

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

## Université Constantine-1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie et Ecologie Végétale  
Filière Sciences Biologiques

### Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en  
Biologie et Génomique Végétales

### Thème

**Recherche *in silico* et conception d'amorce des  
gènes de tolérance au stress abiotique chez le blé**

Présenté par : SAHBI Manel

**Soutenu le :** 22 juin 2014

Devant le jury d'évaluation :

**Président (e) :** Mme. YKHLEF Nadia                      Professeur à l'université Mentouri -1-

**Encadreur :** Mme. BOUSBA Ratiba                      Docteur à l'université Mentouri -1-

**Examineur :** Mr. TEMAGOULT Mahmoud              Maitre assistant à l'université Mentouri -1-

**Année universitaire 2013-2014**

## *Remerciement*

Je tiens à remercier mon encadreur Mme : (BOUSBA Ratiba), pour ses précieux conseils et l'orientation du travail durant toute sa réalisation.

Mes remerciements vont également à tous mes enseignants durant mes années d'études.

Mes plus vifs remerciements vont également aux membres du jury Mme YKHLEF Nadia et Mr. TEMAGOULT Mahmoud pour l'intérêt qu'ils ont porté à ma recherche en acceptant d'examiner mon travail Et de l'enrichir par leurs propositions.

Je n'oublie pas mes parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à toutes et à tous.

## *Dédicaces*

*A mes parents, les deux êtres les plus chers de mon existence. Merci de m'avoir appris que dans ce monde, « Rien n'est impossible, qu'il suffit d'y croire et de se donner la peine d'y parvenir ».*

*SAHBI Manel*

## **Abstract**

The abiotic stress affects the performance of plants including cereals (wheat); several techniques have been used throughout history (mass selection, genealogic selection, *in vitro*, *in vivo* ...). A new branch of biology was established namely *in silico* approach the aim is that the recherches of laboratories are processed and grouped into databases most of which are available to all biologists.

This thesis aims to find genes for resistance to abiotic stress by *in silico* and primer design. In this research several genes have been identified with the designation of thirty-nine primers relatif of these genes. These data will be used as the database used in research laboratories.

**Keywords:** wheat, abiotic stress, *in silico*, primer design.

## ملخص

الإجهاد اللاحيوي من المشكلات التي نضرب محصول النباتات خاصة محصول الحبوب (القمح) , وقد استعملت عدة تقنيات عبر الزمن مثل (اختيار الشامل , تقنية جينياتالوجيك , الزراعة في المختبر , الزراعة خارج المختبر ....) وأنشئ فرع جديد من علم الأحياء وبالتحديد في سيليكون بهدف القيام بمعالجة المعلومات و جمعها في بنك المعطيات لتصبح في متناول جميع باحتي علم الأحياء .

تهدف هذه الأطروحة للعثور على جينات مقاومة للإجهاد اللاحيوي عن طريق البحث في السليكون و تصميم قطع من الحمض الريبي منقوص الأكسجين في هذا البحث , و تم تحديد العديد من الجينات مع تعيين تسعة وثلاثين قطعة من الحمض الريبي منقوص الأكسجين مماثلة لهذه الجينات . وسوف تستخدم هذه البيانات في قاعدة بيانات و التي يمكن استخدامها في مختبرات البحوث .

# **SOMMAIRE**

## **INTRODUCTION**

### **CHAPITRE 1 : LE BLE**

1-Classification botanique et caractéristique de blé .....	01
2-Composition histologique du grain .....	02
3-Importance du blé.....	04
3.1- Dans le monde.....	04
3.1.1-La production mondiale du blé.....	04
3.1.2-Les principaux pays exportateurs de blé dans le monde.....	05
3.1.3-Les importations de blé dans le monde par grandes zones et principaux pays importateur.....	06
3.2- En Algérie.....	07
3.2.1-Occupation des sols .....	07
3.2.2-Consommations des céréales.....	07
3.2.3-La production nationale.....	08
3.2.4-Les importations du blé.....	08

### **CHAPITRE 2 : LE STRESS ABIOTIQUE**

1- Le stress abiotique et effets sur les plantes .....	09
1.1-Le stress hydrique.....	09
1.2-Le stress thermique.....	10
1.2.1- Les basses températures.....	10
1.2.2- Les hautes températures.....	10
1.3-Le stress salin.....	11
2- Perception du stress.....	13
2.1- Le calcium .....	13
3- Transduction du signal.....	14
3.1-Les protéines Kinases dépendantes du calcium.....	14
3.2- Les voies des MAPKinses.....	14
4- Les facteurs de transcription.....	15
4.1-Les facteurs de transcription AP2.....	16
4.1.1-La sous-famille CBF/DREB.....	16
5- Expression de protéines responsables de la résistance au stress.....	17

5.1- Les protéines chaperonnes.....	17
5.1.1- Les HSPS.....	17
5.1.2- Les LEA.....	18
<b>CHAPITRE3 : LA BIOINFORMATIQUE</b>	
1-Définition de la discipline.....	19
2- Principaux acteurs.....	20
3-Généralité sur les bases de données.....	20
3.1- Qu'est ce qu'une banque de données ?.....	21
3.2- Qu'est ce qu'une base de données ? .....	22
3.3- Les bases de données génomiques.....	23
4- Les outils de la bioinformatique.....	23
<b>CHAPITRE 4 : METHODOLOGIE DE TRVAIL</b>	
1-Recherche in silico des gènes .....	25
1.1- Le portail des données référencées sur NCBI.....	25
1.2- Le portail d'entrée d'EMBL-EBI.....	26
2- Conception des amorces .....	27
2.1- Longueur de l'amorce .....	27
2.2- Tm .....	27
2.3- Séquence à l'extrémité 3'.....	28
2.4- Spécificité .....	28
2.5- Séquences d'amorce complémentaires .....	28
2.6- Teneur en G/C .....	29
<b>CHAPITRE 5 : RESULTATS</b>	
1- Les résultats de la recherche <i>in silico</i> des gènes du blé induits par le stress abiotique.....	30
2- Résultats de conception d'amorces.....	33
<b>CONCLUSION</b> .....	38
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	39
<b>ANNEXES</b>	

## ***LISTE DES TABLEAUX***

<b>Tableau 1 :</b> Classification des <i>Triticum</i> .....	01
<b>Tableau 2 :</b> principaux pays exportateurs du blé dans le monde.....	05
<b>Tableau 3 :</b> Les principaux importateurs de blé dans le monde.....	06
<b>Tableau 4 :</b> Outils de la bioinformatique.....	24
<b>Tableau 5 :</b> Gènes induit par le stress abiotique chez le blé.....	30
<b>Tableau 6 :</b> conception d'amorce.....	33



## *LISTE DES FIGURES*

<b>Figure 1</b> : Coupe d'un grain de blé.....	03
<b>Figure 2</b> : Production mondiale du blé.....	04
<b>Figure 3</b> : Représentation générale de la réponse au stress abiotique chez les plantes...	12
<b>Figure 4</b> : Classification des bases de données biologiques.....	22
<b>Figure 5</b> : Portail des données référencées sur NCBI.....	25
<b>Figure 6</b> : Portail d'entrée d'EMBL-EBI.....	26

## *LISTE DES ABREVIATIONS*

AP2	Apetala2
BD	Bases de Données
CBF	CRT- binding factor
CDPK	Protéines Kinases Dépendantes du Calcium
COR	Cold-regulated
CRT	C- repeat
DDBJ	DNA Data Bank of Japan
DRE	Dehydration responsive element
DREB	DRE binding protein
EBI	European Bioinformatique Institut
EMBL	European Molecular Biology Laboratory
EREBP	Ethylene responsive element binding protein
ERF	Ethylene responsive element binding factor
F.A.O	Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
FT	Facteur de transcription
HSPS	Heat Shock proteins
LEA	Late Embryogenesis abundant
MAPKs	Mitogen- activated protein Kinases
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDB	Protein Data Bank
SGBD	Système de Gestion de Bases de Données
T <sub>m</sub>	Température de fusion

# **INTRODUCTION**

## **INTRODUCTION**

L'amélioration génétique des céréales est l'ensemble de la démarche scientifique et technique qui permet de mettre à la disposition de l'agriculture des variétés de plus en plus performantes au service de l'homme.

Plusieurs techniques ont été utilisées à travers l'histoire (Sélection Massale, Sélection Généalogique, Bakcross, In vitro...). L'évolution de la biologie des dix dernières années montre qu'à côté des approches classiques in vivo et in vitro, une troisième approche s'est imposée, à savoir in silico, plus couramment appelée bioinformatique.

La bioinformatique recourt à la méthode comparative. Des logiciels de comparaison explorent les banques de données (gènes et de protéines déjà identifiés et annotés) leur principale mission est de rendre publique les séquences qui ont été déterminées. L'un des intérêts de ces banques est la masse de séquences qu'elles contiennent. On y trouve également une bibliographie et une expertise biologique directement liées aux séquences traitées. Pour que l'utilisateur puisse s'y repérer, toutes ces informations sont mises à la disposition de la collectivité scientifique selon une organisation en rubrique ou en champs. (Coutouly, 2006). Ceci étant dit nous nous intéresserons aux céréales qui restent prépondérantes dans la couverture des besoins alimentaires de notre population et ce malgré une certaine amélioration dans la consommation d'autres produits, mais le modèle de consommation reste de type céréalier. (Malassis, 1997)

Néanmoins la production nationale des céréales reste très fluctuante d'une année à l'autre. le rendement chute d'une manière importante dans le cas d'un stress abiotique d'où le recours aux biotechnologies pour la création de nouvelles variétés plus résistantes et plus productrices.

Dans ce contexte l'objectif de ce travail est la recherche des gènes de résistance à un stress abiotique par la recherche in silico et l'interrogation de base de données spécialisées (Genbank) et désignation d'amorce par le logiciel Primer3 des gènes de résistances au stress abiotique qui serviront comme base de donnée utilisée dans des laboratoires de biotechnologie et d'amélioration des plantes.

Nous nous intéressons plus particulièrement aux céréales (blé) pour son importance en Algérie. Cette dernière peut être perçue à travers plusieurs facteurs socio-économiques (consommation alimentaire, première place dans les industries agroalimentaires, occupation des sols 80% de la SAU). (Djermoun, 2009)

# **Chapitre 1**

## **LE BLE**

## 1. Classification botanique, et caractéristiques de blé

Le blé est une monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des Gramineae. C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscents. Appelé caryopse, constitué d'une graine et de téguments. Les deux espèces les plus cultivées sont le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé dur (*Triticum durum*) mais il existe de nombreuses autres espèces de *Triticum* qui se différencient par leur degré de ploïdie ( blés diploïdes : génome AA ; blés tétraploïdes : génomes AA et BB ; blés hexaploïdes : génomes AA, BB et DD ) et par leur nombre de chromosomes (14, 28 ou 42) (tableau 1). Le blé tendre possède les trois génomes AA, BB et DD constitués chacun de sept paires de chromosomes homologues numérotés de 1 à 7 (A1...A7, B1...B7, D1...D7), soit au total 42 chromosomes ; le blé dur ne contient que les deux génomes AA et BB et 28 chromosomes. (Feillet, 2000)

**Tableau 1** : Classification des *Triticum* (Feillet, 2000)

forme sauvage	forme cultivée	nom commun	nombre de chromosomes (2n)	nature des génomes
<i>T. boeoticum</i> <sup>1</sup>	<i>T. monococcum</i>	engrain	14	AA
<i>T. urartu</i>			14	AA
<i>T. dicoccoides</i>	<i>T. dicoccum</i>	blé poulard	28	AA BB
	<i>T. durum</i>	blé dur	28	AA BB
	<i>T. polonicum</i>	blé de pologne	28	AA BB
	<i>T. turgidum</i>		28	AA BB
	<i>T. araraticum</i>		28	AA BB
T.mon x	<i>T. aestivum</i>	blé tendre	42	AA BB DD
T.spex As <sup>2</sup>	<i>T. spela</i>	épeautre	42	AA BB DD
(hypothétique)	<i>T. sphaerococcum</i>	blé indien nain	42	AA BB DD
	<i>T. compactum</i>	blé club	42	AA BB DD

(1)T= *Triticum* ; (2) *T. monococcum* x *T. speltoides* x *Aegilops squarrosa*

## 2. Composition histologique du grain

Un grain de blé est formé de trois régions (figure1) :

- l'albumen, constitué de l'albumen amylicé (au sein duquel subsistent des cellules remplies de granules d'amidon dispersé au milieu d'une matrice protéique et dont les parois celluloses sont peu visibles) et de la couche à aleurone (80-85%).
- les enveloppes de la graine et du fruit, formée de six tissus différents : épiderme du nucelle, tégument séminal ou testa (enveloppe de la graine), cellules tubulaires, cellules croisées, mésocarpe et épicarpe (13-17%).
- le germe (3%), composé d'un embryon (lui-même formé du coléoptile, de la gemmule, de la radicule, du coléorhize et de la coiffe) et du scutellum.

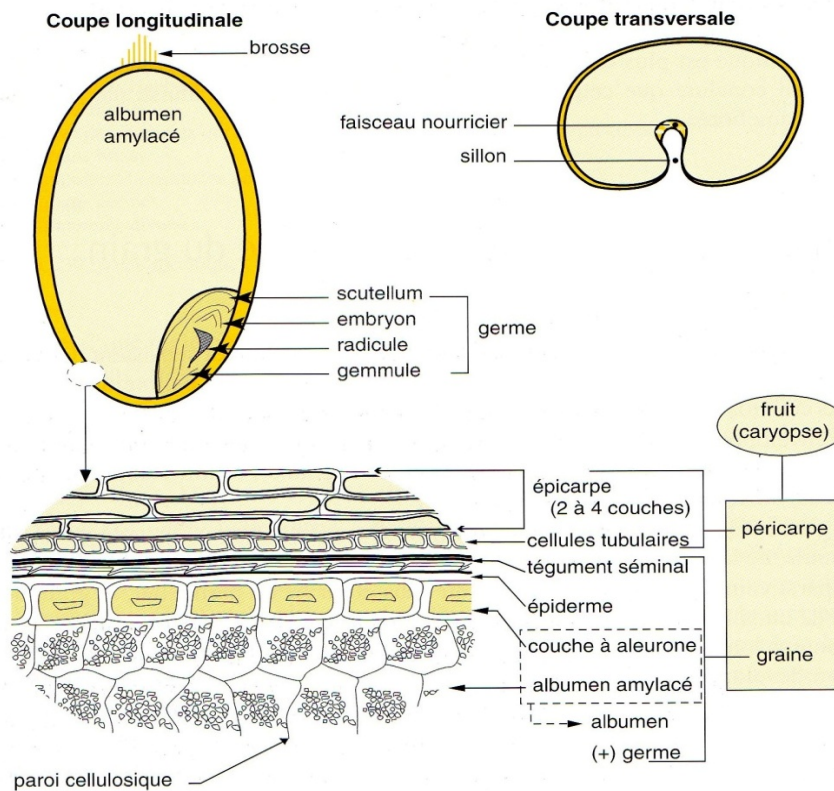
Comparativement à d'autres céréales, du maïs et du riz en particulier, le grain de blé possède un sillon résultant d'une invagination des téguments vers l'intérieur du grain, sur toute sa longueur et du côté du germe ; les faisceaux nourriciers de la graine au cours de son développement sont localisés au fond de ce sillon. Sa présence détermine la manière dont s'opère la séparation de l'albumen et des enveloppes pour extraire les farines ; il rend en effet impossible, comme en rizerie l'élimination progressive des téguments par abrasion des parties périphériques.

La longueur du grain (plus grande dimension) est comprise entre 5 et 8mm, sa largeur entre 2 et 4 mm, son épaisseur entre 2,5 et 3,5mm, sa section longitudinale entre 10 et 16mm<sup>2</sup>, sa section transversale entre 4 et 7,5mm<sup>2</sup>, son poids entre 20 et 50mg et sa densité entre 1,3et 1,4. (Feillet, 2000)

Les grains de blé dur sont, en général, plus riches en gluten (environ 12 - 14 %) et plus pauvres en amidon, tandis que ceux du blé tendre sont plus riches en amidon (environ 65 %) et plus pauvres en gluten. En général, la différence est de 2 à 3 % en plus de gluten pour. Les blés durs où il varie de 12 à 14% contre 10 et 11% dans les blés tendres.



Toutefois, ces indications ne sont pas fixes, car l'on a pu constater des cas de blés tendres contenant une quantité de gluten supérieure à celle des blés durs. Cela dépend de l'influence du climat, de la variété et de la fumure, ou, si l'on préfère, du degré de fertilité du sol considéré spécialement au point de vue de sa richesse en azote.



**Figure 1** : Coupe d'un grain de blé (Feillet, 2000)

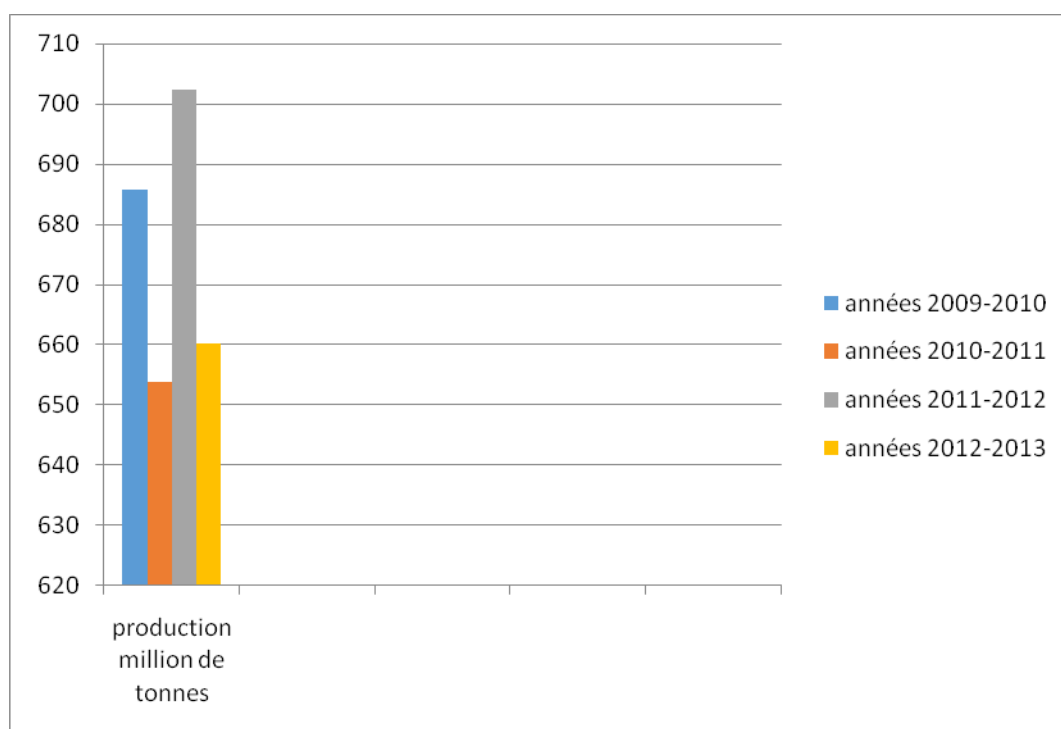
### 3. Importance du blé

#### 3.1 Dans le monde

Les céréales restent l'aliment de base de toute l'humanité, le Riz dans le sud-est asiatique, le maïs en Amérique latine, le blé en Afrique du nord, sorgho, mil en Afrique sahélienne. Les plus gros producteurs de blé sont la Chine, les États-Unis, l'Inde, la Russie et le Canada. Quantitativement, les États-Unis et le Canada sont les plus grands exportateurs de céréales.

Le blé représente près de 30 % de la production céréalière mondiale en volume, derrière le maïs (38 %) et devant le riz décortiqué (20 %). C'est aussi la céréale la plus échangée, les exportations représentant 20 % de la production totale de blé (12 % pour le maïs et 7 % pour le riz), ce qui lui confère une importance géostratégique majeure.

#### 3.1.1 La production mondiale du blé



**Figure2** : Production mondiale du blé (F.A.O, 2013)

### 3.1.2 Les principaux pays exportateurs de blé dans le monde

Les exportations de blés dans le monde en 2013 sont de 137.8 millions de tonnes dont les principaux pays exportateurs sont indiqués dans le tableau suivant :

**Tableau 2** : principaux pays exportateurs du blé dans le monde

(millions de tonnes)			
	2010/2011	2011/2012	2012/2013
Australie	18,5	23,1	20,6
Canada	16,3	18,2	19,4
Etats-Unis	35,7	27,9	28,5
Russie	4,0	21,6	10,6
Turquie	2,4	3,2	3,2
Union Européenne	22,1	15,6	19,0

### 3.1.3 Les importations de blé dans le monde par grandes zones et principaux pays importateurs

Les importations représentent 137.8 millions de tonnes en 2013 dont les principaux pays sont les suivants :

**Tableau 3** : Les principaux importateurs de blé dans le monde

(millions de tonnes)			
	2010/2011	2011/2012	2012/2013
<b>Europe</b>	<b>6,1</b>	<b>8,7</b>	<b>7,5</b>
- dont U.E.	4,7	7,2	6,1
<b>Ex-URSS</b>			
<b>Ex-URSS</b>	<b>5,4</b>	<b>7,9</b>	<b>7,7</b>
- dont Russie	-	0,5	1,8
- dont Ukraine	-	0,1	-
<b>Sud Amérique</b>			
<b>Sud Amérique</b>	<b>12,7</b>	<b>13,9</b>	<b>14,3</b>
- dont Brésil	6,6	7,0	7,5
- dont Colombie	1,3	1,5	1,5
- dont Pérou	1,8	1,7	1,7
- dont Vénézuela	1,4	1,7	1,7
<b>Afrique</b>			
<b>Afrique</b>	<b>38,0</b>	<b>42,3</b>	<b>37,7</b>
- dont Algérie	6,4	6,3	5,4
- dont Egypte	10,4	11,7	9,8
- dont Maroc	3,9	3,1	4,3

Nous remarquons que les pays exportateurs sont surtout les pays occidentaux et les pays importateurs des pays en voie de développement d'où les pressions économique-politiques sur ces derniers.

### **3.2 En Algérie**

En Algérie les céréales occupent une place très importante dans le modèle de consommation alimentaire. Cette importance peut être perçue à travers plusieurs facteurs socio-économiques (consommation alimentaire, place des industries de transformation des céréales, occupation des sols). (Djermoun, 2009)

#### **3.2.1 Occupations des sols**

La céréaliculture occupe trois millions d'hectares, environ 35% de la surface agricole utile (Bessad, 2006). Environ 80% de la surface agricoles utile (47% de Jachère). Une grande partie de ces terres sont situées dans les régions semi-arides, qui sont habituellement conduites en culture pluviale. (Mouhouche et Boulassel, 1997)

#### **3.2.2 Consommations des céréales**

La consommation des céréales en Algérie couvrent une part importante des besoins journaliers en calories et protéines comme le montre ces statistiques tirées du bilan des disponibilités alimentaires (F.A.O). (Bedrani, 2012)

Les disponibilités alimentaires en Kcal / personne / jour et en protéines en g/ personne et par jour pour la période 2005 /2009 étaient respectivement de 3151Kcal et de 87,1g, la part des céréales est d'environ 55% en énergie et en protéines. Les céréales restent prépondérantes dans la couverture des besoins alimentaires de la population malgré une certaine amélioration dans la consommation d'autres produits, mais le modèle de consommation reste de type céréalier. (Malassis ,1997). Néanmoins ces disponibilités restent tributaires des importations (69% pour les blés). (Bedrani, 2012)

Enfin les céréales occupent la première place dans les industries alimentaires (Djermoun, 2009) Ce bref aperçu montre l'importance des céréales dans l'économie algérienne.

Quand à la production nationale des céréales, elle reste très fluctuante d'une année à l'autre, 2434208Tonnes pour la période 2006-2010). (Bedrani, 2012)

### **3.2.3 La production nationale**

L'Algérie a produit 5.12 millions de tonnes (T) de céréales lors de la campagne 2011-2012 contre 4.24 million de T en 2010-2011 et 405 million de T en 2009-2010, alors qu'un record de 6.12 million de T avait été enregistré en 2008-2009 d'où l'importance des importations. (Anonyme, 2014)

### **3.2.4 Les importation du blé**

La facture des importations de blé a connu une stagnation en 2013 pour atteindre 2,12 milliards de dollars, soit la même valeur des importations de 2012, relèvent des douanes algériennes. En volume, les importation de blé tendre et dur ont atteint 6,29 millions de tonnes en 2012 contre 7.45 millions de tonnes une année auparavant, en baisse de 15,54% les achats de blé tendre, qui représentent une part importante des importations de céréales de l'Algérie, sont passées de 1,96 milliard de dollars pour une quantité de 5,55 millions de tonnes en 2011 à 1, 45 milliard de dollars pour 4,71 millions de tonnes en 2012, en baisse de 15,03% en valeur et de plus de 25,9% en volume. (Anonyme, 2014)

Ce sont les importations de blé tendre qui continuent d'alourdir la facture céréalière de l'Algérie, qui produit de plus en plus de blé dur et d'orge.

L'importance de la facture céréalière oblige à l'augmentation de la production par l'amélioration des techniques culturales et l'introduction des variétés performantes et résistantes aux différents aléas climatiques. (Anonyme, 2014)

# **Chapitre 2**

## **LE STRESS ABIOTIQUE**

## 1. Le stress abiotique et effets sur les plantes

Les plantes comme tout organisme vivant, est influencée durant toute sa vie par les conditions climatiques et édaphiques du milieu. Ces conditions, vont lui assurer soit un environnement favorable à la croissance et au développement, soit la soumettre à des facteurs de stress abiotique ou biotique qui vont perturber son métabolisme et provoquer des anomalies.

Les stress de type abiotiques sont responsables d'une perte de rendement estimé à 50% pour les cultures les plus répondues (Bray *et al*, 2000), ils constituent donc des facteurs limitant non négligeables pour l'agriculture mondiale, ces stress se traduisent par des changements morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui affectent négativement la croissance de la plante et sa productivité. (Wang *et al*, 2001)

### 1.1 Le stress hydrique

Passioura (2004) définit le déficit hydrique comme étant les circonstances dans lesquelles les plantes accusent une réduction de croissance et de production suite à une alimentation hydrique insuffisante. Les risques du manque d'eau sont et deviendront de plus en plus fréquents et persistants, à l'avenir, par suite des changements climatiques causés par l'effet de serre. (Witcombe *et al*, 2009)

Le déficit hydrique induit le dépôt de cire sur le limbe et la gaine de certaines variétés de céréales. Ce dépôt est d'autant plus marqué que l'environnement est plus sec. L'inflorescence des céréales est relativement protégée de l'évaporation par des surfaces protectrices comme une cuticule épaisse qui fait que le statut hydrique des inflorescences est meilleur que celui des feuilles (Shepherd et Griffiths, 2006). Le déficit hydrique provoque la réduction du nombre de grain par épi, du nombre d'épis par plant, du poids moyen du grain, de l'indice de récolte et du rendement grain (Chenafi *et al*, 2006).



## **1.2 Le stress thermique**

Belhassen et *al*, (1995) ont signalé que chaque espèce végétale est caractérisée par une température optimale de croissance. L'effet des hautes ou des basses températures est étroitement lié à la durée d'exposition des plantes à telle ou telle température.

### **1.2.1 Les basses températures**

L'abaissement brutal de la température, en dessous de 0°C, provoque de nombreuses perturbations au sein du végétal. Lorsque la température chute fortement, des cristaux de glace se forment dans les espaces intercellulaires déshydratant les cellules dont l'eau migre vers ces espaces. La membrane plasmique perd sa spécificité et il y a arrêt du fonctionnement cellulaire. La réversibilité du phénomène n'a lieu que si la structure cellulaire n'est pas fortement endommagée. Lors du dégel, les cellules intactes se réhydratent et redeviennent fonctionnelles. (Kadi ,2012)

Beaucoup de plantes provenant des régions tempérées peuvent augmenter leur tolérance au gel après avoir été exposées aux basses températures (de 0°C à 10°C), un processus connu sous le nom d'acclimatation au froid. Un blé d'hiver en condition de croissance normale (20°C) va mourir à -5°C, mais il peut survivre à -27°C après une période d'acclimatation au froid de 5 semaines (Thomashow ,1999). C'est un processus réversible qui disparaît une fois que les températures remontent au-dessus de zéro, et il est nommé désacclimatation au froid. Chez le blé, une exposition de 5 jours à une température de 20°C suffit pour perdre la tolérance.

### **1.2.2 Les hautes températures**

Rawson et *al*, (1993) montre que l'effet pénalisant de l'élévation de la température est surtout due au fait que la plante n'arrive pas à absorber les éléments nutritifs et l'eau, et les utiliser, au rythme imposé par le stress thermique surtout lors de la période du semis.

Hauchinal et *al*, (1993) observent également une réduction du rendement grain des semis tardifs, causée par les effets des hautes températures en fin de cycle.

Selon (Wardlaw et Willimbrik, 1994) une diminution de 3 à 5% du poids du grain pour chaque degré centigrade d'augmentation de la température à partir de la base des 15°C (température optimal varie entre 12 et 15°C).

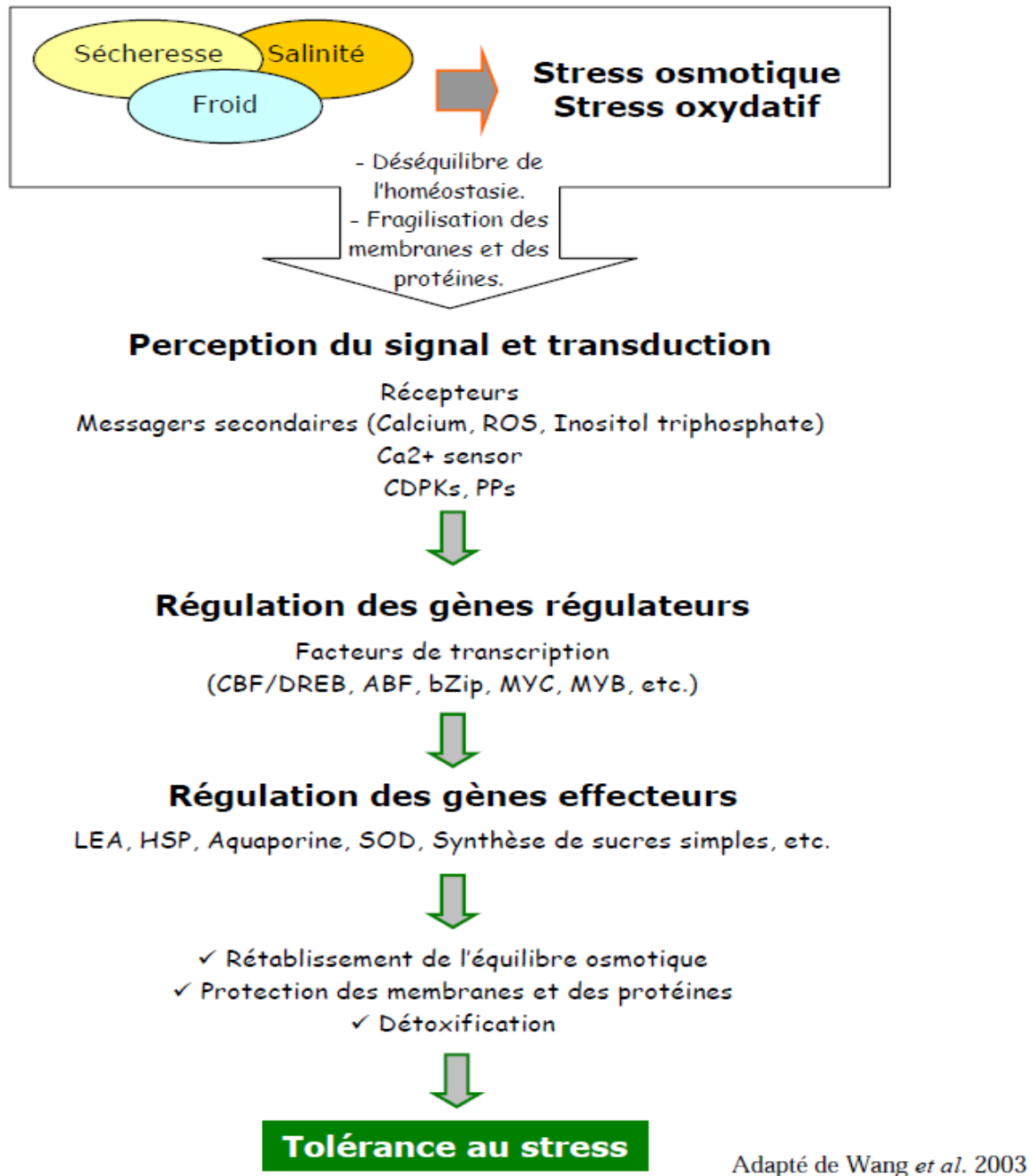
### **1.3 Le stress salin**

Le stress salin est un excès d'ions, en particulier, mais pas exclusivement, aux ions Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> (Hopkins, 2003). Le stress salin est dû à la présence de quantités importantes de sels potentiels hydriques. Il réduit fortement la disponibilité de l'eau pour les plantes, on parle alors de milieu "physiologiquement sec".

La quantité de sels dans le sol que les plantes peuvent supporter sans grand dommage pour leur culture, varie avec les familles, les genres et les espèces, mais aussi les variétés considérées. (Levigneron *et al*, 1995)

La salinité devient de plus en plus un important facteur limitant la production des végétaux dans les zones arides et semi arides. La tolérance à ce type de stress est considérée comme une caractéristique quantitative sous contrôle génétique de gènes mineurs (Cuin *et al*, 2008). L'amélioration de la résistance à ce type de stress selon le processus de sélection classique est peu efficace (Houshmand *et al*, 2005). Des stratégies alternatives sont recherchées dont entre autre la production des plantes transgéniques. (Moose et Munns, 2008)

En conditions de stress abiotique les plantes mettent en place un système de réponse complexe impliquent plusieurs étapes comme le montre la figure suivante :



**Figure 3** : représentation générale de la réponse au stress abiotique chez les plantes (Wang *et al.*, 2003)

La sécheresse, la salinité et le froid induisent un stress osmotique et un stress oxydatif qui entraînent un déséquilibre de l'homéostasie et une fragilisation des membranes et des protéines. La perception puis la transduction du signal aboutissent à l'expression de gènes régulateurs qui eux-mêmes contrôlent des gènes effecteurs permettant la mise en place des mécanismes de tolérance au stress. (Wang *et al*, 2003)

## **2. Perception du stress**

Les conditions de stress abiotique constituent une source de signaux complexes pour les cellules. Un seul type de stress correspond à des variations physique et / ou chimiques, ces composantes représentent pour la plante des informations différentes. Par exemple, une diminution de température entraîne des contraintes mécaniques, un changement dans l'activité des macromolécules. Les cellules végétales ne possèdent pas un récepteur spécifique d'un stress donné, mais plutôt un ensemble de récepteurs qui vont être sollicités par les différentes composantes du stress. (Roeder, 2006)

### **2.1 Le calcium**

Parmi les récepteurs identifiés, on trouve les canaux  $Ca^{2+}$ . En condition de stress thermique ou salin, il a été observé chez les plantes un influx de calcium dans le cytoplasme. Ce calcium provient soit de l'intérieur de la cellule, soit de stock internes. Cet influx résulterait d'une activation des canaux calciques induite par les changements structuraux de la cellule. Cette supposition résulte des études de Plieth (1999) montrant les liens entre les flux de  $Ca^{2+}$  et la température, considérant que la réorganisation du cytosquelette et la fluidité de la membrane plasmique sont les premiers changements structuraux liés au froid.

### 3. Transduction du signal

Suit à la perception du stress, le signal créé par les récepteurs doit être transmis à l'intérieur de la cellule. Cette transduction du signal est assurée par des seconds messagers qui vont activer des voies enzymatiques assurant le fonctionnement de la cascade de réaction et permettant à la cellule de répondre au stress perçu.

#### 3.1 Les protéines Kinases dépendantes du calcium (CDPK)

Les protéines kinases dépendantes du calcium (CDPKs) possèdent une structure caractéristique composée d'un domaine serine/threonine protéine kinase qui est fusionnée en C-terminal à un domaine calmoduline-like, contenant des sites de fixation au calcium (Cheng *et al*, 2002 ; Mori *et al*, 2006). Ces protéines interviennent dans l'activation des gènes LEA («late embryogenesis abundant») ainsi que dans la régulation de l'activité des protéines de transport, telles que les canaux ioniques, aquaporines, H<sup>+</sup>-ATPase. Le mécanisme de phosphorylation effectuée par ces kinases nécessite obligatoirement du calcium. (Chinnusamy *et al*, 2003)

#### 3.2 La voie des « mitogen-activated protein kinases »

Les MAPKs (Mitogen Activated Protein Kinase), présentes chez tous les eucaryotes, revêt d'une grande importance dans les mécanismes de transduction du signal. Ils appartiennent à la famille des sérine/thréonine protéines kinases. La voie des MAPKs fait intervenir de nombreuses molécules dont les principales sont les MAPKs, les MAPKKs (MAPK kinases) et les MAPKKKs (MAPKK kinases) (Widmann *et al*, 1999 ; Ligterink, 2000 ; Tafforeau, 2002 ; Bartels et Sunkar, 2005).

L'activation complète de ces MAPKs nécessite la double phosphorylation des résidus thréonine et tyrosine du motif conservé T-X-Y (thréonine-X-tyrosine) (Payne *et al*, 1991 ; Gartner *et al*, 1992). Les MAPKKs sont également des protéines kinases, celles-ci vont activer les MAPKs en phosphorylant les résidus thréonine et tyrosine du motif T-X-Y de ces dernières.

Les MAPKKs sont elles-mêmes activées par les MAPKKKs suite à leur phosphorylation au niveau de deux résidus conservés sérine et thréonine (Alessi et *al*, 1994 ; Zheng et Guan, 1994 ; Bartels et Sunkar, 2005). Quant aux MAPKKKs, du fait de leurs structures variées, elles peuvent être activées par différents mécanismes et peuvent de ce fait se trouver impliquées dans plusieurs voies différentes de MAP kinases (Fanger et *al*, 1997 ; Gustin et *al*, 1998). Cette flexibilité, en amont de la cascade de phosphorylations, permet à la fois la transduction du signal ainsi que son amplification. (Hirt, 2000)

En aval de la cascade des MAP kinases, la transduction du signal donne lieu à différentes réponses cellulaires. Les MAP kinases peuvent être transportées vers le noyau cellulaire pour phosphoryler et par la même activer des facteurs de transcription spécifiques (Triesmann, 1996). Elles peuvent également rester dans le cytoplasme pour phosphoryler des protéines associées au cytosquelette ou encore des enzymes (Robinson et Cobb, 1997). La phosphorylation de ces différents substrats ne peut se faire que sur des résidus sérine ou thréonine immédiatement suivis d'une proline. (Gonzalez et *al*, 1991)

#### **4. Les facteurs de transcription**

Les facteurs de transcription sont des protéines qui jouent un rôle central dans la biologie d'une cellule. Ils sont responsables de la régulation de l'expression génique au niveau de la transcription (Pabo et Sauer, 1992). Ils sont composés d'au moins deux domaines soit un domaine de liaison à l'ADN (DBD) et un domaine d'activation de la transcription. Ils possèdent aussi une séquence spécifique appelée signal de localisation nucléaire (NLS) qui leur permet d'être transportés au noyau pour exercer leur fonction. Ces domaines agissent ensemble pour réguler plusieurs processus physiologiques et biologiques en modulant l'initiation de la transcription de gènes cibles (Du et *al*, 2009). Leur domaine de liaison à l'ADN leur permet de se lier spécifiquement à une séquence unique appelée élément cis, située dans le promoteur de leurs gènes cibles. Les FT peuvent aussi interagir avec d'autres types de FT et la machinerie transcriptionnelle basale pour l'activation de leurs cibles. (Priest et *al*, 2009)

Chez les plantes, la régulation transcriptionnelle est réalisée par l'intermédiaire de plus de 1500 FT, chaque FT contrôlant l'expression d'environ 10-1000 gènes cibles (Riechmann et al. 2000; Guo et al, 2008). Parmi cette multitude de FT cinq grandes familles sont reconnues pour être impliquées dans la réponse aux stress. Notamment on retrouve les AP2/ERF (APETALA2 et ethylene-responsive-element-binding factors), des bZIP (basic-domain leucine-zipper), des WRKY, des MYB et des bHLH (dont les MYC) (Singh et al, 2002 ; van Verk et al, 2009).

#### **4.1 Les facteurs de transcription AP2**

Les membres de la famille de facteurs de transcription AP2/ EREBP ont différents rôles dans le cycle de vie de la plante, comme le développement des organes ou l'identité cellulaire. L'expression de ces gènes est influencée par de nombreux stress et leurs rôles sont cruciaux pour la survie de la plante. L'importance de leur rôle fait de ces gènes des sujets de recherche importants pour la compréhension de la tolérance aux stress abiotiques comme la tolérance au gel. C'est pour cela que Sakuma *et al* (2002) ont identifié 145 protéines DREB/ERF chez *Arabidopsis*, qui ont été classifiées en 5 sous-familles : AP2 (APETALA2), RAV, DREB, DREB/CBF (réponse au stress abiotique), ERF (réponse au stress biotique) et « autres ». Cette classification a été basée sur des similitudes aux acides aminés des domaines de liaison AP2.

##### **4.1.1 La sous-famille CBF/DREB**

Les gènes de cette sous-famille sont induits par un ou plusieurs stress environnementaux et leurs produits jouent un rôle dans la régulation de la tolérance aux stress abiotiques chez les plantes. Ils sont composés d'un domaine de liaison AP2.

CBF (C- Repeat- Binding-Factor) ou DREB (Déshydratation responsive element binding factor) se lie à l'ADN au niveau de l'élément régulateur du froid et de déshydratation dénommé DRE (aussi appelé CRT pour C-repeat). Cet élément régulateur contient la séquence conservée CCGAC. La présence de cette seule séquence est suffisante pour induire la transcription de gènes en cas de stress liés au froid. (Roeder, 2006)

## **5. Expression de protéines responsables de la résistance au stress**

A la fin de la cascade de signalisation et suite à l'activation de facteurs de transcription, certains gènes vont être régulés afin de réguler l'homéostasie cellulaire et contribuer ainsi à la résistance ou à l'adaptation de la cellule à un stress donnée. ces gènes codent généralement des enzymes impliquées dans la production de molécules osmorégulatrices, des transporteurs, des enzymes de détoxification, des chaperonnes. (Roeder, 2006)

### **5.1 Les protéines chaperonnes :**

Les chaperonnes constituent des composants majeurs impliqués dans le maintien de l'homéostasie cellulaire en condition normales et de stress. Ces protéines sont responsables de l'assemblage, du repliement, de la translocation et de la dégradation des protéines au cours de nombreux procédés cellulaires normaux. Elles permettent le repliement des protéines dans des conditions de stress, ainsi que de désagréger les protéines dénaturées. (Roeder, 2006)

#### **5.1.1 Les HSPS (Heat shock proteins)**

Pendant les stress, de nombreuses protéines subissent des modifications structurales et des changements fonctionnels. Il est par conséquent très important, pour la survie de la cellule soumise à un stress, de maintenir ces protéines dans une conformation fonctionnelle, d'éviter l'agrégation de protéines dénaturées et d'éliminer les polypeptides non fonctionnels et potentiellement dangereux. Les protéines HSP sont une classe de protéines chaperonnes initialement découvertes en raison de leur induction par la chaleur. Leur rôle crucial est la protection, le maintien et la régulation de la conformation des protéines, de leur assemblage, de leur localisation et de leur dégradation dans de nombreux processus cellulaires. Elles sont également impliquées dans la stabilisation des protéines et des membranes. Elles permettent ainsi une protection des plantes lors de stress par un rétablissement de la conformation initiale des protéines et de l'homéostasie cellulaire (Wang et al, 2004).



### **5.1.2 Les LEA (late Embryogenesis Abundant proteins)**

Les protéines LEA (Late Embryogenesis Abundant Proteins) ont été identifiées chez le coton et le blé ainsi que chez les algues. Elles sont produites en abondance durant le développement des graines et peuvent représenter jusqu'à 4% des protéines cellulaires totales (Roberts et *al* ; 1993) Elles sont principalement composées d'acides aminés, tels que la Gly, l'Ala, la Glu, la Lys/Arg et la Thr, dans des régions répétées ordonnées, ce qui leur confèrent un caractère fortement hydrophile, et sont généralement dépourvues ou ont une faible proportion en résidus Cys et Trp. La prédiction des structures secondaires suggèrent qu'une majorité de protéines LEA existent en condition hydratée sous des formes non-structurées et en condition de déficit hydrique sous une forme structurée tel que des dimères. (Hong-Bo et *al*, 2005)

# **Chapitre 3**

## **LA BIOINFORMATIQUE**

La bio-informatique est une application des techniques informatiques au traitement massif de données biologiques. Elle est spécialement utilisée pour l'analyse des séquences génomiques et des protéines (Bernard, 2001) Le terme bioinformatique fut initialement énoncé par Paulien Hogeweget Ben Hesper en 1978 afin de décrire le champ d'étude de systèmes biologiques avec l'utilisation d'ordinateurs.

## 1. Définition de la discipline

La bio-informatique est une discipline émergente de la recherche qui se place à l'interface de la biologie et de l'informatique. Il y a différentes façons de la définir. Il est possible de classer les bio-informaticiens qui la pratiquent en trois groupes (Jongeneel, 2000). Les premiers se définissent comme pratiquant une branche fondamentale de la biologie capable de prédire, par des moyens informatiques, les lois ou les comportements biologiques. Par opposition aux classiques manipulations *in vivo* ou *in vitro* pratiquées en laboratoire, on parlera alors d'expériences « *in silico* » (néologisme d'allure semi-latine, formé à partir de l'anglais *silicon*). Les partisans de cette définition entendent exercer une bio-informatique théorique semblable à ce que les Anglo-Saxons nomment Computational Biology, c'est-à-dire la fabrication de modèles par le calcul à partir de données biologiques disponibles (Claverie, 2000). À l'opposé, un grand nombre de biologistes complètent leurs travaux en laboratoire par des analyses sur ordinateur. Ces bio-informaticiens-là ne créent pas de programmes, mais utilisent ceux qui sont écrits par d'autres, soit sur leurs ordinateurs personnels, soit sur des serveurs publics maintenus par des équipes pluridisciplinaires. Ce domaine de l'analyse de données biologiques par ordinateur a de plus en plus tendance à se dénommer « bioanalyse ». Entre ces deux extrêmes, il existe des coopérations entre les biologistes et les informaticiens pour créer de nouveaux programmes informatiques destinés à la biologie. Ces projets interdisciplinaires constituent le creuset où se forment les outils de la bio-informatique de demain.

## 2. Principaux acteurs

Les trois principaux acteurs dans le domaine de la bio-informatique sont les Etats-Unis, le Japon et le Royaume-uni. Pour prendre un exemple, en 2001, on pouvait compter dans le monde près de 400 entreprises spécialisées en bio-informatique, et elles se situaient presque toutes dans ces trois pays. Les autres pays : Canada, la France. (Boukadida et Denis, 2004)

## 3. Généralité sur les bases de données

La bioinformatique permet grâce aux bases de données (BD) biologiques d'accéder très rapidement à toute l'information disponible sur un champ d'étude précis. Souvent les termes de bases ou banques sont utilisés sans distinction particulière. Toutefois il existe une différence non seulement pour l'utilisateur mais aussi pour l'implantation informatique de ces dernières.

### 3.1. Qu'est-ce qu'une banque de données ?

Une banque de données biologique, est une BD généralisée ; mais qui contient des informations sur nombreuses espèces, nombreuses molécules, en même temps. Son utilisation concerne plusieurs domaines à la fois. Elle est donc généraliste (Figure 4) et correspond à un ensemble de données exhaustif avec des informations hétérogènes. (virus, bactéries, champignons, végétaux, animaux).

### 3.2. Qu'est-ce qu'une base de donnée (BD) ?

Une base de donnée (BD) est un ensemble structuré de données (1) enregistrées sur des supports accessibles par l'ordinateur (2) pour satisfaire simultanément plusieurs utilisateurs (3) de manière sélective (4) en un temps opportun (5).

(1) : Organisation et description de données

(2) : Stockage sur disque

(3) : Partage des données

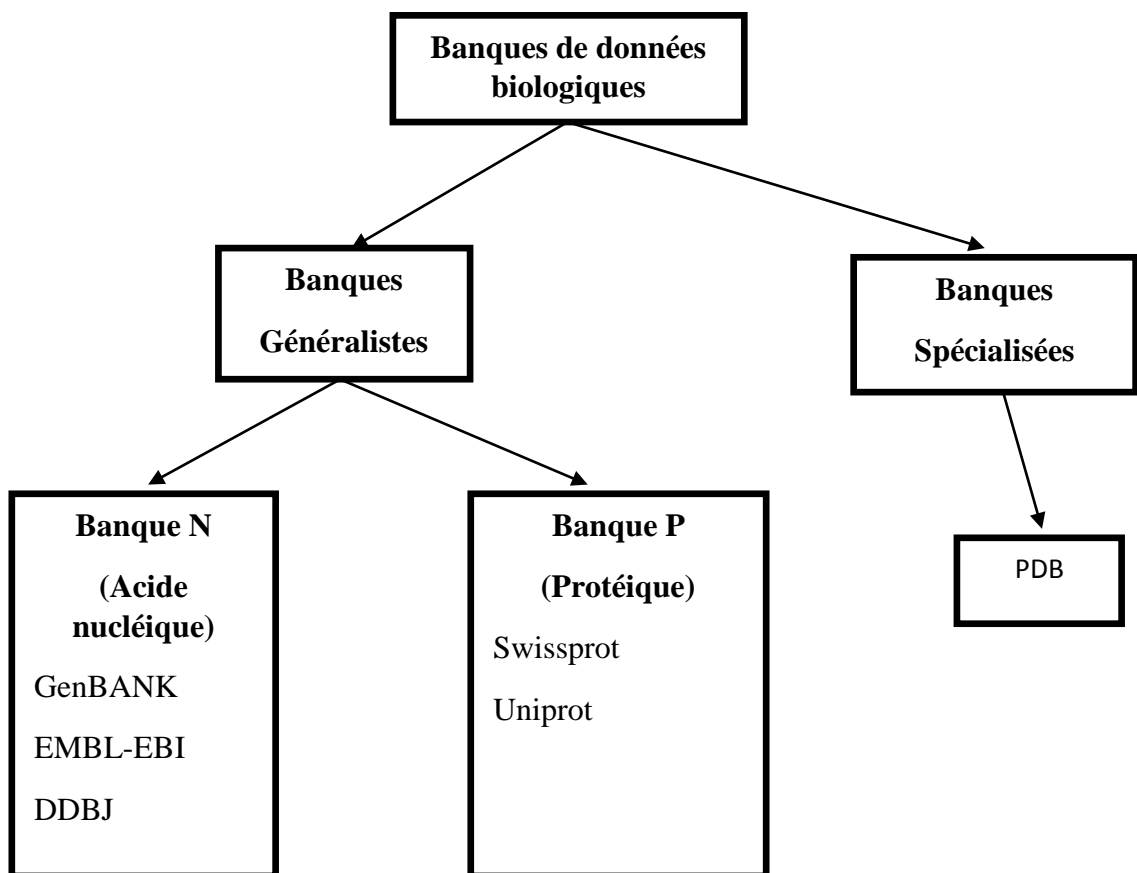
(4) : Confidentialité

(5) : Performance

Les BD peuvent être plus ou moins longues ou complexes suivant la capacité de l'ordinateur et du programme utilisé (Khichane, 2004). Elles peuvent être utilisables sur une machine par un utilisateur (BD locales) ou bien les informations sont stockées sur des machines distantes et accessibles par un réseau (BD réparties).

La gestion de BD se fait au moyen d'un SGBD qui permet d'interagir avec celle-ci. Le SGBD permet de stocker les données dans des tables, puis de définir les relations entre celles-ci. Il permet également de manipuler les données présentes dans la BD (insertion, suppression, modification) : ces opérations sont dites les mises à jour.

Une base de donnée (BD) biologique peut contenir des informations sur des protéines, alors qu'une autre peut contenir des informations sur des gènes, elle concerne des données spécifiques à une discipline, une maladie, une espèce vivante, une molécule, ... elle est donc spécifique. On peut aussi dire qu'elle est plus spécialisée (Figure4). La base de structure PDB en est un parfait exemple.



**Figure 4** : Classification des BD biologiques (Cassan, 2013)

### 3.3. Les bases de données génomiques

Les bases de données (BD) génomique sont un élément essentiel et indispensable dans le domaine de l'analyse des séquences nucléotidiques, elles représentent la source d'information la plus complète et pertinente pour les biologistes.

Il existe trois banques travaillant en étroite collaboration, dont les missions sont de collecter, maintenir et distribuer publiquement l'information primaire représentée par toutes les séquences nucléotidiques connues. (annexes 1)

1. **EMBL** : créée en 1980 par EMBL (European Molecular Biology Laboratory), elle est située et maintenue à l'EBI (European Bioinformatics Institute). Les principaux contributeurs à la base de données EMBL sont des scientifiques et des groupes de projet du génome. (Barker et *al*, 2000 in Guenter, 2003)
2. **GenBank** : créée en 1982 au Los Alamos National Laboratory, est maintenue au NCBI (National Center for Biotechnology Information) qui dépend du NIH (National Institute of Health) américain. NCBI rend les données GenBank disponibles sans frais sur internet, via FTP et via une large gamme de services de recherche et d'analyse sur le Web qui fonctionnent sur les données GenBank (Wheeler et *al*, 2006). Pour accéder à GenBank et ses services de recherche et d'analyse connexes, commencer à la page d'accueil du NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).
3. **DDBJ** (DNA Data Bank of Japan) maintenue par le Centre d'Information Biologique de l'Institut National de Génétique, à Mishima s'est jointe à l'effort des deux précédentes en 1986. (Tateno et *al*, 2000)

## 4. Les outils de la bioinformatique

Le traitement bioinformatique des séquences biologiques peut être :

-Simple : composition, calcul de  $T_m$ , traduction, carte de restriction, recherche de cadres ouverts de lecture (tableau 4)

-Complexe : alignement, recherche d'amorce et optimisation des amorces, prédiction de structures secondaires et tertiaires, recherche de motifs, construction d'arbres phylogénétiques (Coutouly et *al*, 2006)

**Tableau 4** : Outils de la bio-informatique (Coutouly et *al*, 2006)

Outil	Commentaire	Adresse Internet (cf.cederom)
<b>Séquences nucléotidiques</b>		
Readseq	Conversion des formats de séquences (Fasta, Embl,...)	<a href="http://www.ebi.ac.uk/cgi-bin/readseq.cgi">http://www.ebi.ac.uk/cgi-bin/readseq.cgi</a>
Readseq	Détermination de la composition en bases	<a href="http://www.infobiogen.fr/services/analyse/cgi-bin/fredseq.in.pl">http://www.infobiogen.fr/services/analyse/cgi-bin/fredseq.in.pl</a>
Carteres	Etablissement de la carte de restriction d'une séquence avec des choix des enzymes	<a href="http://www.infobiogen.fr/services/analyse/cgi-bin/carteres.in.pl">http://www.infobiogen.fr/services/analyse/cgi-bin/carteres.in.pl</a>
TACG		<a href="http://biotools.umassmed.edu/tacg">http://biotools.umassmed.edu/tacg</a>
ORF-finder	Recherche des ORF (*Open Reading Frame)	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf</a>
Transeq	Traduction dans les 6 phases de lecture	<a href="http://www.cbi.ac.uk/cgi-bin/readseq.cgi">http://www.cbi.ac.uk/cgi-bin/readseq.cgi</a>
Traduc		<a href="http://www.infobiogen.fr/services/analyse/cgi-bin/traduc_in.pl">http://www.infobiogen.fr/services/analyse/cgi-bin/traduc_in.pl</a>
VecScreen	Direction de fragments de vecteurs de clonage	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/VecScreen">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/VecScreen</a>
GenMark	Prédiction de Gènes eucaryotes et procaryotes	<a href="http://opal.biology.gatech.edu/GeneMark">http://opal.biology.gatech.edu/GeneMark</a>
Outils pour ARN	Outils de prédiction de structure des ARN	<a href="http://bioweb.pasteur.fr/sequanal/ma">http://bioweb.pasteur.fr/sequanal/ma</a>
<b>Outils par la PCR</b>		
ObligoCalc	Détermination de Tm par différentes méthodes	<a href="http://www.basic.northwestern.edu/biotools/olgocalc.html">http://www.basic.northwestern.edu/biotools/olgocalc.html</a>
Tm-pred		<a href="http://dna.bio.puc.cl/cardex/servers/dnaMATE">http://dna.bio.puc.cl/cardex/servers/dnaMATE</a>
Primer3	Recherche d'amorces pour PCR	<a href="http://biotools.umassmed.edu">http://biotools.umassmed.edu</a>
Primerquest		<a href="http://biotools.idtdna.com/primerquest">http://biotools.idtdna.com/primerquest</a>
FastPCR (téléchargeable)		<a href="http://biocenter.helsinki.fi/bi/Programs/fastpcr.htm">http://biocenter.helsinki.fi/bi/Programs/fastpcr.htm</a>
<b>Séquence d'acides animés</b>		
ProtParam	Détermination paramètres physiochimiques (masse moléculaire, pHi,...)	<a href="http://www.expasy.org/tools/protparam.html">http://www.expasy.org/tools/protparam.html</a>
Psipred	Prédiction des hélices alpha, feuillets béta	<a href="http://www.expasy.org/tools/#secondary">http://www.expasy.org/tools/#secondary</a>
SignalP	Recherche de peptide signal	<a href="http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP">http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP</a>
TMpred	Prédiction de fragments transmembranaires	<a href="http://ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html">http://ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html</a>
Prosite	Banques des motifs	<a href="http://www.expasy.ch/prosite">http://www.expasy.ch/prosite</a>
SWISS-MODEL	Modélisation 3D	<a href="http://swissmodel.expasy.org">http://swissmodel.expasy.org</a>
<b>Alignement de séquences</b>		
Needle	Alignement globale (algorithme de Needleman)	<a href="http://www.ebi.ac.uk/emboss/align">http://www.ebi.ac.uk/emboss/align</a>
FASTA (FAST-ALL)	Alignement local	<a href="http://www2.ebi.ac.uk/fasta3">http://www2.ebi.ac.uk/fasta3</a>
BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)	Alignement local	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST</a>
Weblogo	Création de séquences logo d'un alignement multiplke	<a href="http://www.weblogo.cbr.mrc.ca">http://www.weblogo.cbr.mrc.ca</a>
T-Coffee	Alignement multiple	<a href="http://igs-server-cnrs-mrs.fr/Tcoffee/tcoffee.cgi/index.cgi">http://igs-server-cnrs-mrs.fr/Tcoffee/tcoffee.cgi/index.cgi</a>
Multalin		<a href="http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/align_multalin.pl">http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/align_multalin.pl</a>
Clustal W	Alignement multiple et analyse phylogénétique	<a href="http://ebi.ac.uk/clustalw">http://ebi.ac.uk/clustalw</a>
Phylip	Alignement multiple et analyse phylogénétique	<a href="http://www.infobiogen.fr/services/analyse/cgi-bin/traduc_in.pl">http://www.infobiogen.fr/services/analyse/cgi-bin/traduc_in.pl</a>

# **Chapitre 4**

## **METHODOLOGIE DE TRAVAIL**



## 1. Recherche *in silico* des gènes

La réalisation de notre travail consiste à chercher des gènes de tolérance à différents stress abiotiques chez le blé dans des banques de données. Plusieurs portails sont utilisés pour la réalisation de cette recherche parmi ces derniers ont à :

### 1.1 Le portail des données référencées sur NCBI

Les bases de données du NCBI abritent de très nombreuses informations : génomes, protéines, références bibliographiques, etc. Si on souhaite récupérer l'une d'entre-elles, une recherche sur le site est la solution la plus simple, mais si on a besoin de récupérer de nombreuses données dans un des formats proposés, alors le NCBI a mis l'outil BatchEntrez à notre disposition. À l'aide d'une liste d'identifiants [genbank](#), [refseq](#) ou même [pubmed](#), il permet de tout télécharger en une fois (d'où la notion de 'batch').

The screenshot displays the NCBI Entrez search engine interface. At the top, the search bar contains the query "triticum aestivum". Below the search bar, the results are organized into two main sections: "ensemble des publications" (publications) and "ensemble des bases et annotations référencées" (referenced databases and annotations). The "ensemble des publications" section includes results from PubMed (2369), PubMed Central (320), and Site Search (none). The "ensemble des bases et annotations référencées" section includes results from various databases such as Nucleotide (789), EST (80976), GSS (10), Protein (622), Genome (none), Structure (10), Taxonomy (1), SNP (none), dbVar (none), Gene (2), SRA (none), BioSystems (none), HomoloGene (none), GENSAT (none), Probe (7), BioProject (none), dbGaP (9), UniGene (none), CDD (none), UniSTS (29), PopSet (43), GEO Profiles (none), GEO DataSets (609), Epigenomics (none), Cancer Chromosomes (none), PubChem BioAssay (none), PubChem Compound (none), PubChem Substance (none), Protein Clusters (none), OMIA (none), and BioSample (15). The results are displayed in a grid format with icons for each database and a "nombre de résultats" (number of results) column. The "absence de résultats" (no results) label is visible for several databases.

**Figure 5** : Portail des données référencées sur NCBI

## 1.2 Le portail d'entrée de EMBL-EBI

Ici on obtient directement un aperçu des premiers résultats de chacune des catégories.

Comme sur Entrez-vous pouvez directement réduire votre recherche en cliquant sur un des items du menu de gauche.

**Cookies on EMBL-EBI website**

This website uses cookies to store a small amount of information on your computer, as part of the functioning of the site. Cookies used for the operation of the site have already been set.

To find out more about the cookies we use and how to delete them, see our [Cookie](#) and [Privacy](#) statements.

**EBI Search**

---

**Filter your results**

**Source**

**All results** (31 812 485)

[Genomes](#) (99 392)

[Nucleotide sequences](#) (31 353 044)

[Protein sequences](#) (350 848)

[Macromolecular structures](#) (89)

[Small molecules](#) (63)

[Gene expression](#) (119)

[Reactions, pathways & diseases](#) (1)

[Protein families](#) (58)

[Enzymes](#) (2)

[Literature](#) (4 822)

[Samples & ontologies](#) (4 037)


[EBI web](#) (10)

**Search results for *triticum aestivum***

Showing **17** results out of **31 812 485** in All results

**Macromolecular structures** (89 results found)

[Crystal Structure of the Triticum aestivum xylanase inhibitor I](#)




*Accession:* 1t6e  
HYDROLASE INHIBITOR x-ray diffraction entry at resolution 1.7

Related data ▾

Views ▾

*Source:* PDBe  
*ID:* 1T6E

**STRUCTURES OF ADENYLOSUCCINATE SYNTHETASE FROM TRITICUM AESTIVUM AND ARABIDOPSIS THALIANA**



*Accession:* 1dj3  
LIGASE x-ray diffraction entry at resolution 3

Related data ▾

Views ▾

*Source:* PDBe  
*ID:* 1DJ3

[View all 89 results for Macromolecular structures](#)

**Genomes** (99 392 results found)

[CADANGAG00004291](#)

Similarity to transcription activator VP1 - **Triticum aestivum**  
[Source:UniProtKB/TrEMBL;Acc:A2QJ45]  
*Species:* Aspergillus niger

Related data ▾

Views ▾

*Source:* Ensembl Genomes Gene  
*ID:* CADANGAG00004291

[CADANGAG00008797](#)

Similarity to cytochrome P450 CYP73A from patent FR2768748-A1 - **Triticum aestivum**  
[Source:UniProtKB/TrEMBL;Acc:A2QWB9]  
*Species:* Aspergillus niger

Related data ▾

Views ▾

*Source:* Ensembl Genomes Gene  
*ID:* CADANGAG00008797

**Figure 6** : Portail d'entrée d'EMBL-EBI

## 2. Conception d'amorces

La conception d'amorce nécessite le suivi d'un certain nombre de règles à savoir :

### 2.1 Longueur de l'amorce

Comme la spécificité, la température et le temps d'hybridation dépendent en partie de la longueur de l'amorce, ce paramètre est essentiel pour le succès de la PCR. En général, les oligonucléotides entre 18 et 24 bases sont extrêmement spécifiques de la séquence, à condition que la température d'hybridation soit optimale. La longueur de l'amorce est également proportionnelle à l'efficacité de l'hybridation. En général, plus l'amorce est longue, moins l'hybridation est efficace. Le nombre de matrices amorcées diminuant à chaque étape, cela peut aboutir à une diminution sensible de produit amplifié. Les amorces ne devraient toutefois pas être trop courtes, à moins que l'application l'exige spécifiquement. L'objectif est de concevoir une amorce dont la température d'hybridation est d'au moins 50 °C. La relation entre la température d'hybridation et la température de fusion est l'une des «boîtes noires» de la PCR. Une règle générale est d'utiliser une température d'hybridation qui est 5 °C plus basse que la température de fusion. Souvent, la température d'hybridation déterminée de cette façon ne sera pas optimale et il faudra procéder empiriquement pour déterminer la température optimale. À cet effet, le plus facile est d'utiliser un thermocycleur à gradient. (Martel, 2011)

### 2.2 Tm (température de fusion)

Il est nécessaire de tenir compte de la température de fusion des amorces (appelée Tm), laquelle correspond à la température à laquelle 50% des amorces sont appariées (l'ADN double-brin se dénature à haute température ( $T > 80$  °C)). L'important est que l'ensemble des amorces constituant la PCR aient autant que possible la même Tm (typiquement entre 50 et 60 °C, avec une préférence généralement autour de 54 ou 55 °C) afin que l'élongation des amorces se fasse optimalement à la même température (typiquement 72°C ; plus la Tm sera élevée et plus la température d'élongation optimale sera également élevée). (Martel, 2011)

### **2.3 Séquence à l'extrémité 3'**

Il est établi que la position terminale 3' dans les amorces PCR est essentielle pour empêcher le mésamorçage. Le problème des homologies d'amorce se produisant dans ces régions a déjà été examiné. Une autre variable à considérer est l'inclusion d'un résidu G ou C à l'extrémité 3' des amorces. Ce « crampon GC » contribue à la fixation correcte à l'extrémité 3' en raison de la liaison hydrogène plus forte des résidus G/C. Cela contribue également à une plus grande efficacité de la réaction en réduisant au minimum la « respiration » qui pourrait se produire. (Martel, 2011)

### **2.4 Spécificité**

La spécificité de l'amorce dépend au moins partiellement de la longueur de l'amorce. Il est évident qu'il y a beaucoup plus d'oligonucléotides uniques à 24 paires de bases qu'à 15 paires de bases. Ceci dit, les amorces doivent être choisies de telle sorte qu'elles aient une séquence unique dans l'ADN matrice qui doit être amplifié. Une amorce conçue avec une séquence hautement répétitive conduira à une traînée lors de l'amplification d'ADN génomique.

Toutefois, la même amorce peut donner une bande unique si un clone unique d'une bibliothèque génomique est amplifié. Comme l'ADN polymérase Taq est actif dans une large gamme de températures, l'extension de l'amorce se produira aux basses températures d'hybridation. Si la température est trop basse, un amorçage non spécifique peut se produire, qui peut être étendu par la polymérase s'il y a une homologie courte à l'extrémité 3'. En général, une température de fusion de 55–72 °C donne les meilleurs résultats. (Martel, 2011).

### **2.5 Séquences d'amorce complémentaires**

Les amorces doivent être conçues absolument sans aucune homologie intra-amorce au-delà de 3 paires de bases. Si une amorce possède une telle région d'autohomologie, des structures partiellement doubles brin en « épingles à cheveux » peuvent se former, qui perturberont l'hybridation avec la matrice. Un autre risque connexe est l'homologie inter-amorce. L'homologie partielle dans les régions centrales de deux amorces peut interférer avec l'hybridation. (Martel, 2011).

Si l'homologie se situe à l'extrémité 3' de l'une ou de l'autre amorce, la formation de dimères d'amorce se produira, ce qui, par compétition, empêchera le plus souvent la formation du produit désiré.

### **2.6 Teneur en G/C**

Les amorces devraient être composées à 45-55 % de GC. Idéalement, l'amorce présentera un mélange presque aléatoire de nucléotides, une teneur de 50 % en GC et une longueur d'environ 20 bases. La  $T_f$  se situera alors entre 56 et 62 °C (Dieffenbach *et al*, 1995).

Il existe plusieurs logiciels permettant la conception d'amorces telles que PerlPrimer, PrimerQuest, NetPrimer, Primer 3.

Parmi ces logiciels nous avons eu accès à primer 3 qui est un outil en ligne gratuit pour concevoir et analyser des amorces pour la PCR et des expériences de PCR en temps réel. Primer3 peuvent également sélectionner des amorces simples pour les réactions de séquençage et peuvent concevoir des sondes d'hybridation d'oligonucléotide. L'outil en ligne constitue quelques caractéristiques importantes telles que la détection d'amorce, le clonage, le séquençage et l'inscription Primer.

# **Chapitre 5**

## **RESULTATS**

**1. Les résultats de la recherche *in silico* des gènes du blé induits par le stress abiotique :** Ces résultats sont représentés dans le tableau ci- dessous :

**Tableau 5 :** Gènes induit par le stress abiotique chez le blé

<b>Stress</b>	<b>Organismes</b>	<b>Gènes</b>	<b>Séquences</b>	<b>Références</b>
<b>Froid</b>	<i>Triticum aestivum</i>	WCS19	Annexe 2	Chavin et al, 1993
		Wcor15	Annexe 3	Takumi et al, 2003
		WcI16	Annexe 4	Sasaki et al, 2013
		WcS120	Annexe 5	Sarhan et al, 1998
<b>Sécheresse</b>	<i>Triticum aestivum</i>	IVR1_4AL_CDS	Annexe 6	Webster et al, 2012
	<i>Triticum durum</i>	TdDRF1	Annexe 7	Latini et al, 2006
		DHN5-LEA protein	Annexe 8	Brini et al, 2006
<b>salin</b>	<i>Triticum aestivum</i>	WRSI5	Annexe 9	LEI. SHAN et al, 2008
		g6pdh	Annexe 10	Nemoto, et Sasakuma, 2000
	<i>Triticum monococcum</i>	HKT7-A1	Annexe 11	Shaobai et al, 2006
	<i>Triticum durum</i>	DHN5-LEA protein	Annexe12	Brini et al, 2006

**Discussion :**

La recherche en génomique commence à fournir des renseignements sur les mécanismes possibles impliqués dans la tolérance au stress abiotique, comme un nombre croissant de gènes, transcrits et protéines sont impliqués dans les voies de réponse au stress (Ingram et Bartels, 1996 ; Bray, 2004). Dans notre étude nous avons collecté plusieurs gènes de résistance aux différents stress abiotiques chez le blé regroupés dans le tableau 5.

Parmi ces gènes, les gènes d'acclimatation au froid, nommés Wcor et Wcs qui démontrent un niveau d'expression supérieur chez les cultivars de blé d'hiver tel que le gène Wcs19 régulé par le froid qui exige la lumière pour atteindre son expression maximale. Cette observation suggérait que Wcs19 est impliqué dans la protection des chloroplastes contre les dommages causés par le gel (NDong et al, 2002). Deux autres protéines de ce groupe Wcor14 et Wcor15 (Takumi et al, 2003) sont aussi ciblées au chloroplaste chez le blé et protégeraient le système photosynthétique 2 lors d'une croissance à basse température ou pendant un stress de lumière (Kobayashi et al, 2004).

Plusieurs de ces gènes d'acclimatation codent pour des protéines de type déhydrine (DHN) telles que la WCS 120 (Houde et al, 1992), chez le blé, l'immunolocalisation de la déhydrine WCS120 montre que cette protéine s'exprime uniquement dans le cytoplasme et le nucléoplasme de cellules de la région vasculaire (Houde et al, 1995).cette région serait plus sensible au froid et doit être protégée pour la croissance de la plante en conditions de basses températures.

Le gène WCI16 et aussi impliquée dans la tolérance au gel dans le blé (*Triticum aestivum*) et représente une nouvelle classe de protéines LEA.

D'autres gènes sont impliqués dans le stress hydrique tels que le gène IVR1\_4AL\_CDS dans *Triticum aestivum*, TdDRF1 et DHN5-LEA protein dans *Triticum durum*.

Quant à la salinité élevée à une grande influence sur la croissance des cultures et le développement et peut être responsable de perte importantes de rendement économique Brini et al, (2006) ont démontré une caractérisation fonctionnelle de DHN-5, un déhydrine montrant un motif de phosphorylation différentielle dans deux blés durs tunisiens (*Triticum durum*) variétés avec des différences marquées dans la tolérance au sel et à la sécheresse.



Les autres gènes impliqués dans ce type de stress tel que WRSI5 dans *Triticum aestivum*, HKT7-A1 dans *Triticum monococcum* ainsi que le gène g6pdh qui joue un rôle important dans la tolérance a la salinité (la glucose-6- phosphate déshydrogénase) dans *Triticum aestivum*.

## 2. Résultats de conception d'amorces

Ces résultats sont représentés dans le tableau ci- dessous :

**Tableau 6** : Conceptions d'amorce

Gènes		Amorce sens et anti-sens	Taille	longueur	Tm	CG%
WCS19	1 <sup>er</sup> couple d'oligo proposé	Sens CGACCAATGGCTTCTTCTTC	245	20	59,81	50,00
		Anti-sens ACGCCCTTCTTCAACTCGT		19	59,86	52,63
	Additionnels oligos	Sens CGACCAATGGCTTCTTCTTC	245	20	59,81	50,00
		Anti- sens ACGCCCTTCTTCAACTCGTC		20	61,72	55,00
		Sens CTTCTTCTTCCGTGCTGCTC	235	20	60,28	55,00
Anti -sens ACGCCCTTCTTCAACTCGT	19	59,86		52,63		
	Sens TCGACCAATGGCTTCTTCTT	246	20	59,81	45,00	
	Anti-sens ACGCCCTTCTTCAACTCGTC		20	61,72	55,00	
Wcor 15	1 <sup>er</sup> couple d'oligo proposé	Sens GCAGTGCTAACCAAACACGA	167	20	59,91	50,00
		Anti-sens AGGATGAACCCTCACCTCCT		20	59,93	55,00
	Additionnels oligos	Sens TGGCAGTGCTAACCAAACAC	169	20	59,76	50,00
		Anti-sens AGGATGAACCCTCACCTCCT		20	59,93	55,00
		Sens GTGGCAGTGCTAACCAAACA	170	20	59,00	60,00
Anti- sens AGGATGAACCCTCACCTCCT	20	60,04		55,00		
	Sens GAGGAGCGTCGTATGGTAGG	162	20	59,72	60,00	
	Anti-sens GTTCCCTCCCTCTTTGAAGG		20	60,04	55,00	
WCI16	1 <sup>er</sup> couple D'oligo proposé	Sens CCAATGGAGGGTGAGAAGAA	224	20	60,04	50,00
		Anti-sens TGTTTCAGGTACCCCTCAGC		20	60,11	55,00
	Additionnels oligos	Sens GAAGAGAAAATCGTCCGATGG	198	20	59,63	50,00
		Anti-sens GCAGCGCACAACTTAACAA		20	60,06	45,00
	Sens CCAATGGAGGGTGAGAAGAA	208	20	60,04	50,00	
	Anti-sens CAGCCTTCTCGAGGTAAGTGC		20	60,16	60,00	

		Sens TGGAGGGTGAGAAGAACTCG	220	20	60,38	55,00
		Anti- sens TGTTTCAGGTACCCCTCAGC		20	60 ,11	55,00
<b>WcS120</b>	<b>1<sup>er</sup> couple D'oligo proposé</b>	Sens TTACATGCCGACACTTTGGA	195	20	60,11	45,00
		Anti-sens CTACGTGTGGTCGCATCAGT		20	59,78	55,00
	<b>Additionne Is oligos</b>	Sens TACGTACGTCGGCCTGTATG	203	20	59,63	55,00
		Anti-sens GTCGGCATGTAACGACAATG		20	60,00	50,00
		Sens TGTCGTTACATGCCGACACT	200	20	60,18	50,00
		Anti-sens CTACGTGTGGTCGCATCAGT		20	59,78	55,00
<b>IVR1-4AL-CDS</b>	<b>1<sup>er</sup> couple D'oligo proposé</b>	Sens TGCATCGAAGTCGTTCTTTG	223	20	59,99	45,00
		Anti-sens AGCCATGTGAAGGTCATTCC		20	59,93	50,00
	<b>Additionnels oligos</b>	Sens GTCAGCAACAAGGCTGTCAA	177	20	60,03	50,00
		Anti-sens CCTCCACATCCGACTAGCAT		20	60,10	55,00
		Sens CGACCTCAAGGAGAGGACAG	194	20	59,98	60,00
Anti-sens CCGATCGATCATTGAGGATT	20	59,85		45,00		
		Sens AGCACGTCAATGTCAGCAAC	188	20	59,91	50,00
		Anti-sens CCTCCACATCCGACTAGCAT		20	60,10	55,00
<b>TdDRF1</b>	<b>1<sup>er</sup> couple D'oligo proposé</b>	Sens CGTGATGGGCCTAATTCAGT	218	20	59,96	50,00
		Anti-sens CGAATTCAGCAACCCACTT		20	60,11	45,00
	<b>Additionnels oligos</b>	Sens CCTGGAATTGTGGAACCAAC	179	20	60,21	50,00
		Anti-sens CTCGTCATGTCAGCATCAT		20	59,97	50,00
		Sens GTGATGGGCCTAATTCAGT	183	20	59,96	50,00
		Anti-sens CCTTACACCACGGAATCCAC		20	60,23	55,00

		Sens AGGCGATGGAAAGAAGTGAA Anti-sens CGAATTCAGCAACCCACTT	185	20 20	59,81 60,11	45,00 45,00
DHN5, LEA protein	1 <sup>er</sup> couple D'oligo proposé	Sens ACCACCGTTGCAGAATCAAT Anti-sens CGAGGACCATACCGTAAAGC	231	20	60,38	45,00
		Sens TTCCACCATACAACGTGAGC Anti-sens CGAGGACCATACCGTAAAGC		20	59,57	50,00
	Additionnels oligos	Sens TTCCACCATACAACGTGAGC Anti-sens GCGAGGACCATACCGTAAAG	183	20	59,59	55,00
		Sens CCACCGTTGCAGAATCAATA Anti-sens CGAGGACCATACCGTAAAGC		20	59,57	50,00
WRSI5	1 <sup>er</sup> couple D'oligo proposé	Sens GACTTCTCCCCAAGTGCTG Anti-sens CCTGAACGGATCAGTGCTTT	205	20	59,84	55,00
		Sens GCACACCACTACCACAGAGC Anti-sens CAGCACTTGGGGAAGAAGTC		20	60,25	50,00
	Additionnels oligos	Sens GACTTCTCCCCAAGTGCTG Anti-sens ATCGACGGTGCTCTTCATGT	184	20	59,34	60,00
		Sens GACTTCTCCCCAAGTGCTG Anti-sens GATCAGTGCTTTTTGCATGG		20	59,84	55,00
G6pdh	1 <sup>er</sup> couple D'oligo proposé	Sens ATATGAGCGCCTCATTTTGG Anti-sens AGATGTAACCGTGGGTCTGC	218	20	59,84	55,00
		Sens GCAGACCCACGGTTACATCT Anti-sens CCGTTATTACAACGCCAGGT		20	60,25	50,00
	Additionnels oligos	Sens ATATGAGCGCCTCATTTTGG Anti-sens TATGCAAGGGTGGGTGGTAT	156	20	60,69	50,00
		Sens ATATGAGCGCCTCATTTTGG Anti-sens TATGCAAGGGTGGGTGGTAT		20	59,84	55,00
G6pdh	Additionnels oligos	Sens ATATGAGCGCCTCATTTTGG Anti-sens TATGCAAGGGTGGGTGGTAT	240	20	59,28	45,00
		Sens ATATGAGCGCCTCATTTTGG Anti-sens TATGCAAGGGTGGGTGGTAT		20	60,06	45,00
		Sens ATATGAGCGCCTCATTTTGG Anti-sens AGATGTAACCGTGGGTCTGC	218	20 20	60,06 60,00	45,00 55,00
		Sens GCAGACCCACGGTTACATCT Anti-sens CCGTTATTACAACGCCAGGT	156	20 20	60,00 59,88	55,00 50,00
		Sens ATATGAGCGCCTCATTTTGG Anti-sens TATGCAAGGGTGGGTGGTAT	240	20 20	60,06 60,07	45,00 50,00

		Sens ATATGAGCGCCTCATTTTGG Anti-sens GGTCTGCATGTACCCAACCT	205	20 20	60,06 59,85	45,00 55,00	
<b>HKT-7A1</b>	<b>1<sup>er</sup> couple D'oligo proposé</b>	Sens GGCTCGGGTACCTCCTACTC Anti-sens TTCCTCAGCTTGGACCACTT	244	20	60,10	65,00	
		Sens CCCTCAACTTCAACCTGCTC Anti-sens GAGAATGAGGACGAGCTTGC		20	59,84	50,00	
	<b>Additionnels oligos</b>	Sens AAGTGGTCCAAGCTGAGGAA Anti-sens GGTACGTGCTCCAACGACTT	176	20	59,84	55,00	
		Sens AAGTCGTTGGAGCACGTACC Anti-sens AGTTCGAGAACGTGGACACC		158	20	60,10	55,00
		Sens AAGTCGTTGGAGCACGTACC Anti-sens AGTTCGAGAACGTGGACACC			20	59,84	50,00
		Sens AAGTCGTTGGAGCACGTACC Anti-sens AGTTCGAGAACGTGGACACC	223	20 20	60,18 60,16	55,00 55,00	

**Discussion :**

Dix gènes, de résistance au différents stress abiotiques (sécheresse, froid, salin) ont été utilisés. A partir de séquences de ces gènes plusieurs amorces ont été désignées (39 amorces) avec leurs tailles, positions, longueurs, T<sub>m</sub>, GC%). Les amorces conçues par bio-informatique et peuvent être utilisé pour leur détection par PCR.

Nous pouvons donc dire qu'on a conçu de nouvelles amorces par bio-informatique, ayant l'avantage d'être stables et ayant des propriétés adaptées aux protocoles expérimentaux.

# CONCLUSION

## Conclusion

La bio-informatique est née il y a presque une vingtaine d'années pour aider les biologistes qui avaient besoin d'un support permettant de stocker un nombre de données ne cessant d'augmenter, et d'un outil y facilitant l'accès et en simplifiant le traitement.

Certains pays ont un rôle prépondérant dans le développement de cette discipline, alors que d'autres tentent de rattraper le retard accumulé. Nous pouvons remarquer que la biologie doit beaucoup à la bio-informatique et qu'aujourd'hui elle lui est indispensable pour continuer son évolution.

Grace à la recherche *in silico* nous avons pu mettre en valeur des gènes qui tolèrent différents stress abiotiques notamment ceux résistants à la sécheresse IVR1\_4AL\_CDS dans *Triticum aestivum*, TdDRF1 et DHN5-LEA protein dans *Triticum durum*, au froid WCS19, Wcor15, WCI16, Wcs120 dans *Triticum aestivum* et à la salinité tel que WRSI5 et g6pdh dans *Triticum aestivum*.

L'outil bio-informatique nous a également permis de mettre au point de nouvelles amorces par la maîtrise de logiciels de conception (primer 3).

L'outil bio-informatique nous a permis de concevoir des amorces PCR pouvant être utilisés aux protocoles expérimentaux.

# **BIBLIOGRAPHIE**



## BIBLIOGRAPHIE

- Alessi. D.R.; Saito.Y; Campbell. D.G; Cohen. P; Sithanandam. G; Rapp. U; Ashworth. A; Marshall. C.J et Cowley. S; (1994): Identification of the sites in MAP kinase kinase-1 phosphorylated by P74raf-1. EMBO J. 13(7): P1610–1619.
- Anonyme ; (2014) : Légère baisse des importations des céréales [en ligne]. Adresse URL : « <http://www.aps.dz/fr/economie/1614-1%C3%A9g%C3%A8re-baisse-des-importations-des-c%C3%A9r%C3%A9ales-en-2013/1614-1%C3%A9g%C3%A8re-baisse-des-importations-des-c%C3%A9r%C3%A9ales-en-2013> ». Page consulté le : 8-02-2014
- Bartels. D et Sunkar. R; (2005): Drought and salt tolerance in plants. Crit. Rev. Plant Sci, 24(1) : P 23–58.
- Bedrani. S ;(2012) :L’agriculture algérienne depuis 1966. Etatisation ou privatisation, Ed OPU, Alger, 1981.
- Belhassen. E ; This. D et Monneveux. P ; (1995) : L’adaptation génétique face aux contraintes de sécheresse. Cahiers Agriculture, 4: P251-261
- Bernard. C ; (2001), Biologie- la bio-informatique, Encyclopaedia Universalis [en ligne], Adresse URL: « <http://www.universalis.fr/encyclopedie/biologie-la-bio-informatique/> » Page consulté le 18-04-2014.
- Bessad. H ; (2006) : Le programme de production céréalière. Agriculture et développement. Revue de vulgarisation et de communication, Inst. Nat. Vulg. Agric. Alger, (2) : P 20-25.
- Boukadida. J et Denis. J ; (2004) : Travail d’étude. Bio-Informatique. P 4-6
- Bray. E.A; Bailey-Serres. J; Wereilnyk. E; (2000): Responses to abiotic stresses. Biochemistry and molecular biology of plants. American society of plant physiologists. p 1158-1249.
- Bray. E.A; (2004): Genes commonly regulated by water deficit stress in Arabidopsis thaliana. Journal of Experimental Botany, 55: P 2331–2341.

- Brini. F ; Hanin. M. ; Lumbreras. V ; Irar. S. ; Pages. M. ; Masmoudi. K ;(2006) : Functional characterization of DHN-5, a dehydrin showing a differential phosphorylation pattern in two Tunisian durum wheat (*Triticum durum Desf.*) varieties with marked differences in salt and drought tolerance. *Plant Sci*, 172(1): P 20-28.
- Cassan.E;(2013): Biologie et Outils bioinformatiques. Banque de données biologiques. P 6-9.
- Chavin. L; Houde. M et Fathey. S; (1993): A leaf-specific gene stimulated by light during wheat acclimation to low temperature. *Plant Molecular Biology*, 23: P 255-265.
- Chenafi. H ; A. Aïdaoui ; H. Bouzerzour ; A. Saci. (2006): Yield response of durum wheat (*Triticum durum Desf.*) cultivar Waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. *Asian J Plant Sci*, 5: P 854-860.
- Cheng. W.H; Endo. A; Zhou. L; Penney. J et Chen. H.C; (2002): A unique short-chain dehydrogenase/reductase in Arabidopsis glucose signaling and abscisic acid biosynthesis and functions. *The Plant Cell*, 14: P2723-2743.
- Chinnusamy. V; Ohta. M; Kanrar. S; Lee. B.H; Hong. X; Agarwal. M. et Zhu. J.K; (2003): ICE1: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in Arabidopsis. *Genes Dev*, 17: P 1043-1054.
- Claverie. J.M; (2000) : La Biologie structurale, Information génétique et structurale, [en ligne], Adresse URL : « [http : //igs-server.cnrs-mrs.fr/cnrs.html](http://igs-server.cnrs-mrs.fr/cnrs.html) ».page consulté le 20-04-2014.
- Coutouly. G ; E. Klein ; E. Barbieri ; M. Kriat ; (2006) : Biosciences et techniques. Paris, France. P 217-220.
- Cuin. TA ; Betts. SA ; Chalmandrier. R ; Shabala. R ; (2008): Root's ability to retain K<sup>+</sup> correlates with salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 59: P 2697-2706.
- Dieffenbach, C.W., Lowe, T.M.J. et Dveksler, G.S ; (1995). General Concepts for PCR Primer Design. In: Dieffenbach, C.W, and Dveksler, G.S. (Eds.) *PCR Primer: a Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, P 133–155.

- Djermoun. A ;(2009). La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. Science et technologie, N°1. Université de Hassiba Benbouali de Chlef. Algérie. P 03-05.
- Du. H; Zhang. L; Liu. L; Tang. X-F; Yang. W-J; Wu. Y-M; Huang. Y-B; Tang. Y-X (2009): Biochemical and molecular characterization of plant MYB transcription factor family. *Biochemistry (Moscow)*, 74 (1): P 1-11.
- Fanger. G.R.; Gerwins. P; Widmann. C; Jarpe. M.B et Johnson. G.L; (1997): MEKKs, GCKs, MLKs, PAKs, TAKs, and tp1s: upstream regulators of the c-Jun amino-terminal kinase *Curr. Opin. Genet . Dev*, 7(1): P67–74.
- F.A.O ; (2013) : La production céréalière mondiale. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture [en ligne], Adresse URL : <http://www.fao.org/news/story/fr/item/180005/icode/> .Page consulté le : 20/02/2014.
- Feillet. P ; (2000) : le grain de blé composition et utilisation. INRA. Paris.France. P18-24.
- Feliachi. K ; (2000) : Programme de développement de la céréaliculture en Algérie. Dans : Actes du premier symposium international sur la filière blé 2000 - Enjeux et stratégies, Alger (Algérie), 7-9 février 2000 : P 21-27.
- Gartner.A; Nasmyth. K; et Ammerer. G; (1992): Signal transduction in *Saccharomyces cerevisiae* requires tyrosine and threonine phosphorylation of FUS3 and KSS1. *Genes Dev*, 6(7): P1280– 1292.
- Gonzalez. F.A ; Raden. D.L.; et Davis. R.J; (1991): Identification of substrate recognition determinants for human ERK1 and ERK2 protein kinases. *J. Biol. Chem*, 266(33): P22159–22163.
- Guenter. S ; (2003): The EMBL Nucleotide Sequence Database: major new Developments. EMBL Outstation, the European Bioinformatics Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SD, UK. *Nucleic Acids Research*1: P 17-22.
- Guo. A-Y; Chen. X; Gao. G; Zhang. H; Zhu. Q-H; Liu X-C; Zhong Y-F; Gu X, He ; K. Luo J; (2008): PlantTFDB: a comprehensive plant transcription factor database. *Nucleic Acids Research*, 36: P966-969.

- Gustin. M.C ; Albertyn. J; Alexander. M et Davenport. K; (1998): MAP kinase pathways in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*, 62(4): P1264–1300.
- Hauchinal. RR.; JP. Tandon; PM. Salinath; (1993): Variation and adaptation of wheat varieties to heat tolerance in Peninsular India. In Sanders,D. A. and G. P. Hettel. *Wheat in heat stressed environments, irrigated dry areas and rice- wheat farming systems, Mexico, DF, Cimmyt*, P175-183.
- Hirt, H; (2000): Connecting oxidative stress, auxin, and cell cycle regulation through a plant mitogen-activated protein kinase pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*, 97(6): P2405–2407.
- Hong-Bo. S; Zong-Suo. L; Ming-An. S; (2005): LEA proteins in higher plants: structure, function, gene expression and regulation. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 45: P131-135.
- Hopkins W. G ; (2003) : *Physiologie végétale*. 2ème édition, P460-464.
- Houde. M; Danyluk. J; Laliberté. JF; Rassart. E; Dhindsa. RS et Sarhan. F; (1992): Cloning, characterization and expression of a cDNA encoding a 50 kilodalton protein specifically induced by cold acclimation in wheat. *Plant Physiol*, 99 : P1381-13.87.
- Houde. M ; Daniel. C ; Lachapelle. M ; Allard. F ; Laliberté et Sarhan. F; (1995): Immunolocalization of freezing-tolerance-associated proteins in the cytoplasm and nucleoplasm of wheat crown tissues. *The Plant Journal*, 8: P583-593.
- Houshmand. S; Arzanib.A ; M. Feizic. (2005): Evaluation of salt-tolerant genotypes of durum wheat derived from in vitro and field experiments. *Field Crops Res*, 91: P345–354.
- Ingram. J; Bartels. D; (1996): The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47: P377–403.
- Jongeneel. V ; (2000) : bioinformatique, Institut Suisse de bio-informatique [En ligne], Adresse URL: « [http : //sic.epfl.ch/SA/publications/FI00/fi-10-00/10-00-page3.html](http://sic.epfl.ch/SA/publications/FI00/fi-10-00/10-00-page3.html) » «Logiciel pour la biologie, institut pasteur, paris : « [http : //bioweb.pasteur.fr/](http://bioweb.pasteur.fr/) ». Pages consulté le 24-04-2014.
- Kadi. Z ; (2012) : Sélection de l'orge (*Hordeum vulgare L.*) Pour la tolérance aux stress abiotiques .En vue de l'obtention du doctorat. Université de Ferhat Abbas Sétif, Algérie. P 6-10.

- Khichane. C ;(2004) : Access xp étape par étape créé application de base de données. El maarifa. ISBN: 9961-48-116-X. El-Souna, Alger. P 234.
- Kobayashi. F; Takumi. S; Nakata. M; Ohno. R ; Nakamura T et Nakamura. C; (2004): Comparative study of the expression profiles of the Cor/Lea gene family in two wheat cultivars with contrasting levels of freezing tolerance. *Physiol. Plant*, 120: P585-594.
- Latini. A ; Rasi. C ; Sperandei.S ; Cantale.C ; Iannetta. M ; Dettori. M ;Ammar.k et Galeffi.P ;(2006) : Identification of a DREB-related gene in *Triticum durum* and its expression under water stress conditions. *Annals of Applied Biology*, 150: P187–195.
- LEI. SHAN; Culing. Li; Chen. F; Shuangui. Z et Guangmin. XIA ;( 2008): A Bowman-Birk type protease inhibitor is involved in the tolerance to salt stress in wheat. *Plant, Cell and Environment*, 31: P 1128–1137.
- Levigneron. A; Lopez. F; Vansuyt. G; (1995) : Les plantes face au stress salin. *Cahiers Agricultures*, 4: P 263–273.
- Ligterink. W; (2000): MAP kinases in plant signal transduction: how many, and what for *Results Probl. Cell Differ*, 27 : P11–27.
- Malassis. L ; (1997) : Les trois âges de l'alimentation, T.I, Economie agro-alimentaire, Ed. Cujas, Paris : P 367.
- Martel. E ; (2011) : Conception automatisée d'amorces et de sondes aux fins de diagnostic moléculaire. Dans le cadre du programme de maîtrise sur mesure en bio-informatique pour l'obtention du grade de Maître de sciences. UNIVERSITÉ LAVAL QUÉBEC. P 9-25.
- Moose. SP; RH. Munns;(2008): Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement. *Plant Physiol*, 147 : P 969-977.
- Mori I.C; Murata. Y; Yang ; Y ; Munemasa. S et Wang. Y.F; (2006): CDPKs CPK6 and CPK3 function in ABA regulation of guard cell S-type anion- and Ca<sup>2+</sup> permeable channels and stomatal closure *PLoS. Biology*, 4: P327-334.
- Mouhouche. B; Boulassel. A; (1997): Gestion rationnelle des irrigations de compléments des cultures de légumineuses alimentaires et de céréales. *Recherche Agronomique, Revue semestrielle N°01 octobre 1997. INRA d'Algérie. ISSN: P 1111-1992.*

- NDong. C; Danyluk. J; Wilson. KE; Pocock. T; Huner. NPA et Sarhan. F; (2002): Cold-regulated cereal chloroplast Late Embryogenesis Abundant-Like proteins. Molecular characterization and functional analyses. *Plant Physiol*, 129: P 1368-1381.
- Nemoto. Y; Sasakuma. T; (2000): Specific expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) gene by salt stress in wheat (*Triticum aestivum L.*). *Plant Sci.* 8 ; 158(1-2) : P 53-60.
- Pabo. CO et Sauer. RT; (1992): Transcription Factors: Structural Families and Principles of DNA Recognition. *Annual Review of Biochemistry*, 61 (1): P1053-1095.
- Passioura. J; (2004): Increasing crop productivity when water is scarce: from breeding to field management. In proceedings of the 4th International Crop Science Congress "New directions for a diverse planet" Brisbane, Australia. P 12.
- Payne. D.M; Rossomando. A.J; Martino. P; Erickson. A.K; Her. J. H; Shabanowitz. J; Hunt. D.F; Weber. M.J et Sturgill. T.W; (1991): Identification of the regulatory phosphorylation sites in pp42/mitogen-activated protein kinase (MAP kinase). *EMBO J*, 10(4): P 885–892.
- Philippe. D ; (1995) : Les Secrets de la séquence, in *Biofutur*, 146: P 39-43.
- Plieth. C; (1999): temperature sensing by plants: calcium-permeable channels as primary sensors. *A Model. J. M membrane Biol*, 172: P121-127.
- Priest. HD; Filichkin. SA; Mockler. TC; (2009): cis-Regulatory elements in plant cell signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 12 (5): P 643.
- Rawson. DM; AJ. Willmer; APP. Turner; (1993): Whole-cell Biosensors for environmental monitoring. *Biosensors*, 4 : P 299-311.
- Riechmann. J.L ; Heard J ; Martin. G ; Reuber. L ; Jiang. C ; Keddie. J ; Adam. L ; Pineda. O ; Ratcliffe. O.J ; Samaha. R.R ; Creelman. R ; Pilgrim. M; Broun. P ; Zhang. J.Z ; Ghandehari. D ; Sherman. B.K ; Yu G; (2000): Arabidopsis transcription factors : genome wide comparative analysis among eukaryotes. *Science* 5,290 (5499): P 2105-10.
- Roberts.J .K ; Desimone. N. A; Lingle. W.L et Dure. L; (1993): cellular concentration and uniformity of cell-type accumulation of tow LEA protein in cotton embryos. *Plant cell* 5, P 769-80.

- Robinson. M.J et Cobb. M.H; (1997): Mitogen-activated protein kinase pathways. *Curr. Opin. Cell Biol*, 9(2) : P 180–186.
- Roeder. V ; (2006) : Recherche et étude de marqueurs moléculaires de la réponse au stress chez l'algue brune *Laminaria digitata*. En vue de l'obtention du DOCTORAT. UNIVERSITE de Rennes 1, France. P 33-53.
- Sakuma. Y; Liu. Q; Dubouzet. IG; Abe. H; Shinozaki. K et Yamaguchi. K; (2002): DNA-binding specificity of the ERE/AP2 domain of Arabidopsis DREBs, transcription factors involved in dehydration and cold-induced gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 290: P 998-1009.
- Sarhan.F ; Ouellet. F; Vazquez.A ;( 1998): Low temperature-Stimulates phosphorylation regulates the binding of nuclear factors to the promoter of *Wcs120*, a cold-specific gene in wheat. *Mol Gen Genet*, 257 : P157-166.
- Sasaki. K; Christov. NK; Tsuda.S; Imai.R;(2013): Identification of a novel LEA protein involved in freezing tolerance in wheat. *Plant Cell Physiol*, 55: P136-47.
- Shaobai. H ; Wolfgang. S; Evans. S; Lagudah. A ; James. J ; Damien. P ;Elizabeth.S ; Dennis, et Rana. M ;( 2006): A Sodium Transporter (HKT7) Is a Candidate for *Nax1*, a Gene for Salt Tolerance in Durum Wheat. *Plant Physiology*, 142: P 1718–1727.
- Shepherd. T et DW. Griffiths; (2006): The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytol*, 171: P 469–499.
- Singh. KB; Foley. RC; Sanchez. L; (2002): Transcription factors in plant defense and stress responses. *Current Opinion in Plant Biology*, 5 (5): P 430.
- Sylvie. B ; (2011) : Bioinformatique utilisateur, [En ligne], Adresse URL : « <http://lyc-chevreuse-gif.ac-versailles.fr/> ». Page consulté le 2-04-2014.
- Tafforeau. M ; (2002) : Étude des phases précoces de la transduction des signaux environnementaux chez le lin : une approche protéomique. Thèse de Doctorat de l'Université de Rouen. Spécialité: Biochimie Végétale. P 255.

- Takumi. S; Koike. A; Nakata. M; Kume. S; Ohno. R et Nakamura. C (2003): Cold specific and light-stimulated expression of a wheat (*Triticum aestivum* L.) Cor gene Wcor15 encoding a chloroplast-targeted protein. *Journal of Experimental Botany*, 54: P 2265-2274.
- Tateno.Y; Miyazaki.S; Ota.M; Sugawara.H. et Gojobori.T; (2000): DNA Data Bank of Japan (DDBJ) in collaboration with mass sequencing teams. *Nucleic Acids Res*, 28: P24-26.
- Thomashow. M.F; (1999): Plant cold acclimation: Freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annu rev plant physiol plant mol boil*, 50: p571-99
- Triesmann. R; (1996): Regulation of transcription by MAP kinase cascades. *Curr. Opin. Cell Biol*, 8(2): P 205-215.
- Van Verk. MC ; Gatz. C; Linthorst. HJM; Loon. LCV; (2009): Chapter 10 Transcriptional Regulation of Plant Defense Responses. In: *Advances in Botanical Research*. Academic Press, P 397.
- Wang. W.X ; Vinocur. B ; Shoseyov. O ; Altman. A; (2001): Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular considerations. *Acta. Hort*, 560: P 285-292.
- Wang. W.X ; Vinocur. B; Shoseyov. O; Altman. A; (2003): plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance *.Planta*, 218: P 1-14.
- Wang. W; Vinocur. B; Shoseyov. O; Altman. A; (2004): Role of plant heat –shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends plant Sci*, 9: P 244-52.
- Wardlaw. IF et J. Willembrik; (1994): Carbohydrate storage and mobilisation by the culm of wheat between heading and grain maturity: The relation of sucrose synthase and sucrose phosphate synthase. *Aust. J. Plant Physiol.*, 21: P 255-271.

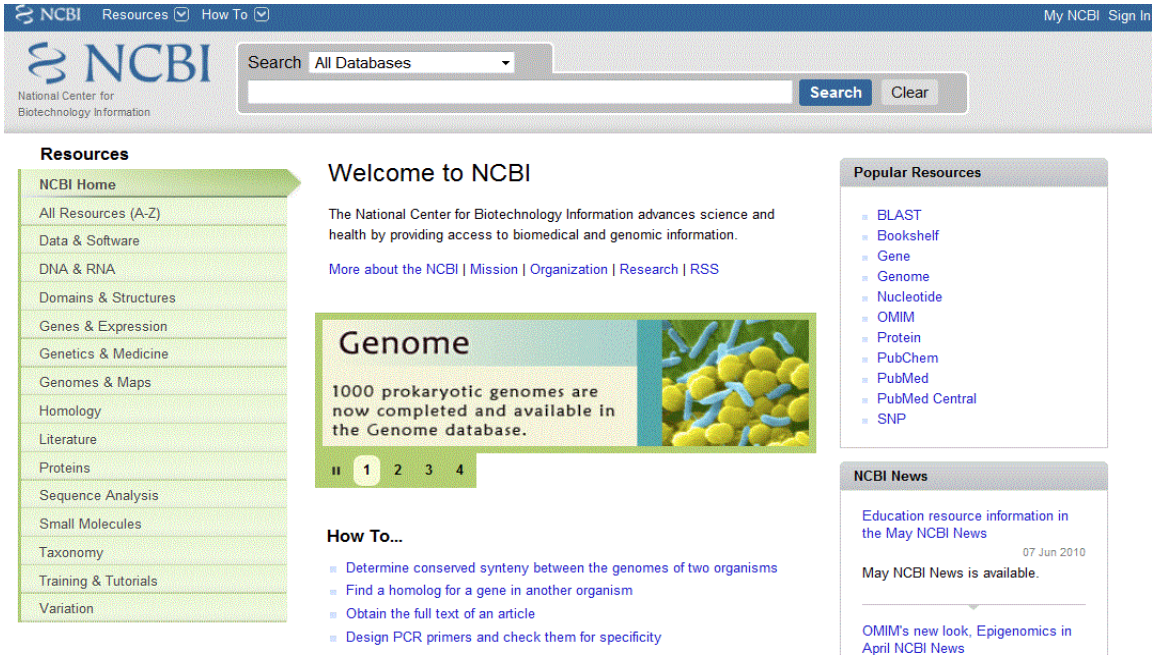


- Webster. H; Keeble. G; Bernard. D; Fosu-Nyarko. J; Mukai. Y; Moolhuijzen. P ; Bellgard. M; Jizeng. J; Xiuying. K; Feuillet. C; Choulet. F; (2012): Genome-level identification of cell wall invertase genes in wheat for the study of drought tolerance. *Functional Plant Biology*, 39: P 569–579.
- Wheeler. D.L; Benson. D.A; Karsch-Mizrachi. I; Lipman. D.J; Ostell. J et Rapp. B.A; (2006): GenBank. *Nucleic Acids Res*, 28: P 15–18.
- Widmann. C; Gibson. S; Jarpe. M.B et Johnson. G.L; (1999): Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human. *Physiol. Rev*, 79(1): P 143–180.
- Witcombe JR., PA. Hollington, CJ. Howarth, S. Reader, KA. Steel. (2009): Breeding for abiotic stresses for sustainable agriculture. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, **363**: 703-716.
- Zheng. C.F et Guan. K.L; (1994): Activation of MEK family kinases requires phosphorylation of two conserved Ser/Thr residues. *EMBO J*, 13(5): P1123–113.

# **ANNEXES**

# ANNEXE.01

**Tableau 1 :** Interface des principales banques de données

<p>Banques de données</p>	<p style="text-align: center;">Interface Web</p>
<p style="text-align: center; font-size: 2em; font-weight: bold;">NCBI</p>	 <p>The screenshot displays the NCBI website interface. At the top, there is a navigation bar with 'NCBI', 'Resources', and 'How To' menus, along with 'My NCBI' and 'Sign In' links. Below this is a search bar with a dropdown menu set to 'All Databases' and 'Search' and 'Clear' buttons. The main content area is divided into several sections:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Resources:</b> A vertical list of categories including NCBI Home, All Resources (A-Z), Data &amp; Software, DNA &amp; RNA, Domains &amp; Structures, Genes &amp; Expression, Genetics &amp; Medicine, Genomes &amp; Maps, Homology, Literature, Proteins, Sequence Analysis, Small Molecules, Taxonomy, Training &amp; Tutorials, and Variation.</li> <li><b>Welcome to NCBI:</b> A central message stating 'The National Center for Biotechnology Information advances science and health by providing access to biomedical and genomic information.' It includes links for 'More about the NCBI   Mission   Organization   Research   RSS'.</li> <li><b>Genome:</b> A featured section with the text '1000 prokaryotic genomes are now completed and available in the Genome database.' and a small image of yellow and blue spheres.</li> <li><b>How To...:</b> A list of helpful links:             <ul style="list-style-type: none"> <li>Determine conserved synteny between the genomes of two organisms</li> <li>Find a homolog for a gene in another organism</li> <li>Obtain the full text of an article</li> <li>Design PCR primers and check them for specificity</li> </ul> </li> <li><b>Popular Resources:</b> A list of frequently used tools and databases:             <ul style="list-style-type: none"> <li>BLAST</li> <li>Bookshelf</li> <li>Gene</li> <li>Genome</li> <li>Nucleotide</li> <li>OMIM</li> <li>Protein</li> <li>PubChem</li> <li>PubMed</li> <li>PubMed Central</li> <li>SNP</li> </ul> </li> <li><b>NCBI News:</b> A section for recent news items, including 'Education resource information in the May NCBI News' (dated 07 Jun 2010) and 'May NCBI News is available.' It also mentions 'OMIM's new look, Epigenomics in April NCBI News'.</li> </ul>

# EMBL-EBI

The screenshot shows the EMBL-EBI website interface. At the top, there is a navigation bar with 'EMBL-EBI' on the left and search, 'Find', 'Terms of Use', 'Privacy', and 'Cookies' on the right. Below this is a secondary navigation bar with 'Databases', 'Tools', 'Research', 'Training', 'Industry', 'About Us', 'Help', and 'Site Index'. The main content area is titled 'EMBL Nucleotide Sequence Database'. It includes a sidebar with a 'Fetch' form, 'News' section (dated 5th January 2010), and 'Collaborations' section listing INSDC, NCBI, and DDBJ. The main text describes the database as Europe's primary nucleotide sequence resource, produced in collaboration with GenBank and DDBJ. A table of links and their explanations is provided, covering access, submission, documentation, publications, people, contact, and news. A 'Contact' section at the bottom provides a support form link.

# DDBJ

The screenshot shows the DDBJ website homepage. The header features the DDBJ logo and 'DNA Data Bank of Japan' text, along with a 'JAPANESE' language toggle and social media icons. A navigation bar includes 'HOME', 'Data Submission', 'How to use', 'Search/Analysis', 'FTP and WebAPI', 'Report/Statistics', and 'Contact us'. The main content area is titled 'DDBJ : DNA Data Bank of Japan' and includes a description of the bank's role in the international nucleotide sequence database. A 'Hot Topics' section lists recent updates from December 2012. A 'Maintenance' section notes a suspension of activity during the New Year holidays and an apology for a service outage. A 'Search' sidebar is visible on the left, and a 'Sequence Data Submission' button is at the bottom.

## ANNEXE.02

### La séquence du gène WCS19 « *Triticum aestivum* »

Séquence 657 BP; 152 A; 191 C; 198 G; 116 T

```
60  cacaacctac cctacccacc catccatcag cagtttttct atcgaccaat ggcttcttct
120  tccgtgctgc tcggagcctc ggccacggcc gcgctcaccg gcaccccggc aggcaaggcc
180  cttccccggc cttgcttctt cgccgctcgc ccgcgcaccg tgagcgggtg cgtctctgctc
240  ctgcagaacg ctccaagggc gactccggcg tacaacgacg ctgcggatgc caccgacaag
300  gccatcgacg gcgtgaaggg ggtggccgac gagttgaaga agggcgtggc ggaggctgctg
360  gaggccgtct cgggcaacac cgagaaggcc gcggaggaag ccggcaaggg cgcgagcgag
420  gtggacgcga aggccaagga cttcggcgag caggcgaaga aggcgacgga ggaggcgtgg
480  gacggcgcca aggacgccgc acagggcatc acggacaaaag tcgccgccgc ggccaaaaag
540  gaagctagct aagctaacac tacgttgact agtccgatct gtatcgctca attcattttc
600  cattgtaagg aatgcatata cgtatttcgg tacaagagat aagatagctg tatttatattt
657  ctgtgatata ggattaccgc actgttaatg tcaaacgcaa taaagaaaat gattttt
```

## Annexe. 03

### La séquence du gène Wcor15 « *Triticum aestivum* »

Séquence 4549 BP; 1255 A; 943 C; 1182 G; 1169 T

```
60  cgcgcaatta accctcacta aagggaaaca aagctggagc tccaccgcgg tggcggccgc
120  tctagaggag cgtcgtatgg tagggagggga tctacaacac ataatctcca tggcgtggtc
180  tttgccacca taggactgcc aattaaatcc ctaaattact tcatacacac tagaaacaac
240  aaatccaggg atcccccatc tttttgcctt caaagagggga gggaacacat agtctggcctt
300  gcagccaggg gagcaaagtc agccgccacc aattctctta agtgcacccg tattttcctc
360  tgcttcggga gctatcgca tcgacgtggg tgtaattaca atttcaccct ttttcattt
420  atggtgtttc agtcccttta tggaaagttt cagtcacttt ctcgtatcac ttgtttttat
480  gttgtttttat attcattaca aatgcatatt tttggtgcaa ttacattttc acacttttcc
540  atttatTTTT gttgtttgcg tgagatgtat gaattcccaa tttgcaccag ctgatttcgt
600  cgaagaagga agaagaaaga gaggtgctgc atcaaggctc atacatggac gacatggctg
660  gctgcagcgt ccctggcaag gctgatccaa gatagtctcg aatacgggga caacccgaca
720  tccttggcga aggcggggca ataggttgac aatacatgtg aggggtgcgg cgcgcactcg
780  gaggtggaaa gggagttgca ccgaagatgg tgagaggggt thtagatttt agagggatgg
840  ttggggacat caacaacatg aaatatgcga caactcgggt ggggtggggt tgtgctggc
900  agtgctaacc aaacacgagt agtgtaggca ggtggtttag cccatgttga ttgtgagatt
960  gatggggtag aaagcttaga ggcgtgcatg gtagaaaaaa atatgcaact tatatatctc
1020  tcgttggatt aacaagccag aggcaaggag gtgagggttc atccttattc ttcccttttt
1080  gattggagag ctcgggagca acctcttcca tagtgttcat cttatcagat aaagtgaggg
1140  ttcactctat taggaataaa ttagtttggt actgttgatg cattagcatg ctataattaa
1200  acaaatattc atttgaaca tggaaaccgtc attagtgaag gttgtgatg gttggccatg
1260  tcgaatccta atagtgacgt cggtttagaa cataactctc ccaatgcaga tttcttagga
1320  atgttttata ggtattttgc tgatgtgcct tagtatttaa tgaaaagata gggatgtagt
1380  agcttagagg gatggcccta gtagctaaca tacaaccctt gcatgtagcc atgggcaaat
1440  aaatttacta actcaatcac atgtaatatc atagctggta tcatgcatgc caactagata
1500  attttgatga ggtgtcatag aattaaaca aaaaaagagg gttcagtatc atataaagat
```

1560 actgtatcat aataaatcct atactactat gtgtcatgca tgtaataaa taaagtacca  
1620 cgtgatacta atatatgata ctatgcatta gggaggtagt atcatacact agtatcatat  
1680 gcatgagacc caaatacaac ccctaaattg accggctagt tgtctcttaa acttttatat  
1740 tttctatgat ataacatgct aaaaaacgat gcattggggg aggcccttc tcatccatca  
1800 tagcagctga catcttttga aggctctcct tgagagcaaaa tataataagt gatgtaagcg  
1860 agatgtaaga ctttcaatat aatattttta atgagttgaa agagagagaa gataaaagag  
1920 aatagaagca ggctatagat taataaccag ttgcagcatg tgccctagtg gctttgtgag  
1980 agagtgaggt gactcatgta tcaacaaagt aatactccct ctttctagga atacttgtcg  
2040 gagaaacgga taaaaatgga tgtatgtaga actaaaatac gtctaaatac attcattttc  
2100 cgacaaatat tttcagatga agggagtaca tatctatatc taattattat atttgctgac  
2160 tataaactta aatataaatg acatggcaac attatatagc tattaacat gctcccgacc  
2220 atgtatcggg gatgtcatta ttgttcattc aatcactttc caattaatac tttctacaga  
2280 tgggatataa atatggctaa acttaccctt gattaatcga cggacggtat caaatatctt  
2340 ctgctatcat aagttgaagc atcttaaaag agctcctgac aaaaccttgg ttgtacgtaa  
2400 ctttcaaacg tggacagtag gatttgtttc ttcgatccgc tccaaacagg tcatgtaggt  
2460 atacgtgctt tcgtacgaga cgctggggg gtaagcagct acccatttct tttcttttat  
2520 tggatatagga aattcgaccg tacattacca cataaacctt gtcgacaact ctccgcgcac  
2580 tgctccacca cagaaccttg tcgaccgtcg attgtcgcca tgcgcccggag cgatcggccc  
2640 ccgacgtgtc accccccagc tcacccttcg cccctccgcg tccggcctat aaaaacgacg  
2700 atgcacctct cgtcctccca ttgcattgca agtgaagctc acacaacctt ccctacccta  
2760 cccaccatc catcagcagt ttttctatcg accaatggct tcttcttccg tgcttctcgg  
2820 agcctcggcc acggccgcgc tcaccggcac cccggcaggc aaggcccttc cccggccttg  
2880 cttcctcgcc gctcgcccgc gcaccgtgag cggcggccgc ctctgcctgc agaacgctcc  
2940 aagggcgact ccggtacgtg tgccgcgagc agtaccgttc gatcatggcc tcatgccgat  
3000 tatttttacg tacgctgctg gttagctgctc ctctgagata tgctgaccga gatatatggg  
3060 tgcatgggac aggcgtacaa cgacgctgcg gatgctaccg acaaggccat cgacggcgtg  
3120 aaggggggtgg ccgacgagtt gaagaagggc gtggcggagg cggctgaggc cgtctcgggc  
3180 aacaccgaga aggccgcgga ggaagccggc aaaggcgcga gcgaggtgga cgagaaggcc  
3240 aaggacttcg gcgagcaggc gaagaaggcg acggaggagg cgtgggacgg cgccaaggac

3300 gccgcacagg gcatacagga caaggtcgcg gacgcggcca aaaaggaagc taactaagct  
3360 aacaatgcgt tgactagtcc gatatgtatc tctcaattca ttttccattg taagaagggt  
3420 tgtaagaatg catatacgta ctttgggtaca agaagagata aaatagctgc atttattttc  
3480 tgacatacag gattaccgcc ctgttaatgt caaacgcaat aaagaaaatg atgctaaaag  
3540 gtttacataa tagctatgcg tgagttgctt gaatttcgaa ttcgagtcgg tcgattcgtg  
3600 gaagaaggaa ggaggagacg aggtgtagca ccaaggcaaa agacgacgga gccggggcga  
3660 gtggagcgaa gcccgggggc gcgggcaagg ccttggccgg gaacgagccg tagacggaga  
3720 tggcatgcct tgccgcaacg tctcaggaga aggtgagtca gtggttgacg gttcgggtgt  
3780 gggaccggga aggctcgccc gcgaaatgca cctgttacac ttcattttac cttgtaagaa  
3840 tgcatatatg tattgttgaa agattttacg tcgacctaag cagcggtaga ggggagtacg  
3900 tgaaatttgt actcgatgaa acgtcacgtg aggaaactag gaaactaggg gacttaggca  
3960 cagaacgcta gggcacacga tatattcagg ttcaggctcc taatgtgtgt aagagcccta  
4020 cttcccacct tactatttcc ttgtggagaa cagagaacta caatgtcgag ggagggactc  
4080 ggcgagttct tgcgggcgtg gagatttggg tgtttttagga tcaattgtgt atgtctaaag  
4140 ggggaatctc ctggcaattt taagcttttc tatggtagaa tatggagcac cctacacata  
4200 caagtctacg ggagtatagg taggggaaag taaagagtag agttagagag gagtataggt  
4260 agtggaaaagt aaagatttca cagaagtaaa gtaagagtag atttagagtg atgcaatcac  
4320 ttgggtgctc catggagatt tccatgtggt ttagatagtt ggtgctatcc tactccacat  
4380 tgatggtggc gacggcgtgg cctgggtggc ttggactcac cagaatttgg taggtggtgg  
4440 ctctggcaga gacagagggg atggggctcg agtggagtag cctcactgca atatccgggg  
4500 tgaagtgggg caaaagacac agggagtag gggctagttc ttgggcatgt tcaggcttgg  
4549 gcgcgtagtg gaggtgcaag aagtggagct catggacatg gacatgcac



## Annexe .04

### La séquence du gène WCI16 « *Triticum aestivum* »

Sequence 738 BP; 193 A; 172 C; 222 G; 151 T

```
60 actactotta agccacaaaa gatttttgct accagcacct aagctccaat ggagggtgag
120 aagaactcgt ccggggacct gatgtccagc agcaagctgg tcgcgagggc cgccaagacg
180 gcctacgaga agaagagcgt cgagggcatc gacaaggaaa aggtagccgc cgcctccgcc
240 gacatcctcg actccgccgc caagtacggc aagctggagg acaagccggt ggggcagtac
300 ctcgagaagg ctgaggggta cctgaaacag tacagctccg gcggcaccga gaaggagaaa
360 accgacgcac ctgctgccgc tgacgcaccg aagccggatg cacccaagga ggcagcgcct
420 gcgcctgccc ctgccgcgga ggaagagaaa tcgtccgatg ggttcggtct cgacgacgtc
480 atgaaggggg ctgcatcgct gtcggggaag aagagtggcg aggaggagaa ggagagcggc
540 ggcggcggcg ggttcatgaa gatggctcag gggttcatga agtagaagtc tggtttctac
600 atctacatgc atgtagctct tgttaagttt gtgcgctgcy ttacttctgt attttgttac
660 tctataacgt tgtggttgty ctttaattatg ttagctgctg atatctggtt ctgtaaagtt
720 ttttaagtca tgtctgtctg tattgatgat caataatccc gttgtgctag ctaaaaaaaaa
738 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
```

## Annexe .05

### La séquence du gène WcS120 « *Triticum aestivum* »

1 aaaccacggg tttttggccg gatccgtggc gggggacgac aacgcggtca gtcgcggcag  
61 aggcggcgtc ggacatcggg ccgttcacgt ccgcggtgtc ggacggggac ggtgagatgc  
121 ggtgtcgaac gtcggggccgt tcacgtccgc gtcgtcggac gggcacggtg agatgcggcg  
181 tcgggcgggg ttgggacggc ggcgatcggc cagttggaaa aatggaacgg gaggagcatg  
241 atcgcggggc gggcgagaag atcatgcaac tgctctttt ttcccgtaca cgggcgatgc  
301 cttttttttt gcatccgcgc gggatacgt acgtcggcct gtatgtacaa tagaagggtg  
361 gtatatcgtt tccttcatat ggccattctg cccttctaca ttttgttggg ggtctaccga  
421 agcacttctc agaatcctac tgtataaaat tatttcgaat caaagcccta agcctctcgt  
481 atgcttcttc tagttactct catagtctca ttgtcgttac atgccgacac tttggatctt  
541 ccatcctctt aagcaaacia tactaccatt tttgcaagag aaaagaatca tcttcttccc  
601 ggacaaggac gaatgagctg ggacgtggcg acccggacgc gccactggct tcagaggccc  
661 ggcccccta gtcggcagcc acctgccgac cactgatgcy accacacgta gctcccagcc  
721 gcggcgattc gtccatctga ccagccctct ttatgggcta gtcggcactc acctgccat  
781 cactcacga gcgcgcacgt cgtggttcgt atacctcca acggcctata aatactgcgt  
841 cgcgctgcat atgctttaca caaccacctg cttcacacta ccaaggcaag tacacagcag  
901 caatacgtag tagatttccc gagtgaggag ctcagcgcaa g

## Annexe. 06

### La séquence du gène IVR1\_4AL\_CDS « *Triticum aestivum* »

Sequence 2470 BP; 593 A; 650 C; 632 G; 595 T

```
60  atgggggatgg cgtcggcggc ggcgccattg atcgtgtctc tgctgtactg cgcggcgttg
120  gcgggtgcacg cgtcgcacgt cgtgtacccg gagctccagt cgttggaggc cacggaggtg
180  gacaaggagc tacgcaccgg gtaccacttc cagcccccca agcattggat caatggtacg
240  tatgtgtgga atatttattt cctcgtttca ccgtcagttg cttagtatgt tatactcact
300  cctcgcaatt tcttttgtct ggcctttggt aattggatga catcgaacct cttcacaacg
360  atgcaacgat tgatcagatc caaatggtac gtgcactcat acaaattgat cactctcgcc
420  atctatctat tgggtcaaatg atgaattagt aatcagtttt gcatgactat ctattgtgca
480  ctttgtatga cattgtgtga ctcaacatct caacgtctgg atgcatgcag ggcccatgta
540  ctacaagggg ctgtaccatc tcttctacca gtacaacccc aagggcgccg tgtgggggaa
600  catcatctgg gcgcactcgg tgtcaaccga cctcatcgac tgggtggcgt tggagcccgg
660  gatctaccgg tccaagccgt tcgacatcaa cggttgctgg tcgggctccg ccaccattct
720  gcccaacggc gtccctgtca tcatgtacac aggaatcgac cccaacgacc gccaggtgca
780  gaacgttgcg taccggcca acctctccga ccccttcctc cgcaagtggg tcaagcccga
840  ctataacccc atcatcaatc ccgaccgagg catcaacgcc agcgccttcc gtgatccac
900  cactgcttgg tacggggccag acgggtacgt acatcaccat ttattttatc gtgtgccatg
960  ttgacacaca tgtaaatatg atgttgagca tgtttggcca gttgatattt acaaaaagat
1020  catgctatat gctgatgtgc gtgattgatt tgcagacact ggaggctggt ggtgggcagc
1080  aaggagaaca tgagggggat cgcggtgttg taccggagcc gtgactttag gaggtggatc
1140  aaggcacacc actcgctgca cgctgggcta acagggatgt gggagtgcc cagacttctac
1200  cccgtggcgg tgcccgggtg cagacgtcac caccagaacg gtgtggacac cgcagagctg
1260  catgacagca cagtcgctgc ggaggtaaaa tatgtgctca aggtgagcct cgacgtaacg
1320  cgctacgagt actacaccat tggctggtac gaccatgcc aaggacaggta caccctgac
1380  ctcgacttcc cagacaatga ctatggtctc cgatacgact acggcgactt ctatgcatcg
1440  aagtcgttct ttgaccgggt caagaagcgt cgcgtgctct ggggctgggc caatgaatcg
1500  gacactgtcc ccgacgaccg caacaagggg tgggctggca tccaggtcac tctacacatc
```

1560 cacat ttaca ccacacgaac aga atgtctt cactctacac attcactatt tttccaagg  
1620 gttgggctct ggggttgaa tgacctcac atggctcttc acgtactgag atttaa atgt  
1680 attgttg ttt ctgaat tttt aggcgatacc gaggaagatc ttcctgtcac ggagcggcag  
1740 gcagctaatt cagtggccgg tagaggagat caagtcattg cgcgcaaagc acgtcaatgt  
1800 cagcaacaag gctgtcaaga gcggcgagtt cttcaaggtc ggcggcttca aatccgtgca  
1860 ggtcagtaca atagtgtata tacacttgat ataaacaaca tggggcggtg gccctcctct  
1920 ctgaattgtc agtgaatgac gagccactgc tatatatgct agtcggatgt ggaggcagcg  
1980 ttcatgatca agaaccttga gaaggcggag aaattcaacg cgtcgtggcg gacagacgcg  
2040 caggggctgt gcaagaagct caactcacat gtcaagggcg gcgtcgggcc atttgactc  
2100 tggctgctcg cctccgacga cctcaaggag aggacagctg ttttcttcag ggtattcaag  
2160 aacaacgaca ccagctatgt cgtcctcatg tgcaacgacc ctacaaggta gatccaatgc  
2220 atataactca ctcaagtcac cttttt gtat atgtatatac aacttgcaat ttaccacact  
2280 ctagatcccg taatcctgaa tgatcgatcg ggcaggtcgt cattcgagtc gcagatctac  
2340 agaccgacct tcgccggctt tgtcaatgtc gacatatcta agaccaagaa gatcgccta  
2400 aggacattgg tacgtgacca caaaatctac attgaattag ttacttactg aatataccat  
2460 tgcaagaggg ttctaagcca tgtcacggaa tccatttcag atcgaccact ctgtcgtgga  
2470 aagttttggt

## Annexe .07

### La séquence du gène TdDRF1 « *Triticum durum* »

Sequence 1042 BP; 254 A; 246 C; 314 G; 228 T

```
60   catgacggta gatcgggaagg acgctgaggc ggcggcggcg gcggccgcac ccttcgagat
120   cccggcgctc cagcctggaa ggaaaaagcg acctcggaga tcacgtgatg ggcctaattc
180   agtctctgaa acgatcaggc gatggaaaga agtgaaccaa caactggagc atgatccaca
240   ggggtgcaaag agggcgagga agccacctgc aaagggttca aagaagggct gtatgcaggg
300   gaaaggagga cctgagaata cacaatgtgg attccgtggt gtaaggcaac gtacttgggg
360   gaagtggggt gctgaaattc gggagccaaa tcgggtgagc aggctctggt tgggaacggt
420   ccccactgct gaggatgctg cccgtgctta tgacgaggca gcaagagcaa tgtatggcgc
480   cctggctcgt accaacttcc ctgcgcatcc tgcacaagct cctgctgtgg ctgtaccagc
540   ggcaattgaa ggtgttgtac gtgggtgctt agcatcatgc gagtctacta caacatccac
600   caaccactca gatgttgctt ctaacttgcc gcgacaagct caagctcttg agatttactc
660   ccagccagat gtgcttgagt ccaccgaatc agttgtgctg acttctgttg agcattacag
720   ccataaagac agtgttcctg acgctggctc aagcattgca aggagcacat ccgaagagga
780   tgtgttcgag ccattggagc ctatttccag tttgccggat ggggaatctg acggttttga
840   tatagaagaa ttattgagat tgatggaagc cgacccaatt gaagttgagc cggtcactgg
900   gggctcctgg aattgtggaa ccaacactgg cgtggaaatg ggctgctgg aacctctgta
960   cctgggtggg ttggaccgca ggatgctgga tggcatgctg tacgctgagt atccttacca
1020  aatgtggata tcgcacgata gtgccttgca cgaccctgcc ttcaatgatg ctgacatgag
1042  cgagttcttc aaaaggttgt ga
```

## Annexe.08 et 12

### La séquence du gène DHN5-LEA Protein « *Triticum durum* »

Séquence 1124 BP; 293 A; 316 C; 342 G; 173 T

```
60  atggactgaa ggagtagaaa acaacgactc accagctttc tgtcagccaa agaccaaaag
120  ctaaagccac aaccaagtcc agtttaggag gcaaagatgg agttccaagg gcagcacgac
180  aaccccgcca accgcgtcga cgagtacggc aacccgtttc cgctagccgg cggcgtgggg
240  ggagcgcacg ccgctcccgg caccggcggg cagttccagg cccacagggg agagcacaag
300  accggtggga tcctgcatcg ctccggcagc tccagctcca gctcgtcttc cgaggacgac
360  ggcatgggcy ggaggagaaa gaagggcatg aaggagaaga tcaaggagaa gctccccggt
420  ggccacggtg accagcagca caccggtggc acctacagac agcagggtac tggcatggtc
480  ggcaccggcg gcacctacgg gcagaagggt cactactggga tgaccggcac cggcggcacc
540  tacgggcagc agggtcacac tgggatgacc ggcaccggcg gcacctacgg gcagcagggc
600  cactactggga tgaccggcac cggcggcacc tacggacagc aaggccacac cgggatggcc
660  ggcaccgggg cgcatggcac caccggccact ggtggcacct acgggcagcc gggccacacc
720  gggatgacag gcacgggggg gcacggcacc ggaggcacct acgggcagca cggcactgac
780  accggcgaga agaagggcat catggacaag atcaaggaga agctcccagg ccagcactga
840  gcgctgagga gagcccgcgg ccgccacttc tgagagtgga ggtgccggtc gaccaccggt
900  gcagaatcaa taataagatc gcgatacgat acaataaaat tccaccatac aacgtgagcc
960  tagttcacct agctcacttg ctgttggagg agccactgta tctaggctca agtttacgtg
1020 aacaaacagt gttttgagtt tttcgtctgt ttattacatt gtataatctt gtaagtttcc
1080 tgtggttaaa ccctgtatgt acgctttacg gtatggtcct cgcgtacagg ttagttcttt
1124 atcaaataaa taataccgtc ttaagagtaa aaaaaaaaaa aaaa
```

## Annexe .09

### La séquence du gène WRSI5 « *Triticum aestivum* »

Sequence 608 BP; 139 A; 178 C; 159 G; 132 T

```
60  gcacaccact accacagagc attctacat tagaccgacc gcacaggtga agtgagagct
120  ttgcgctaaa gggttcatca gcaagcatga agagcaccaa gctcgcggcg atcctgatcc
180  tccaggccgt cctgggtcatg gggatcctct cacacgtgaa cgccgacttc ttccccaagt
240  gctgcaacaa ctgcaggtcc ttctccgggg tcgacgtctg cgacgacgcc cacccccagt
300  gcccacaagg ctgctcggcc tgccgcgtgg tgacgcccag ccctcacaag acgttccggt
360  gcgccgacat gaagagcacc gtcgatggca cctgcggcgg gccatgcaaa aagcactgat
420  ccgttcaggg cttcagtctc agacgagggg tgccgcctaa aataaagctc agatgagatg
480  agcagtcatg gcgcctatgc ttctctgtgg gtcgtgctat acggccaaca atatgtatac
540  tgctatcgtc gtgtcttgtc aatgtgtttc ctctctcgag aaaggtggtg gtgcttgtac
600  ttgtgttcac ctatcctccg tgaataagca catgtgatga ttgtgtgtgc ctactcaaaa
608  aaaaaaaaa
```

## Annexe.10

### La séquence du gène *g6pdh* « *Triticum aestivum* »

Sequence 1956 BP; 592 A; 413 C; 465 G; 486 T

```
60  gaattcacta gtgattgcca cccccctccc cattcctacc caccagcat ctcggcagta
120 actctcccgc cctcccacgc ggcgcgcccg ctgcgccgcg gcgcgaatct cgatcgccac
180 tgggtgtactg ttgaaggaag aagagaatca tcctatattgt catggcgggga actgactcct
240 cggcgtcatc gagacaaaagc agtttcaact cattagcaaaa ggacctagaa cttcctttgg
300 agcaaggggtg cctcaccatc gttgtacttg gggcttctgg agatcttgcc aagaagaaaa
360 cgttcccggc actctaccac ctttttgagc aggggttctt acaatctggt gaagtgcata
420 tagtggggta tgcgagaaca aatctttctg atgatgggtt gagagggcgc atccgtgtat
480 accttaaagg agcctcagag gaacatgttt cagaattctt gcaattgata aaatatgtca
540 gtggttccta tgacagtgga gaaggttttg aaaaactgaa caaggaaata tcagattatg
600 agatgtcaaaa caactcagga agctcccgta ggctctttta tttggcattg cctccatctg
660 tctacccttc agtgtgcaaa atgatccgaa catattgcat gagtccaact tctcgcgctg
720 gatggactag agtaattggt gagaagccct ttggaagggga cctggactct gcagaagaat
780 taagttccca acttggggag ctattcgagg aagatcaact ctacaggatt gaccactact
840 tgggaaaaga gttggtccaa aacttgcttg tgcttcgttt tgccaaccgt ttgttcttac
900 cactttggaa ccgtgacaat gttgataata tacagattgt attcagggag gacttcggaa
960 ctgatggacg tggaggatat tttgatcaat atggaatcat ccgtgatatc attcagaacc
1020 atttgttgca ggttttctgt ttggttgcaa tggaaaagcc tgtatctctt aagcctgagc
1080 acattagaga tgagaaagtc aaggttctgc aatccgtgaa cccgataaag gacgaagagg
1140 tagtccttgg acaatatcag ggctacaagg atgaccctac agtgccagat gactctaata
1200 cccaacggtt tgcactatatt gtacttaggg tacacaatga aagatgggaa ggtgttcctt
1260 tcattottaa agctggtaaa gcattaaact caagaaaagc agaaattcgt gtgcagttca
1320 aggatgttcc cggtgacatt tttaaatgta agaagcaggg aagaaatgag tttgtcatac
1380 gcctccagcc atcagaagcc atgtacatga aactaactgt gaagaaacct ggattggaaa
1440 tggctactga acagagtgaa cttgatctgt catatgggat gcgttaccaa gatgtcaaaa
1500 ttccagaggc atatgagcgc ctcatatttg atacaatagg aggagaccag caacactttg
```



1560 tgcgccgaga tgagctgaag gctgcctggc agatcttcac tcccttggtg cacgacatcg  
1620 acgccggcaa gctgaaggct gtttcataca agcctggcag ccgaggcccc aaggaagctg  
1680 atgaactgag tgagaagggt gggtagatgc agaccacagg ttacatctgg ataccacca  
1740 cccttgcata gagtgctcc ctcgatcctt gtagggttgt ttagctagga agagtgaaag  
1800 taccacggat aaaaatctta cgaatcttag ctgtactgcg gtttacctgg cgttgtaata  
1860 acggatctgt ttgacggagt atacctcacc acgggtgtgaa ataaaaaatg gagtgtttca  
1920 gtcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
1956 aaaaaaaaaa aagagtcgcg cgatcgatgc cgaatc

## Annexe.11

### La séquence du gène HKT7-A1 « *Triticum monococcum* »

Séquence 1665 BP; 265 A; 547 C; 548 G; 305 T

```
60  atggccggag ctcatcataa ggtcggcgag ctgctgcacc acacgccgcg cagctcgacg
120  gccgcggtcg acaaggcaat gccctcgcgc tccagttcat acgcgcggca ccacgccgtc
180  aaggagcgcg tggcgcggtg gcggcgcgcg ctgcgccggc ggttctggcc gcgcgtcggc
240  tcgctgctcg tccacgtcgc ctacttctct accgtctctt ggctcgggta cctcctactc
300  gcgcagctca ggttccgcgc cggcggcgac gggacgcggc ggccccgcgg catcgacctg
360  ttcttcaccg ccgtctcggc cgcgacggtg tccagcatgt ccaccatcga gatggaggtg
420  ttctccaacg ggcagctcct cgtcctgacc gtcctcatgc tcgctcggcg cgaggtgttt
480  ttatccctcg taggcctcgc gtccaagtgg tccaagctga ggaagcaggc tgcacacaaa
540  tcccggcgcg tggagatcca ccacgtcgcg gagcttgaga tgctgccggc cgccgccgcc
600  gacatcgaca acccaacgtc taccgcggat gatgagacga gcaagtcggt ggagcacgta
660  cctgacacga ggctgcggcg tgacgcggtg cggtcgctgt tcttcgctct cctcgccatc
720  ttcttggtgg tgcacgtcct cggcgcgggg gccatcgcgg cgtacatcct gcacgcgtct
780  ccggcggcga ggcggacgct gcgggacaag gccctgaacg tgtggacctt cgccgtgttc
840  acgacgggtg ccacgttctc gaactgcggg ttcattgccga cgaacgagaa catggcagtg
900  ttccagcggg acaccgggct gcagctgctg ctcgtgccgc aggtgctggt cgggaacacg
960  ctgttcgcgc cgctgctggc cgcgtgcgtg cgcgccgccg ccgcggcgac caggcgcgtg
1020 gagctcaagg agactttgaa gcagggcagg gagctgacgg ggtactccca cctgctcccc
1080 gcgcggcggt gcgggatgct ggcggccacg gtggccgggt tcctcgccgt gcaggtggcg
1140 atgctgtgcg gcatggagtg gagcggggcg ctgcggggga tgagcgcgtg ggagaaggtg
1200 tcgaacgcgg tgttcctggc ggtgaactcc cgccacgccg gcgagtcgac cctcgacatc
1260 tccaccctcg cgccggccat cctcgtgctc ttcgtgctca tgatgtatct gccttcatac
1320 accacgtggt ttccatttgc ggggagctcc ggcacaacgg atcacgccga ggagacacag
1380 ggtatcaggc tgatcaagag cacggccttg tcgcagctct cctacctcac catcttcgtc
1440 atcgccatct gcgtcaccga gagggagaag ctcacggaag accccctcaa cttcaacctg
1500 ctcagcatcg tcgtcgaagt tgtcagcgtt tatggaaatg tgggattctc catgggctac
```

1560 agttgcaaca ggcagatcag cccggaccag ctgtgcaccg acaggtggac cggcttcgtc  
1620 gggaggtgga gcgattccgg caagctcgtc ctcattctcg tgatgctctt cgggaggctc  
1665 aagaagttca gcatgaaagg aggcaaagcc tggaagctta gttag

<b>Nom &amp; prénom:</b> SAHBI Manel	Date de soutenance : 22/06/2014
<b>Titre: Recherche <i>in silico</i> et conception d'amorce des gènes de tolérance au stress abiotique chez le blé</b>	
<b>Nature du diplôme:</b> Master en Biologie et Génomique Végétales	
<p><b>Résumé</b></p> <p>Le stress abiotique affecte le rendement des plantes notamment les céréales (le blé), plusieurs techniques ont été utilisées à travers l'histoire (sélection massale, sélection généalogique, <i>in vitro</i>, <i>in vivo</i>...). Une nouvelle branche de la biologie a été créée à savoir l'approche <i>in silico</i> dont le but étant que les recherches des laboratoires soient traitées et regroupées dans des banques de données qui pour la plupart sont accessibles à tous les biologistes.</p> <p>Le présent mémoire vise à rechercher des gènes de résistance aux stress abiotiques par la recherche <i>in silico</i> et conception d'amorce. Dans cette recherche plusieurs gènes ont été repérés avec la désignation de trente-neuf amorces, relatives à ces gènes. ces données serviront comme base de données pouvant être utilisé dans des laboratoires de recherche.</p>	
<b>Mots clé :</b> blé, stress abiotique, recherche <i>in silico</i> , conception d'amorce.	
<b>Laboratoire de recherche :</b> Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologie Végétales.	
<p><b>Membres de jury :</b> <b>Président (e):</b> Pr. YKHLEF Nadia  <b>Encadreur :</b> Dr. BOUSBA Ratiba  <b>Examineur:</b> Mr.TEMAGOULT Mahmoud</p>	