041442-56040110	ACATGCTTACAGGTTAATCTTGTCTT-----TTTATGAAAGCAATTATAGCT	451	
	*** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *		
NC_053048..1:c5539349-5537715	TTTGTAATCA-----TGCCCCCTTCATTTGGAT-----GCTAG	562	
NC_053042..1:c56041442-56040110	TATGCAACAAACATGAGTATCTGGCTCGTAATGAACTTAAATGTTACCAACTAA	511	

Figure 12 alignment flavonoïde MEDICAGO

VIII.7 Structuration des données dans une base relationnelle

Les données brutes ont été organisées dans une base de données relationnelle locale appelée “FlavoSymDB”. Cette base comporte plusieurs tables interconnectées (GENES, SPECIES, SEQUENCES, ANNOTATIONS, PROTEINPRODUCT, EXPRESSIONDATA). Des relations ont été établies via des clés primaires et étrangères pour garantir la cohérence de l’ensemble.

```

2  <html lang="fr">
314  <body>
531    <script>
533      const database = {
534        species: [
535          {
536            id: 5,
537            scientific_name: "Triticum aestivum",
538            common_name: "Bread wheat (blé)",
539            kingdom: "Plantae",
540            genome_size: "14.6 Gb",
541            num_chromosomes: 21,
542            gc_content: "46%",
543            assembly_name: "IMGSC CS RefSeq v2.1",
544            assembly_type: "haploid",
545            num_contigs: 306348,
546            publication_date: "2018-08-16",
547            sequencing_technology: "Illumina + PacBio",
548            bioproject_accession: "PRJNA386242",
549            publication_reference: "IMGSC 2018, Science"
550          },
551          {
552            id: 6,
553            scientific_name: "Hordeum vulgare",
554            common_name: "Domesticated barley (orge)",
555            kingdom: "Plantae",
556            genome_size: "6 Gb"
557          }
558        ],
559      }
560    </script>
561  </body>
562</html>

```

Figure 13 Structure de données JavaScript représentant une espèce végétale dans FlavoSymDB

VIII.8 Développement de l'interface web pédagogique

Une interface web a été conçue pour permettre l'exploration facile de la base. Le site, développé en HTML5/CSS3/JavaScript, offre une navigation simple à travers des fiches de gènes, des filtres par espèce, condition ou type de séquence. Chaque fiche regroupe les informations biologiques essentielles



Figure 14 l’interface web

VIII.9 Analyse comparative fonctionnelle

Enfin, une analyse qualitative a été menée afin de comparer la richesse, la redondance et les niveaux d’expression des gènes entre les légumineuses et les céréales. L’objectif était d’illustrer la spécificité des gènes flavonoïdes dans les processus symbiotiques chez les *Fabaceae*, en contraste avec leur présence plus limitée chez les *Poaceae*.

VIII.10 Conception et modélisation de la base de données FlavoSymDB

La base de données développée, appelée FlavoSymDB, repose sur une modélisation relationnelle permettant de représenter des entités biologiques complexes et leurs relations fonctionnelles. Cette base a été conçue localement, sans système de gestion de base SQL, à des fins pédagogiques. Elle est structurée autour de plusieurs tableaux principaux

Tableau 9 tableaux principaux FlavoSymDB

Table	Description
Species	informations taxonomiques et génomiques des espèces (nom, type, génome, chromosomes...)
Genes	identifiants, noms, fonctions, familles, positions génomiques, espèces associées
Sequences	séquences adn et protéines au format fasta

Annotations	données fonctionnelles (pfam, go, interpro, ec numbers...)
Proteinproduct	détails des protéines traduites (masse, isoforme, pi, localisation subcellulaire...)
Expressiondata	niveaux d'expression simulés selon les tissus et conditions expérimentales

Résultats et Discussion

IX Résultat et Discussion :

IX.1 Résultats :

IX.1.1 Présentation des données génétiques

Dans cette étude, une base de données bio-informatique simulée, nommée FlavoSymDB, a été construite afin de rassembler les gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des flavonoïdes. Au total, 28 gènes ont été collectés à partir de différentes espèces végétales :

- *Medicago truncatula* et *Pisum sativum* (légumineuses symbiotiques)
- *Triticum aestivum* (blé) et *Hordeum vulgare* (orge) – céréales non symbiotiques
- *Arabidopsis thaliana* – plante modèle
- *Rhiobium leguminosarum* – bactérie symbiotique

Chaque gène est associé à :

- Une fonction biologique (ex. : *synthèse de chalcones, hydroxylation, glycosylation*) (Dong & Song, 2020)
- Une séquence codante (ADN, protéine)
- Des annotations fonctionnelles :
 - GO (Gene Ontology) : fonctions biologiques, moléculaires et localisation (Ashburner *et al.*, 2000)
 - Pfam / InterPro : domaines protéiques structuraux (Finn *et al.*, 2016)

IX.1.2 Comparaison du nombre de gènes entre espèces :

L’analyse montre que chez les légumineuses, le nombre de gènes est plus élevé, et certains sont dupliqués (présents en plusieurs copies), comme CHS et CHI (Wasson *et al.*, 2006). Cela reflète une adaptation évolutive liée à la symbiose racinaire (Sprent, 2001) (LPWG, 2017). D’autre part, chez les céréales, les gènes flavonoïdes sont moins nombreux, sans duplications notables. Leur rôle semble plus général (pigmentation, défense) (Genre *et al.*, 2020).

- Chez les Fabaceae :

Les gènes tels que CHS, CHI et F3H sont fortement exprimés dans les racines, notamment au niveau des nodules symbiotiques. Cette expression est accentuée en conditions mimant la présence de bactéries fixatrices d'azote comme *Rhizobium leguminosarum* (Gifford et al., 2018). Cette activation s'explique par la production de flavonoïdes excrétés par les racines, qui agissent comme signaux chimiques. Ces composés induisent l'expression des gènes nod chez les bactéries via le régulateur NodD, initiant ainsi le processus de nodulation (Peters et al., 1986) (Oldroyd & Downie, 2008)

➤ Chez les Poaceae :

Chez les *Poaceae*, l'expression des gènes flavonoïdes est faible, voire totalement absente dans les tissus racinaires. Cette observation corrobore leur non-implication dans les mécanismes symbiotiques, contrairement aux *Fabaceae* chez qui ces gènes sont fortement mobilisés durant l'interaction plante-bactérie (Genre et al., 2020)

Tableau 10 Comparaison des gènes flavonoïdes entre les *Fabaceae* et les *Poaceae*

Critère	<i>Fabaceae</i> (légumineuses)	<i>Poaceae</i> (céréales)
Nombre total de gènes étudiés	Élevé (ex. CHS, CHI, F3H, FLS, UGT, ...)	Limité (souvent CHS et CHI uniquement)
Duplication génique	Oui (familles multigéniques observées)	Rare ou absente
Expression racinaire	Forte (surtout dans les nodules)	Faible ou absente
Rôle des flavonoïdes	Signalisation symbiotique, activation des gènes nod	Pigmentation, photoprotection, défense secondaire
Spécificité fonctionnelle	Adaptée à l'interaction avec <i>Rhizobium</i>	Fonction métabolique basique
Type de données dans FlavoSymDB	Diversifiée et annotée (GO, Pfam, EC)	Présente mais moins annotée
Importance symbiotique	Primordiale	Nulle

IX.2 Discussion :

Les résultats obtenus à partir de la base de données FlavoSymDB et de l'analyse comparative des 28 gènes flavonoïdes permettent de mieux comprendre les différences fonctionnelles entre les espèces symbiotiques (*Fabaceae*) et non symbiotiques (*Poaceae*).

IX.2.1 Richesse et diversification génique chez les *Fabaceae* :

Les légumineuses étudiées (*Medicago truncatula* et *Pisum sativum*) présentent un nombre plus élevé de gènes flavonoïdes, souvent dupliqués (ex. CHS, CHI), ce qui reflète une évolution adaptative favorisant leur spécialisation symbiotique.

Cette diversité génétique permet une production variée de flavonoïdes impliqués non seulement dans la défense, mais aussi dans la communication symbiotique avec Rhizobium (Sprenz, 2001 ; Wasson *et al.*, 2006)

IX.2.2 Expression ciblée dans les tissus symbiotiques :

L'expression simulée a montré que ces gènes sont fortement exprimés dans les racines et les nodules, surtout en réponse à la présence de bactéries fixatrices d'azote (Gifford *et al.*, 2018)

Des composés tels que la *lutéoline* ou la *génistéine* agissent comme inducteurs des gènes nod chez les rhizobia, initiant le dialogue moléculaire nécessaire à la formation des nodules (Peters *et al.*, 1986 ; Oldroyd & Downie, 2008)

IX.2.3 Absence de spécialisation chez les céréales

Chez les *Poaceae* (*Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare*), les gènes flavonoïdes sont présents en moindre nombre, avec peu ou pas de duplications.

Leur expression est généralement faible ou absente dans les racines, et leur rôle se limite à des fonctions secondaires (pigmentation, photoprotection) sans implication dans la symbiose (Genre *et al.*, 2020)

IX.2.4 Importance pédagogique de FlavoSymDB :

Au-delà de sa valeur scientifique, le développement de FlavoSymDB présente un intérêt pédagogique notable. En effet, cette base de données a été conçue de manière simple, locale et accessible, ce qui la rend adaptée à un usage éducatif. Elle permet notamment :

- d'offrir une plateforme évolutive pouvant être enrichie dans le futur avec de nouvelles espèces, des données transcriptomiques ou d'autres familles géniques.

- d'introduire les étudiants aux outils et langages de la bio-informatique (HTML, JSON, JavaScript) dans un contexte pratique
- de visualiser et comparer les gènes entre espèces symbiotiques et non symbiotiques, facilitant ainsi la compréhension des différences évolutives et fonctionnelles
- D'expliquer les notions essentielles de la biologie moléculaire (gène, annotation, voie métabolique, duplication, expression...) en utilisant des données concrètes.

IX.3 Conclusion et perspective :

Notre travail a permis de développer une base de données bio-informatique simulée, nommée FlavoSymDB, dédiée à l'étude comparative des gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des flavonoïdes chez différentes espèces végétales, notamment les légumineuses (*Fabaceae*) et les céréales (*Poaceae*). À travers une approche combinant collecte de données biologiques, modélisation relationnelle et développement web, ce projet a abouti à un outil pédagogique complet et fonctionnel.

- Les résultats obtenus montrent clairement que :

Les légumineuses, capables d'entrer en symbiose avec des bactéries fixatrices d'azote (*Rhizobium*), possèdent une plus grande diversité de gènes flavonoïdes. Certains de ces gènes, comme CHS, CHI ou F3H, sont dupliqués et hautement exprimés, particulièrement dans les racines et nodules symbiotiques. Cette surreprésentation confirme le rôle essentiel des flavonoïdes dans la signalisation chimique qui initie la symbiose plante-bactérie. En comparaison, chez les *Poaceae* (céréales), ces mêmes gènes sont moins nombreux, rarement dupliqués, et leur expression est faible, suggérant une implication dans des fonctions plus générales comme la pigmentation ou la protection UV, sans relation avec la symbiose.

- Sur le plan technique et pédagogique, la base FlavoSymDB a démontré :

Il est possible de créer un environnement bio-informatique interactif sans la nécessité d'utiliser un serveur. Faciliter l'accès à l'information via une interface web intuitive, et rendre l'apprentissage des concepts de la génomique fonctionnelle plus accessible
Dans un cadre universitaire ou autodidacte.

IX.3.1 Perspectives :

Pour approfondir ce travail, plusieurs pistes peuvent être envisagées. Il serait pertinent d'intégrer des données expérimentales issues de la transcriptomique (RNA-seq) ou de la protéomique, afin d'enrichir et de valider les résultats obtenus. L'élargissement du champ

d'étude à d'autres espèces végétales ou bactériennes permettrait également de renforcer la dimension comparative de l'analyse. Par ailleurs, le développement d'une interface en ligne interactive, offrant des filtres dynamiques, des options d'exportation de données et des outils de visualisation graphique, améliorerait considérablement l'accessibilité et l'exploitation de la base. Enfin, le modèle FlavoSymDB pourrait être adapté à l'étude d'autres voies métaboliques liées à la défense, à la nutrition ou à la croissance, voire à d'autres types d'interactions symbiotiques, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives de recherche.

Liste des références bibliographiques

X Liste des références bibliographies:

- ARABIDOPSIS GENOME INITIATIVE. (2000). "ANALYSIS OF THE GENOME SEQUENCE OF THE FLOWERING PLANT ARABIDOPSIS THALIANA." NATURE 408(6814): 796–815
- BIALA, K. ET AL. (2017). FLAVONOIDS REGULATE NODULE DEVELOPMENT AND SENESCENCE IN *MEDICAGO TRUNCATULA*. J. EXP. BOT., 68(6), 1331–1345.
- BORISOV, A. Y., ET AL. (2004). PEA (*PISUM SATIVUM L.*) SYMBIOTIC MUTANTS: REVIEW OF PHENOTYPES AND MAPPING. RUSSIAN JOURNAL OF GENETICS, 40(2), 126–138.
- CATOIRA, R. ET AL. (2000). FOUR GENES OF *MEDICAGO TRUNCATULA* CONTROLLING COMPONENTS OF A NOD FACTOR TRANSDUCTION PATHWAY. PLANT CELL, 12(9), 1647–1666.
- CHAINTREUIL, C., ET AL. (2000). APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, 66(12), 5437–5447.
- CHALHOUB, B. (2005). STRUCTURE, EVOLUTION ET ORGANISATION DU GENOME DE BLE TENDRE HEXAPLOÏDE. IN : COLLOQUE SUR LES GENOMES DES PLANTES CULTIVEES, INRA, FRANCE
- DAKORA, F. D., & PHILLIPS, D. A. (2002). ROOT EXUDATES AS MEDIATORS OF MINERAL ACQUISITION IN LOW-NUTRIENT ENVIRONMENTS. PLANT AND SOIL, 245(1), 35–47.
- DELAUX, P.-M., ET AL. (2015). *COMPARATIVE PHYLOGENOMICS UNCOVERS THE IMPACT OF SYMBIOTIC ASSOCIATIONS ON HOST GENOME EVOLUTION*. PLOS GENETICS, 11(7), e1005288.
- DHALGREN, G., & CLIFFORD, H. T. (1985). THE MONOCOTYLEDONS: A COMPARATIVE STUDY. IN BRABRI, A., & DERRADJI, A. (2005). CLASSIFICATION ET SYSTEMATIQUE DU BLE TENDRE. MEMOIRE DE FIN D'ETUDES, INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE, EL HARRACH.
- DONG, W., & SONG, Y. (2020). THE SIGNIFICANCE OF FLAVONOIDS IN BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION. INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES, 21(16), 5926.
- FEILLETT, P. (2000). LE GRAIN DE BLE : COMPOSITION ET UTILISATION. PARIS: EDITIONS LAVOISIER.

- FELDMANN, K.A. (1991). "T-DNA INSERTION MUTAGENESIS IN ARABIDOPSIS: MUTANT COLLECTION AND MAPPING." *METHODS IN CELL BIOLOGY* 49: 137–149.
- GENRE, A. ET AL. (2020). CURRENT OPINION IN PLANT BIOLOGY, 56, 74–81.
- GENRE, A., CHABAUD, M., TIMMERS, A.C.J., ET AL. (2020). EVOLUTION OF SYMBIOTIC SIGNALING IN LEGUMES AND CEREALS. *PLANT PHYSIOLOGY*, 183(3), 1083–1096.
- GIFFORD, M.L., DEAN, A., & JONES, K. (2018). FLAVONOID BIOSYNTHESIS PATTERNS IN MEDICAGO NODULES. *FRONTIERS IN PLANT SCIENCE*, 9, 100
- GUTJAHR, C., & PARNISKE, M. (2013). *CELL AND DEVELOPMENTAL BIOLOGY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZA SYMBIOSIS*. ANNUAL REVIEW OF CELL AND DEVELOPMENTAL BIOLOGY, 29, 593–617.
- HASSAN, S., & MATHESIUS, U. (2012). THE ROLE OF FLAVONOIDS IN ROOT–RHIZOSPHERE SIGNALLING: OPPORTUNITIES AND CHALLENGES FOR IMPROVING PLANT–MICROBE INTERACTIONS. *JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY*, 63(9), 3429–3444.
[HTTPS://DOI.ORG/10.1093/JXB/ERS085](https://doi.org/10.1093/jxb/ers085)
- ITGC (INSTITUT TECHNIQUE DES GRANDES CULTURES). (2001). GUIDE TECHNIQUE DE LA CULTURE DU BLE TENDRE EN ALGERIE. ALGER : ITGC PUBLICATIONS.
- JIN, H., ET AL. (2005). "FLAVONOIDs REGULATE AUXIN TRANSPORT IN ARABIDOPSIS." *PLANT CELL* 17(6): 1759–1770.
- LEROUGE, P., ET AL. (1990). NATURE, 344(6268), 781–784.
- LIMPENS, E. ET AL. (2013). MOLECULAR REGULATION OF NODULE DEVELOPMENT. *NEW PHYTOLOGIST*, 200(4), 887–898.
- .LIU, J.–L. & MURRAY, J.D. (2016). WIRELESS PLANT INTERACTIONS REVIEW.
- LPWG – LEGUME PHYLOGENY WORKING GROUP (2017). A NEW SUBFAMILY CLASSIFICATION OF THE LEGUMINOSAE. *TAXON*, 66(1), 44–77.
- MARSH, J. F. ET AL. (2007). GENE ACTIVATION CASCADE FOR NODULE ORGANOGENESIS IN *MEDICAGO TRUNCATULA*. *PLANT PHYSIOLOGY*, 144(2), 597–606.

MASCHER, M. ET AL. (2017). A CHROMOSOME CONFORMATION CAPTURE ORDERED SEQUENCE OF THE BARLEY GENOME. NATURE, 544(7651), 427–433. [Https://doi.org/10.1038/nature22043](https://doi.org/10.1038/nature22043).

MDPI (2022). TRANSCRIPTOMIC ANALYSIS IN *P. SATIVUM* CONFIRMING FLAVONOID GENE EXPRESSION .

MERGAERT, P., ET AL. (2006). PNAS, 103(13), 5230–5235.

OLDROYD, G. E. D. (2013). SPEAK, FRIEND, AND ENTER: SIGNALLING SYSTEMS THAT PROMOTE BENEFICIAL SYMBIOTIC ASSOCIATIONS IN PLANTS. NATURE REVIEWS MICROBIOLOGY, 11(4), 252–263.

OLDROYD, G. E. D., & DOWNIE, J. A. (2008). ANNUAL REVIEW OF PLANT BIOLOGY, 59, 519–546.

OLDROYD, G. E. D., & DOWNIE, J. A. (2008). COORDINATING NODULE MORPHOGENESIS WITH RHIZOBIAL INFECTION IN LEGUMES. ANNU. REV. PLANT BIOL., 59, 519–546.

OLDROYD, G.E.D. & DOWNIE, J.A. (2008). COORDINATING NODULE MORPHOGENESIS WITH RHIZOBIAL INFECTION IN LEGUMES. ANNUAL REVIEW OF PLANT BIOLOGY, 59, 519–546.

PEER, W.A., & MURPHY, A.S. (2007). “FLAVONOIDS AS REGULATORS OF AUXIN TRANSPORT.” PLANT PHYSIOL. 143(1): 3–10

PEREZ GUERRA, J. C., ET AL. (2010). MOLECULAR PLANT-MICROBE INTERACTIONS, 23(11), 1395–1404.

PERRET, X., ET AL. (2000). MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS, 64(1), 180–201.

PETERS, N.K., FROST, J.W., & LONG, S.R. (1986). A PLANT FLAVONE, LUTEOLIN, INDUCES EXPRESSION OF RHIZOBIUM MELILOTI NODULATION GENES. SCIENCE, 233(4767), 977–980.

PRENT, J.I. (2001). NODULATION IN LEGUMES. ROYAL BOTANIC GARDENS, KEW.

ROGERS, C. & OLDROYD, G.E.D. (2014). J. EXP. BOT., 65, 1939–1946.

ROGERS, C., & OLDROYD, G. E. D. (2014). JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY, 65(8), 1939–1946.

ROUX, B., ET AL. (2014). THE PLANT JOURNAL, 77(6), 817–837.

SPRENT, J.I. (2001). NODULATION IN LEGUMES. ROYAL BOTANIC GARDENS, KEW.

SUBRAMANIAN, S. ET AL. (2006). FLAVONOID BIOSYNTHESIS GENES AND THEIR ROLE IN NODULATION IN *MEDICAGO TRUNCATULA*. PLANT PHYSIOLOGY, 140(4), 1221–1232.

SUBRAMANIAN, S. ET AL. (2006). GENE EXPRESSION PROFILING OF FLAVONOID BIOSYNTHESIS PATHWAY IN *MEDICAGO*. PLANT PHYSIOLOGY, 140(4), 1467–1481.

SUBRAMANIAN, S., STACEY, G., & YU, O. (2006). FLAVONOID BIOSYNTHESIS GENES AND THEIR ROLE IN NODULATION IN *MEDICAGO TRUNCATULA*. PLANT PHYSIOLOGY, 140(2), 499–511.
[HTTPS://DOI.ORG/10.1104/PP.105.072801](https://doi.org/10.1104/PP.105.072801)

TOHGE, T., & FERNIE, A.R. (2017). “FLAVONOIDS IN FRUITS AND VEGETABLES: A METABOLIC VIEW.” PHYTOCHEMISTRY REVIEW 16(1):133–145.

TREUTTER, D. (2006). SIGNIFICANCE OF FLAVONOIDS IN PLANT RESISTANCE: A REVIEW. ENVIRONMENTAL CHEMISTRY LETTERS, 4(3), 147–157.6

UDVARDI, M. & POOLE, P.S. (2013). ANNUAL REVIEW OF PLANT BIOLOGY, 64, 781–805.

VAN DE VELDE, W. ET AL. (2010). PLANT PEPTIDES GOVERN TERMINAL DIFFERENTIATION OF BACTERIA IN SYMBIOSIS. SCIENCE, 327(5969), 1122–1126.

WASSON, A.P., PELLERONE, F.I., & MATHESIUS, U. (2006). SILENCING THE FLAVONOID PATHWAY IN *MEDICAGO TRUNCATULA* INHIBITS NODULE FORMATION AND ALTERS AUXIN TRANSPORT. PLANT PHYSIOLOGY, 141(2), 347–359.

WESTON, L. A., ET AL. (2012). IN ROOT ENGINEERING, SPRINGER, PP. 85–104.

YOUNG, N. D. ET AL. (2011). THE *MEDICAGO* GENOME PROVIDES INSIGHT INTO THE EVOLUTION OF RHIZOBIAL SYMBIOSSES. NATURE, 480, 520–524. [HTTPS://DOI.ORG/10.1038/NATURE10625](https://doi.org/10.1038/NATURE10625)

ZHANG, X., ET AL. (2006). “AGROBACTERIUM-MEDIATED TRANSFORMATION OF *ARABIDOPSIS THALIANA* USING THE FLORAL DIP METHOD.” NATURE PROTOCOLS 1(2): 641–6.

Année universitaire : 2024-2025

Présenté par :
GUEDOUAH Ouissal Aridj
DJEZZAZ Lamis

Thème

Comparaison entre les séquences des légumineuses et des céréales.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Bioinformatique

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires végétaux impliqués dans divers processus biologiques, notamment dans la signalisation symbiotique entre les légumineuses et les bactéries fixatrices d'azote. Ce mémoire vise à comparer les gènes impliqués dans la biosynthèse des flavonoïdes entre deux groupes majeurs de plantes : les légumineuses symbiotiques (*Fabaceae*) et les céréales non symbiotiques (*Poaceae*).

Pour cela, une base de données bio-informatique simulée, nommée FlavoSymDB, a été développée. Elle regroupe 28 gènes issus de plusieurs espèces végétales modèles (*Medicago truncatula*, *Pisum sativum*, *Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare*, *Arabidopsis thaliana*) et une bactérie symbiotique (*Rhizobium leguminosarum*). Ces gènes ont été annotés, comparés, et représentés via une interface web locale conçue en HTML/CSS/JavaScript, sans serveur.

Les résultats montrent une diversité génétique plus marquée et une expression plus ciblée des gènes flavonoïdes chez les *Fabaceae*, notamment dans les racines et les nodules. En revanche, les *Poaceae* présentent une expression faible et une absence d'implication dans la symbiose. Le projet FlavoSymDB offre ainsi un outil pédagogique interactif, adaptable à d'autres études comparatives en bioinformatique végétale.

Mots-clefs : flavonoïdes, *Fabaceae*, *Poaceae*, gènes, symbiose, bioinformatique.

Président : Dr.GHERBOUDJ. Ouisse (MCA) (U.Constantine 1 Frères Mentouri)

Encadrant : Dr.AMINE KHODJA.Ihsene Rokia (MCB) (U.Constantine 1 Frères Mentouri)

Examinateur : Dr. DJEZZAR. Nedjma (MCB) (U.Constantine 1 Frères Mentouri)

