



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biologie et Ecologie végétale

قسم : بيولوجيا وإيكولوجيا النبات.

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques.

Spécialité : Biologie et Génomique Végétales.

Intitulé :

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

Présenté et soutenu par : *REDOUANE SALAH Allaoua*

Le : 15/06/2017

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme. YKHLEF Nadia , Professeur à UFM Constantine 1 .

Rapporteur : Mme. BOUSBA Ratiba , MCA à UFM Constantine 1 .

Examineurs : Mlle. MOUELLEF Adra , MAA à UFM Constantine 1 .

Année universitaire
2016 - 2017

Résumé

Le blé est une céréale importante en termes de consommation humaine dans de nombreux pays du monde, les stress abiotique est l'un des facteurs limitant la productivité végétale et le rendement agricole, Plusieurs techniques ont été utilisées tout au long de l'histoire (la sélection de masse, la sélection généalogique, in vitro, in vivo ...) pour L'amélioration de la tolérance. Une nouvelle branche de la biologie a été établi à savoir l'approche in silico, l'objectif est que les recherches des laboratoires sont traitées et regroupées dans des bases de données dont la plupart sont accessibles à tous les biologistes.

Ce travail vise à trouver des gènes de résistance aux stress abiotiques par la recherche in silico et la conception d'amrces à partir de ces gènes. Dans cette recherche plusieurs gènes ont été identifiés avec la désignation de trente amorces relatives de ces gènes. Ces données seront utiles et utilisées comme base de données dans les laboratoires de recherche.

Mots clés : Blé, stress abiotique, in silico, gènes de résistance.

Abstract

The wheat is an important cereal in terms of human consumption in many countries of the world, the abiotic stress is one of the factors limiting plant productivity and the agricultural yield, several techniques have been used throughout the history (mass selection, the selection genealogical, in vitro, in vivo, ...) for the improvement of the tolerance. A new branch of biology has been established to know the approach in silico, the objective is that the research of the Laboratories are processed and grouped in databases, most of which are accessible to all biologists.

This work aims to find genes for resistance to abiotic stress by the search in silico and the design of amrces from these genes. In this research several genes have been identified with the designation of thirty primers relating of these genes. These data will be useful and used as the basis of data in the research laboratories.

Key words: wheat, abiotic stress, in silico, resistance genes.

الملخص

يعتبر القمح أهم الحبوب من حيث الاستهلاك البشري في كثير من بلدان العالم, الإجهاد اللاحيوي هو احد العوامل التي تحد من إنتاجية النبات و المحصول, العديد من التقنيات التي استخدمت عبر التاريخ (اختيار الكتلة, تقنية جينالوجيك, الزراعة في المختبر) لتحسين مقاومة الإجهاد. وقد أنشئ فرع جديد من علم الأحياء و هو البحث في السلكون بهدف معالجة المعلومات ونتائج البحوث ووضعها في قواعد البيانات وجعلها في متناول جميع علماء علم الأحياء.

هذا العمل يهدف إلى إيجاد جينات مقاومة الإجهاد اللاحيوي من خلال البحث في السلكون و تصميم البادئات انطلاقا من هذه الجينات. وفي هذا البحث بعض الجينات التي تم تحديدها من خلال تعيين ثلاثين بادئة متعلقة بهذه الجينات. وستستعمل هذه المعلومات كقاعدة بيانات في مختبرات البحوث.

الكلمات الرئيسية: القمح, الإجهاد اللاحيوي, البحث في السلكون, جينات الإجهاد.

Remerciement

*Je remercie avant tout **ALLAH** tout puissant, de m'avoir guidé toutes les années d'étude et m'avoir donné la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.*

Mon respect et ma gratitude envers :

*Mon encadreur : Docteur **BOUSBA Ratiba**, Maître de conférence A à l'Université des Frères Mentouri Constantine, Pour sa clairvoyance, soutien, Assistance, sens de la responsabilité et niveau aiguisé d'encadrement scientifique qui ont été d'un apport considérable dans mon approche du sujet et son traitement.*

*Madame la présidente du jury : **YKHELLEF Nadia**, Professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine, pour avoir bien voulu présider le jury.*

*Mademoiselle : **MOUELLEF Adra**, Maître Assistante A à l'Université des Frères Mentouri Constantine, pour avoir examiné et juger ce travail.*

Dédicace

Je dédie ce travail

À mes chers parents, à mon frère et mes sœurs. À toute ma famille.

À tous mes Amis et À tous mes camarades de promotion 2016-2017.

ALLAOUA

Sommaire

Sommaire

<i>Introduction</i>	1
CHAPITER I : Le blé	
1-Origine et histoire de blé	3
2-Description et classification botanique de Blé	3
3- Importance de blé	4
4- production céréalière	4
4-1-Production mondiale de blé	4
4-2-Le blé en Algérie	5
5-Les contraintes de la culture céréalière	8
5-1-LE STRESS HYDRIQUE	9
5-2-LE STRESS THERMIQUE	10
5-3-LESTRESS SALIN	10
6-Approche génomique et tolérance au stress abiotique	10
6-1-Quelque Définition	10
6-1-1 Qu'est-ce qu'un génome	10
6-1-2 Qu'est-ce qu'un gène	10
7-Le génome du blé	11
8-Taille de génome de blé	11
9-Les chromosomes du blé	12
10- Le séquençage de chromosome 3B de blé tender	12
CHAPITER II : LABIOINFORMATIQUE	
1-Introduction a la bioinformatique	15
2-La Bioinformatique	15
3-Quelques repères historiques	15
4-Banques de données	16
4-1 Qu'est-ce qu'une banque de données	16
5-BASES DE DONNÉES	16
6-Les Bases généralistes	16
6-1Banques de séquences d'acides nucléiques	17
6-1-1-En Europe : EBI	17
6-1-2Aux États-Unis d'Amérique : NCBI	17
6-2-Banques de séquences protéiques	17

6-2-1SWISS-PROT	17
6-2-2TREMBL	18
7-Les Bases spécialisées	18
7-1-Quelques banques génomiques spécialisées	18
8-Domains d'applications	19
9-Outils de la bioinformatique	20

CHAPITRE 3 : METHODOLOGIE DE TRVAIL

Méthodologie de travail	23
Discussion	29
Résultats de conception d'amorces	30
CONCLUSION	35

Références bibliographiques

ANNEXES

Liste des abréviations

<i>Abréviation</i>	<i>Désignation</i>
CBF	CRT binding factor
CDS	Coding sequence
CE	Conductivité électrique
COR	Cold- regulated
DDBJ	DAN Data base of Japan
DE	Description Once or more
DR	Database cross-references Optional
DREB	DRE binding protein
EBI	European Bioinformatics Institute
EMBL	European molecular biology laboratory
FAO	Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
GN	les différents noms du gène qui code pour la protéine
Gpb	Giga paires de bases
HSP	Heat Shock proteins
INSDC	International Nucléotide Séquence Database collaboraton
NCBI	National center for biotechnology information
ORF	Open Reading Frame
Qtx	quintaux
SAU	Superficie agricole utile
SBI	Swiss institute of bioinfirematics
TM	Température de fusion
UV	ultraviolet

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : production de blé en Algérie (1961-2014).	7
Figure 2 : schéma présenté les types de stress abiotique	9
Figure 3 : La longueur du génome de blé par rapport à autres organismes vivants	11
Figure 4 : Cartographie physique du génome du blé panifié	13
Figure 5 : Réseau des principales banques	19
Figure(6) : structure de format FASTA	30

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : marche mondial du blé	5
Tableau 2 : production de blé en Algérie 2011-2014	8
Tableau 3 : les outils de la bioinformatique	20
Tableau 4 : gènes induit par le stress abiotique chez le blé	23
Tableau 5 : Liste de famille des gènes Ta HSP20 identifiés chez le blé tendre	26
Tableau 6 : résultats de la conception d'amorce par le programme primer 3	31

Introduction

Introduction

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. Elles sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale. Parmi ces céréales, le blé occupe la première place pour la production mondiale et la deuxième après le riz, comme source de nourriture pour les populations humaines (**Nadjem .K, 2012**).

Avec plus de 215 millions d'hectares cultivés chaque année, soit la plus importante superficie de culture céréalière, le blé est une des principales céréales cultivées dans le monde. Environ 700 millions de tonnes sont produites chaque année, plaçant le blé en troisième position derrière le maïs et le riz. Première espèce végétale domestiquée et cultivée par l'homme et espèce d'intérêt majeur en agriculture, le blé sert de nourriture de base à près d'un tiers de la population mondiale et contribue fortement à l'apport en protéines et glucides de son alimentation (**Anonyme. A, 2015**).

La sécheresse, le froid et la salinité des sols représentent un obstacle pour les espèces cultivées. Ces stress abiotiques entraînent une diminution de 70% du rendement des plantes de grandes cultures via des altérations morphologiques et physiologiques. De ce fait, la compréhension des mécanismes de tolérance à ces stress constitue un enjeu économique majeur.

Les stress abiotiques présentent des éléments communs à la fois pour les dommages occasionnés et pour la réponse de la plante. Cependant, au-delà des mécanismes communs, la réponse à ces stress présente des spécificités (**Navarro. M, 2009**).

Plusieurs techniques ont été utilisées à travers l'histoire afin d'améliorer le blé (sélection massale, sélection généalogique, back cross, 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.

Le développement d'outils informatiques fiables couplé à la croissance de la puissance informatique a permis la mise en place de techniques de simulation numérique centrées sur la biologie. Par analogie avec les expressions in vivo et in vitro.

Le terme « in silico » a été introduit pour qualifier les méthodes numériques mises en œuvre pour traiter de tels systèmes. De par son nom, ce terme fait référence au silicium, matériau principal retrouvé dans les puces informatiques de tous les ordinateurs. Le champ in silico regroupe un très large ensemble de méthodes numériques fondées sur les lois de la physique et de la chimie qui, utilisant les approches des mathématiques, permettent de

Introduction

simuler ou de modéliser un phénomène biologique à l'aide de l'outil informatique **(Anonyme, 2011)**.

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.

Chapitre 1 :

le blé

Chapitre 1 : le blé

1- Origine et histoire de Blé :

Les plus vieilles traces de cultures de blé ont été découvertes au Moyen-Orient, env. 7 000 ans avant l'ère chrétienne. Avec sa propagation plus tard en Europe, Afrique du Nord et Asie, le blé a acquis une grande importance dans la plupart des cultures. L'en grain est la forme la plus ancienne de blé cultivé. Déjà à l'époque préhistorique, à partir de l'en grain et d'une autre herbe sauvage s'est développé l'amidonnier. De ce dernier en revanche naquit plus tard, par la reproduction, le blé dur et le hamut. C'est par l'assimilation du gène de l'amidonnier qu'est né le blé de semence moderne (**Anonyme .B, 2015**).

2-Description et classification botanique 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 indéhiscence, appelé caryopse, constitué d'une graine et de téguments. Le genre *Triticum* appartient à la tribu des *Triticées* au sein de la famille des *Poacées* et plus largement au groupe des angiospermes monocotylédones (**Belagrouz .A,2013**).

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 qui se différencient par leur degré de ploïdie, à savoir, le blé diploïde avec le génome AA, le blé tétraploïde avec les génomes AA et BB et le blé hexaploïde avec les génomes AA, BB et DD. La différenciation réside aussi dans leur nombre de chromosome qui est de 14, 28 ou 42 respectivement (**Bertrand,1996**).

La plante mesure entre 60 cm et 1.2 m de haut. Elle développe des épis avec des groupes de fleurs, comptant chacun entre trois et cinq fleurs. Après fécondation, la fleur reste fermée lorsqu'elle est mature, donnant comme fruit, le grain de blé. Ce dernier est ovale, plus ou moins bombé et doté d'une petite barbe sur l'extrémité supérieure et inférieure. Selon la variété, le grain de blé varie de taille, de forme et de couleur. Il peut être blanc, rouge, jaune ou pourpre.

Le grain de blé n'est pas homogène. Il comprend plusieurs couches de tissus différents. Il se compose de trois principaux éléments : le germe, l'amande et l'enveloppe.

Le germe est la partie essentielle du fruit, car il permet la reproduction de la plante. Le germe est généralement éliminé lors du nettoyage des grains à la meunerie, car il contient beaucoup de matières grasses susceptibles de rancir. Comme il est riche en sels

Chapitre 1 : le blé

minéraux, vitamines, protéines et huiles, il est vendu dans les boutiques diététiques.
<https://www.alimentarium.org/fr/savoir/bl%C3%A9>

3- Importance de blé :

Le blé est cultivé principalement dans les pays du bassin méditerranéen à climat arides et semi-arides là où l'agriculture est dans la plus mauvaise passe. Ces régions se caractérisent par l'augmentation de la température couplée à la baisse des précipitations, en plus la désertification et la sécheresse. (**Nadjem. K, 2012**).

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale. (**Djermoun.A,2009**), le blé dur (*Triticum durum*), est la première céréale cultivée dans le pays. Elle occupe annuellement plus d'un million d'hectares. La production nationale en blé dur est encore faible, elle ne couvre que 20 à 25 % des besoins du pays, le reste étant importé.

La cause principale de la faiblesse de la production du blé dur en Algérie est le faible niveau de productivité (rendement) obtenu, soit 9 à 11 quintaux/hectare. Cette faible productivité est elle-même due à des contraintes abiotiques (pluviométrie surtout), biotiques (adventices, surtout) et humaines (itinéraires techniques appliqués etc...) (**Chellali, 2007**).

4- production céréalière :

La production des céréales, jachère comprise, occupe environ 80% de la superficie agricole utile (SAU) du pays, La superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3,5 million d'ha. Les superficies annuellement récoltées représentent 63% des emblavures. Elle apparait donc comme une spéculation dominante.

-Spéculation pratiquée par la majorité des exploitations (60% de l'effectif global, associé à la jachère dans la majorité des exploitations.

-Spéculation présente dans tous les étages bioclimatiques, y compris dans les zones sahariennes.

-En matière d'emploi, plus de 500 000 emplois permanents et saisonniers sont procurés par le système céréalier (**Djermoun.A,2009**).

4-1-Production mondiale de blé

Selon les dernières prévisions de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la production mondiale de blé de 2017 s'établira à

Chapitre 1 : le blé

744,5 millions de tonnes. Ce volume représente un recul de 1,8 % par rapport à l'année précédente mais reste supérieur à la moyenne des cinq dernières années.

Tableau 1 : marche mondial du blé (F.A.O,2017)

Marché mondial du blé						
	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16 estimation	2016/17 prévision	
					précédente (02 fév 2017)	dernière (02 mar 2017)
	(. millions de tonnes)					
Production¹	654.9	711.5	730.5	735.2	758.1	758.0
Disponibilités²	851.7	883.7	913.2	943.0	984.5	982.7
Utilisation	684.4	693.8	706.6	714.1	736.5	738.9
Commerce³	143.5	157.8	156.8	166.8	171.0	172.0
Stocks de clôture⁴	172.2	182.7	207.7	224.7	245.0	239.6
	(. pour cent)					
Rapport stocks mondiaux- utilisation	24.8	25.9	29.1	30.4	33.2	32.4
Rapport stocks des princi- paux exportateurs- utiliza- tion totale⁵	14.3	14.6	16.8	16.9	18.6	19.2

4-2-Le blé en Algérie :

En cinq décennies d'indépendance, l'Algérie a creusé un écart géant entre les besoins et la production de blé. Selon une analyse de FAOSTAT, service statistique de la FAO (organisation mondiale de l'alimentation et l'agriculture, les besoins de l'Algérie en blé ont observé une progression spectaculaire alors que la production locale a enregistré une quasi-stagnation depuis 1961 jusqu'à 2015.

Pour ce qui est de la production, il ressort de l'étude de l'Organisation onusienne que, si l'Algérie produisait près de 8 millions de quintaux de blé en 1961, soit une année avant l'indépendance, elle en a produit moins de 20 millions de quintaux en 2015, soit une croissance qui n'est que de 2,5 fois plus, malgré toutes les évolutions technologiques, les efforts matériels et financiers consentis par l'Etat pour le développement de ce secteur stratégique.

Chapitre 1 : le blé

A cet égard, il faut tout de même préciser que le blé ne représente qu'à peine 50% de la production globale de céréales, parfois moins, le reste étant constitué de céréales destinées à l'alimentation animale, principalement l'orge et l'avoine. La saison dernière, à titre indicatif, le blé tendre n'a représenté que 1% de la production globale des céréales, soit 400 000 quintaux sur un total de 40 millions qtx, selon le directeur général de l'OAIC (office algérien interprofession des céréales).

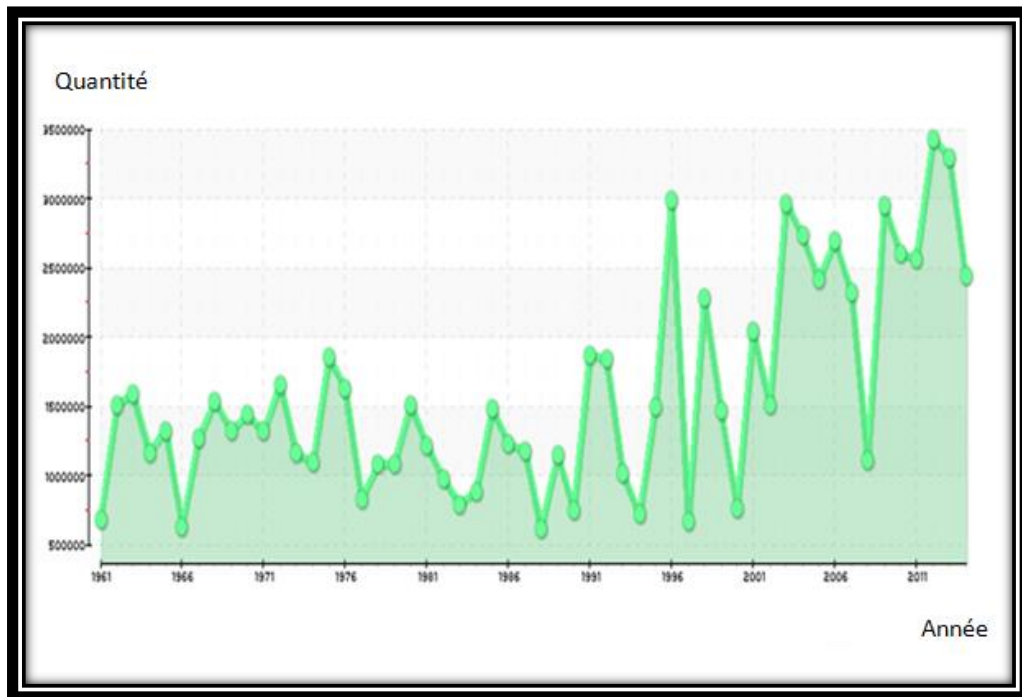
Pour retrouver le record enregistré par la production algérienne de blé, il faudra remonter jusqu'à la saison 1995/1996 et 2003/2004, où elle atteignait 30 millions de quintaux.

En revanche, durant ces 55 ans d'indépendance du pays, la consommation de blé a enregistré une croissance constante, passant de 12 millions qtx en 1961 à 34 millions qtx en 1980, puis à 48 millions qtx en 1990 et 60 millions qtx au début des années 2000 pour atteindre le cap des 80 millions qtx depuis 2013/2014.

Face à la faiblesse de la production locale, les besoins exprimés en blé sont couverts en grande majorité par le recours massif aux importations qui oscillent entre 70 et 74 millions de quintaux/an depuis 2013.

Pour les experts de la FAO, l'explosion de la croissance démographique est le principal facteur qui motive la hausse spectaculaire des besoins exprimés en blé, alors que les aléas climatiques et l'inadaptation de l'agriculture locale sont les principales contraintes qui plombent la production (**Fig 1**).

Chapitre 1 : le blé



Figure(1) : production de Blé en Algérie (1961-2014) FAO 2016

Le classement du pays (Algérie) au niveau mondial est : donnée la plus élevée 123, la plus faible 35 .

Algérie : 54 enregistrements depuis 1961, la moyenne de ces enregistrements :

1 593 943 Tonnes

Donnée la plus élevée : 2012 est l'année la plus élevée pour l'indicateur : Blé - Production (Tonnes).





Le résultat est de : 3 432 231 Tonnes.

Données la plus faible : 1988 est l'année la plus faible pour l'indicateur : Blé - Production (Tonnes).

Le résultat est de : 614 420 Tonnes (**Tab.2**) . (**actualitix, 2016**)

Chapitre 1 : le blé

Tableaux 2 : production de blé en Algérie (2011-2014) (actualitix,2016)

Données	Date	Evolution
2 436 197 Tonnes	2014	≈ -862 852 
3 299 049 Tonnes	2013	≈ -133 182 
3 432 231 Tonnes	2012	≈ 877 305 
2 554 926 Tonnes	2011	≈ -50 252 

5-Les contraintes de la culture céréalière :

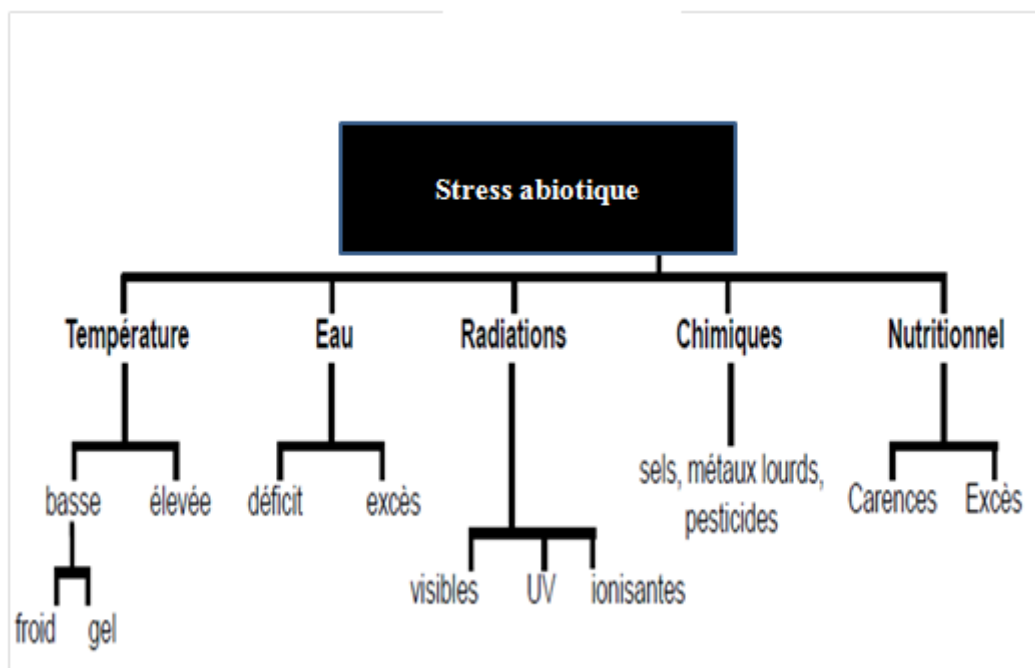
Définition d'un stress abiotique par Levitt (1972) :

Facteur environnemental susceptible de déclencher chez les plantes des modifications chimiques ou physiques dommageables. Ces modifications représentent la **contrainte** qui peut être plastique ou élastique.

Autre définition susceptible de prêter à confusion : La contrainte est la condition environnementale défavorable à la croissance.

-Est un facteur environnemental susceptible de déclencher des modifications chimiques ou physiques dommageables. Ces modifications représentent une contrainte (qui peut être plastique ou élastique). Par commodité, on considère parfois de nos jours que le facteur environnemental est la contrainte (**Groupe The Trust, 2010**).

Il existe plusieurs types de stress abiotiques (**Fig 2**) : Température (trop chaud ou au contraire trop froid pouvant causer le gel), Eau (déficit, excès), Radiations (que ce soit dans le visible, l'UV ou les radiations ionisantes), Chimiques (sels, métaux lourds, pesticides), Nutritionnel (carence ou excès) (**Groupe The Trust,2010**).



Figure(2) : Schéma qui présenté les types de stress abiotiques (INRA de Sophia Antipolis,2015)

La sécheresse, le froid et la salinité sont les stress les plus fréquents et les plus étudiés. Ils peuvent imposer aux plantes des modifications métaboliques, Physiologiques et phréologiques (Anonyme ,2014).

5-1-LE STRESS HYDRIQUE :

Le déficit hydrique est une contrainte permanente de la production agricole dans de nombreux pays au climat de type méditerranéen. Elle est à l'origine des pertes de production agricole dans de nombreuses régions. 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).

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. 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).

5-2-LE STRESS THERMIQUE :

La température est un facteur important pour la durée de pré et de la post -anthèse. Le taux de développement des géotypes dans les durées de la pré –et de la post- anthèse sont différents en raison de la variation de la température selon les années et les environnements. Dans les environnements méditerranéens, les hautes températures de fin de cycle sont considérées comme un facteur important de limitation de rendement. Des températures, au-dessus de 30°C, affectent le poids final de grain. L'effet des hautes températures peut modifier, non seulement le poids final de grain, mais aussi le nombre de grains par épi et par unité de surface (**Bousba. R, 2012**).

5-3-LESTRESS SALIN :

La salinité s'exprime en conductivité électrique (CE) en millimhos ou micromhos. Les Américains considèrent qu'un sol est salé lorsque la CE à 25 °C est supérieure à 4 millimhos. Le blé tolère des valeurs de CE de 4.5 millimhos. Le blé tendre semble plus tolérant au sel que le blé dur. La réponse à la salinité se manifeste généralement chez la plupart des plantes cultivées par un effet dépressif sur la croissance et le développement. Cette réponse varie considérablement en fonction du genre, de l'espèce et même de l'écotype ou de la variété. La diminution de la croissance est une réponse à la déshydratation; elle contribue à la conservation de l'eau, ce qui permet la survie de la plante (**Belagrouz. A, 2013**).

6-Approche génomique et tolérance au stress abiotique :

6-1-Quelque Définition :

6-1-1-Qu'est-ce qu'un génome ?

- Définition historique (1920) = ensemble des gènes d'un organisme
- Définition actuelle = ensemble des molécules d'acides nucléiques transmises de génération en génération (**Laurent. D, 2011**).

6-1-2-Qu'est-ce qu'un gène?

Un gène est une portion d'ADN qui contient toute la recette d'assemblage d'une protéine. Ce sont les protéines qui font l'essentiel du travail dans l'organisme et les gènes permettent leur reproduction de génération en génération.

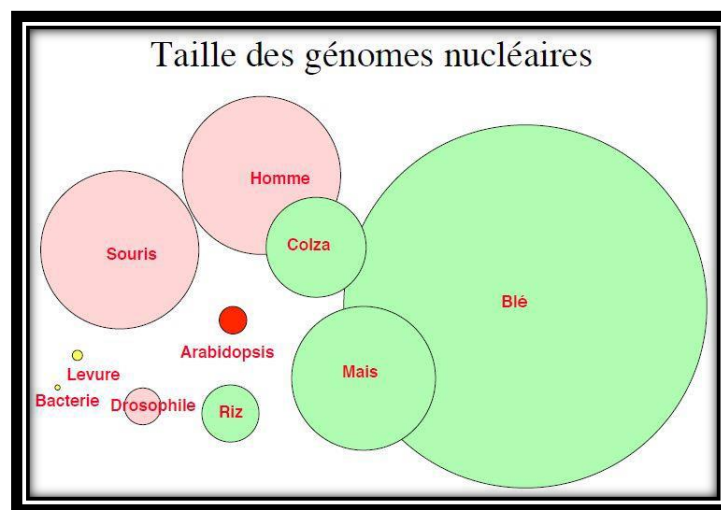
Concrètement, un gène est une longue séquence de A, C, G et T dans l'ADN. Une partie de cette longue séquence contient les « plans de construction » de la protéine en langage

Chapitre 1 : le blé

génétique. (Chaque combinaison de trois lettres génétiques correspond à un acide aminé particulier, c'est à dire à une des «briques» dont sont faites les protéines) (**Anonyme. C,2011**).

7-LE GÉNOME DU BLÉ :

Parmi l'ensemble du monde vivant, le Blé possède un des génomes les plus complexes, d'où des difficultés techniques - actuellement en voie d'être résolues - pour en établir la description complète. (**Hervé Levesque,2014**) (**Fig3**).



Figure(3) : La longueur du blé gène par rapport à d'autres organismes vivants (Hervé Levesque, Jean-François Madre,2013)

8-TAILLE DE GENOME DE BLE :

Avec environ **17 Gpb** (giga paires de bases, soit milliard de pb) le Blé possède l'un des génomes nucléaires les plus complexes du monde vivant. C'est 5 à 6 fois la taille du génome humain donc **10 à 12 m d'ADN dans un même noyau** si l'on met bout à bout toutes les molécules (les 42 molécules puisque le caryotype est $2n=42$)! (**Hervé Levesque,2014**).

En outre la structure de ce génome comportant **une proportion énorme de séquences répétées** a fait qu'il sera - parmi les "grandes" espèces domestiquées et modèles - sans doute le dernier dont la séquence complète aura été établie. Ce **séquençage complet du génome nucléaire du Blé** est en voie de se terminer (**Hervé Levesque,2014**).

9-Les chromosomes du blé :

Toutes les espèces de blés sauvages et domestiques, comme les espèces d'Agilopes (le genre *Aegilops* est souvent considéré synonyme de *Triticum*), forment des séries polyploïdes dont le nombre haploïde de base est de 7. Cela se vérifie aussi pour des genres voisins appartenant au même groupe taxonomique des Triticinées (Orge, Avoine, Bromes, fétuques, etc.).

Les blés sauvages et domestiqués peuvent comporter 14 (diploïdes), ou 28 chromosomes (tétraploïdes). L'en grain est un blé domestiqué diploïde, le blé dur est tétraploïde. Seul le blé tendre est hexaploïde ($2n=42$) et ne possède pas d'équivalent sauvage (au moins dans les espèces classiquement rangées dans le genre *Triticum*) (**Hervé Levesque, Jean-François Madre, 2013**).

10-Le séquençage de chromosome 3B de blé tender :

Les scientifiques et les sélectionneurs coordonnent depuis plus de 10 ans leurs efforts au sein du Consortium International de Séquençage du Génome du Blé (IWGSC ; www.wheatgenome.org) pour produire la première séquence de référence du génome de cette espèce agronomique majeure. Récemment, l'Unité Génétique Diversité et Ecophysiologie des Céréales à Clermont-Ferrand (UMR INRA-Université Blaise-Pascal), en collaboration avec le Génoscope (CEA-Institut de Génomique, Évry) et l'Unité de Recherche Génomique Info (INRA, Versailles), a réalisé une première mondiale, en rendant publique la première séquence de référence du plus grand des chromosomes de blé tendre, le 3B (~800 millions de paires de bases composant la molécule d'ADN). Le décryptage de cette séquence a révélé des secrets sur l'évolution et sur l'organisation de ce génome complexe. Ainsi, l'analyse fine des quelque 7000 gènes et 250 000 éléments génétiques répétés, principaux responsables de l'augmentation considérable de la taille du génome du blé, a mis en évidence une évolution accélérée par rapport aux autres céréales, avec des extrémités chromosomiques concentrant la plupart des gènes liés à l'adaptation du blé à son environnement. Une telle organisation structurale et fonctionnelle n'a jamais été observée sur aucune autre espèce végétale, et démontre donc que la complexité du génome du blé est le fruit d'une histoire évolutive particulière (**Frédéric. Ch ,2014**).

Au-delà de son intérêt fondamental, cette séquence a également permis de détecter plusieurs milliers de marqueurs moléculaires qui permettent aujourd'hui de caractériser finement la diversité des collections de blés. Ils constituent en outre une ressource

Chapitre 1 : le blé

importante pour les sélectionneurs dans le cadre des programmes d'amélioration variétale(Fig4).

Ce travail pionnier a ouvert la voie au séquençage des vingt autres chromosomes. L'accès à la séquence de référence de la totalité du génome permettra non seulement d'approfondir notre compréhension des mécanismes sous-tendant l'expression et l'évolution des génomes complexes, mais également d'identifier plus facilement les gènes contrôlant des caractères d'intérêt agronomique comme le rendement, la résistance aux maladies, la tolérance aux conditions climatiques extrêmes, ou encore la qualité nutritionnelle du grain (Frédéric. Ch ,2014).

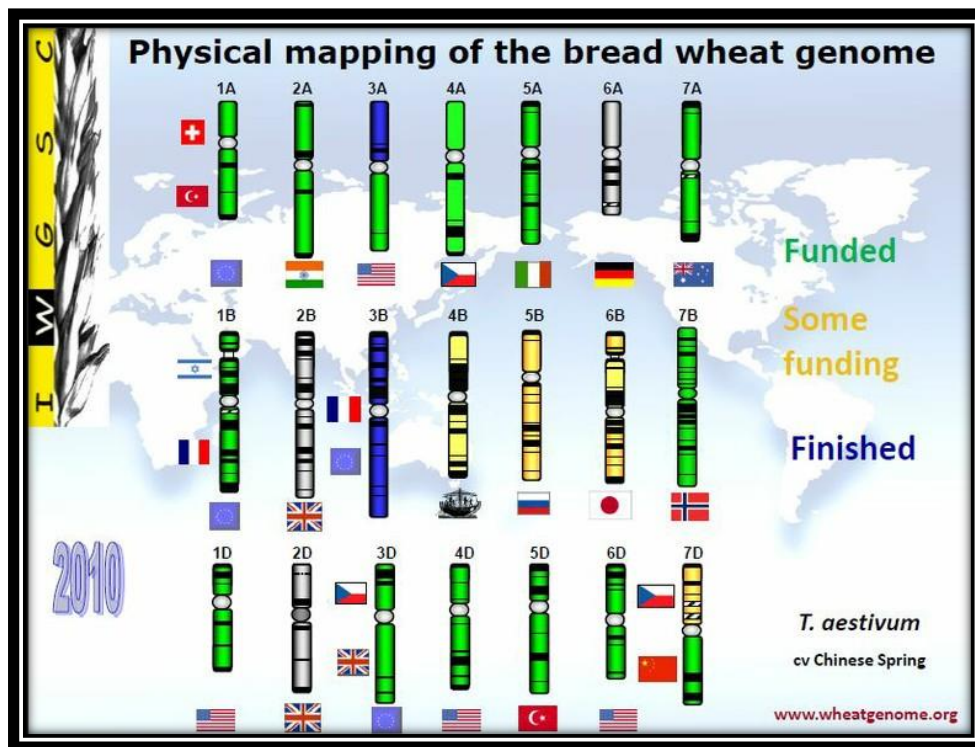


Figure 4 : Cartographie physique du génome du blé panifié

Parmi toutes les approches qui permettent l'étude des génomes après leur séquençage, la **bioinformatique** joue un rôle central. En raison, évidemment, de la quantité d'informations à traiter et à mettre en correspondance, mais également, et peut-être surtout, en raison de la nature extrêmement variée des informations qu'il faut traiter. Ces informations ne peuvent être décodées qu'en plusieurs étapes, faisant chacune intervenir des techniques et des concepts différents. Ainsi le séquençage ne produit qu'une séquence brute sur laquelle il faut, en premier lieu, rechercher les objets génétiques (cadres ouverts

Chapitre 1 : le blé

de lecture, signaux de régulation etc).

<http://www.wabi.snv.jussieu.fr/erocha/French/stateofart.french.html>

Chapitre 2 : la **bioinformatique**

Chapitre 2 : la bioinformatique

1-Introduction a la bioinformatique :

Au cours des cinq dernières années, la bioinformatique moléculaire a connu un essor extraordinaire. Cet essor est bien sûr lié à l'aboutissement de nombreux projets de séquençage, projets ayant conduit à l'arrivée d'énormes quantités de données dont il faut maintenant tirer le plus d'informations possibles. Si, dans un premier temps, les génomes séquencés étaient ceux de procaryotes, nous arrivons maintenant au stade où des génomes d'eucaryotes.

Les quantités de données brutes disponibles sont déjà trop importantes pour pouvoir être analysées manuellement (en particulier pour tout ce qui concerne l'annotation des séquences). L'outil informatique est donc désormais considéré comme un complément indispensable de la biologie moléculaire expérimentale (**Guy Perrière, 2000**).

Ce développement de la bioinformatique a été rendu possible par les énormes Progrès réalisés au niveau des capacités de calcul et de stockage des ordinateurs. Sans ces progrès, il n'eût pas été envisageable de construire des banques capables de manipuler l'intégralité des séquences biologiques publiées ou de développer des logiciels susceptibles d'effectuer des traitements sur de très larges sous-ensembles de ces banques (**Guy Perrière, 2000**).

2-La Bioinformatique?

-Une approche in silico de la biologie qui consiste en une analyse informatisée des données biologiques en utilisant un ensemble de moyens (concepts, méthodes, implémentations, logiciels, etc...) (**Sbabou .L, 2010**).

-Un domaine de recherche qui analyse et interprète des données biologiques, au moyen de méthodes informatiques, afin de créer de nouvelles connaissances en biologie (**Equipe Bonsai ,2014**).

3-Quelques repères historiques : (Anonyme. D, 2013)

Années 80 :

- Début de la micro-informatique.
- Création des premières bases de données (GENBANK).

Années 90 :

- Développement de l'internet et des réseaux.
- Apparition des logiciels de comparaison de séquences (FASTA, BLAST).

Années 2000 :

- Consultation libre en ligne des bases de données.

Chapitre 2 : la bioinformatique

-Mutualisation des données avec les projets de séquençages de génomes.

4-Banques de données :

4-1 Qu'est-ce qu'une banque de données :

- Ensemble de données relatif à un domaine défini des connaissances, généralement organisé et structuré en base de données pour être offert aux utilisateurs (**Vincens. P, 2013**).
- Souvent, les données sont stockées sous la forme d'un fichier texte formaté (respectant une disposition particulière)
- Besoin de développer des logiciels spécifiques pour interroger les données contenues dans ces banques

5-BASES DE DONNÉES :

Une base de données est un ensemble structure et organise permettant le stockage de grandes quantités d'informations afin d'en faciliter leur utilisation (**C. Beroud, 2010**).

Les banques de séquences nucléotidiques, trois grandes banques internationales existent :

Gen Bank au NCBI (National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD, USA), la Nucléotide Séquence Data base (ou EMBL Bank) de l'EMBL (European Molecular Biology Laboratory, Cambridge, UK), et la DDBJ (DNA Data base of Japan , Mishima, Japan), toutes trois inter connectées depuis 1986 grâce aux efforts de l'INSDC (International Nucléotide Séquence Data base Collaboration ; <http://www.insdc.org/>). Ce comite est charge d'unifier les formats de stockage des données de ces trois grandes banques, afin de faciliter par la suite leur annotation ; ainsi, toute séquence soumise a une de ces trois banques sera convertie dans un format commun, et intégrée aux deux autres banques lors d'une mise a jour (**Nicolas .M,2009**).

6-Les Bases généralistes :

Les grandes banques de séquences généralistes telles que Genbank ou l'EMBL sont des projets internationaux et constituent des leaders dans le domaine. Elles sont maintenant devenues indispensables à la communauté scientifique car elles regroupent des données et des résultats essentiels dont certains ne sont plus reproduits dans la littérature scientifique. Leur principale mission est de rendre publiques les séquences qui ont été déterminées, ainsi un des premiers 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

Chapitre 2 : la bioinformatique

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 rubriques.

6-1 Banques de séquences d'acides nucléiques :

(Crées dans les années 1980):

Contiennent toutes les séquences d'acides nucléiques produites dans les laboratoires publics (>100 milliards de bp, >100 millions de séquences) Pour qu'une publication faisant référence à une ou des séquences soit acceptée, il faut que la (les) séquences ait(ent) été déposée(s) au préalable dans une de ces banques et ait(ent) obtenu un numéro d'accession.

6-1-1-En Europe : EBI

- European Bioinformatics Institute <http://www.ebi.ac.uk/>
- Organisation académique à but non lucratif fondée en 92
- Centre de recherche et services en bioinformatique qui gère des banques de données biologiques (ADN-ARN, protéines, structures 3D)
- Met dans le domaine publique et rend accessible gratuitement les informations issues de la recherche en biologie moléculaire et génomique afin de promouvoir le progrès scientifique (**Equipe Bonsai ,2014**).

6-1-2 Aux États-Unis d'Amérique : NCBI

- National Center for Biotechnology Information <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Ressource nationale pour l'information en biologie moléculaire fondée en 1988
- Création de banques publiques et recherche en bioinformatique
- Développe des outils informatiques pour analyser les données de génome et diffuser l'information médicale pour mieux comprendre les processus moléculaires touchant la santé humaine et la maladie (**Equipe Bonsai ,2014**).

6-2- Banques de séquences protéiques :

6-2-1-SWISS-PROT :

La principale banque de protéines à l'heure actuelle est sans conteste SWISS-PROT. Cette banque a été créée en 1986 par Amos Bairoch à Genève, et elle est maintenue et distribuée conjointement par le SBI (*Swiss Institute of Bioinformatics*) et l'EBI. Le format de données adopté par SWISS-PROT suit de très près celui en vigueur à l'EMBL.

Chapitre 2 : la bioinformatique

Quelques champs supplémentaires sont introduits, comme GN ou DR, contenant respectivement le nom du gène codant pour la protéine considérée et des références croisées avec d'autres banques. Par ailleurs, le champ DE est rempli non pas en fonction d'informations fournies par les auteurs des séquences, mais bien par les annotateurs eux-mêmes, ceci permettant de donner une cohérence beaucoup plus grande à son contenu (**Guy PERRIÈRE,2000**).

6-2-2TREMBL :

Traduction des CDS de EMBL par le programme trembl

ORF (Open Reading Frame) : Phase ouverte de lecture; séquence nucléique comprise entre deux codons stop

CDS (coding sequence) : séquence nucléique codant pour une protéine. Elle est contenue dans une phase ouverte de lecture et débute par un codon start.

-Annotations automatiques SP-TREMBL 300 192 entrées

-Après expertise les fiches TREMBL validées sont transférées dans SWISS-PROT

7-Les Bases spécialisées

Elles ont pour but de recenser des familles de séquences autour de caractéristiques biologiques précises comme les signaux de régulation, les promoteurs de gènes, les signatures peptidiques ou les gènes identiques issus d'espèces différentes. Elles peuvent aussi regrouper des classes spécifiques de séquences comme les vecteurs de clonage, les enzymes de restriction, ou toutes les séquences d'un même génome. Pour illustrer ce type de banque, nous parlerons ici de bases spécialisées liées aux motifs qui sont particulièrement utilisées dans l'analyse des séquences.

-Ces banques contiennent des données homogènes

-Collecte établie autour d'une thématique particulier telle que :

Banques de localisation (mapping databases GeneLoc)

Banques de structures 3D de macromolécules (PDB)

Banques génomiques (UCSC, Ensemble)

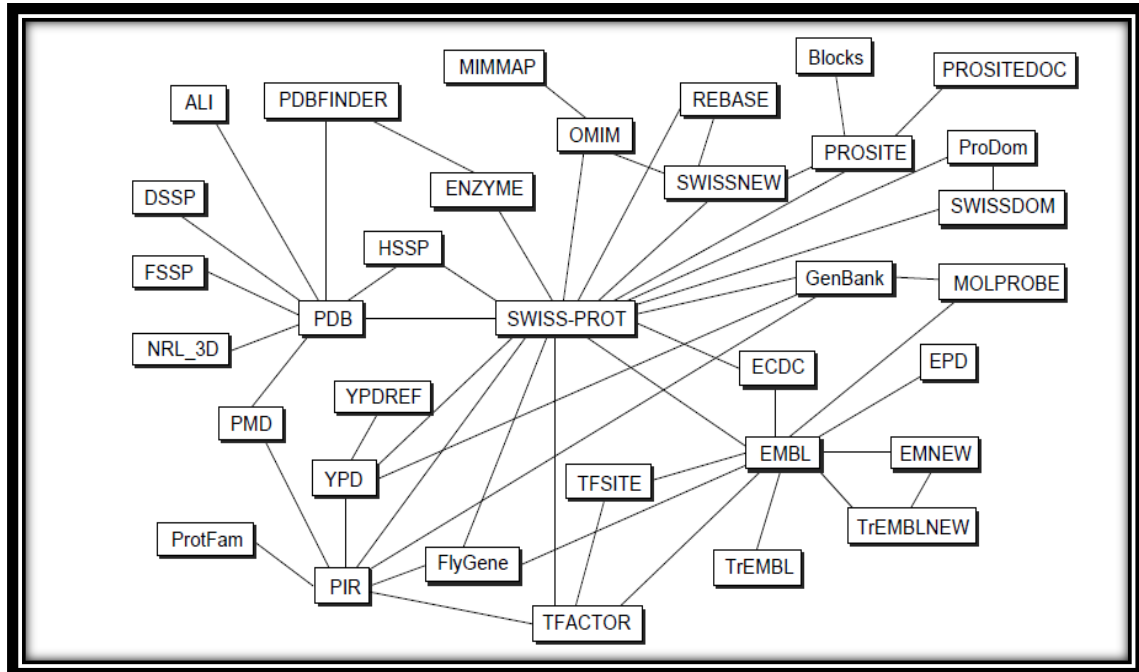
Banque spécialisée pour un génome spécifique, banques de séquences immunologiques, de voies métaboliques, de cartes génétiques, de motifs protéiques, d'expression de gènes, de structures (**Anne-Muriel Chifolleau ,2016**).

7-1-Quelques banques génomiques spécialisées : (Fig3) (Pierre VINCENS , 2013)

- Flybase (drosophiles) : <http://flybase.org/>
- SGD (*Saccharomyces cerevisiae*): <http://www.yeastgenome.org>

Chapitre 2 : la bioinformatique

- WORMbase (nématodes) : <http://www.wormbase.org>
- TAIR (*Arabidopsis thaliana*) : <http://www.arabidopsis.org>
- Zebra fish (poisson zebre) : <http://zfin.org>



Figure(5) : Réseau des principales banques interrogeables sous SRS. Ce réseau est en perpétuelle évolution du fait de l'apparition et de la disparition de nombreuses collections.

8-Domains d'applications :

*En biologie moléculaire

- Recherche dans les banques
- Phylogénie et évolution moléculaire

*En virologie

- Vaccins synthétiques
- Reconnaissance moléculaire

* En immunologie

- Synthèse de peptides antigéniques
- Recherche d'épitopes

*En mutagenèse dirigée

- Modélisation par homologie
- Interactions moléculaires (Deléage .G,2016).

Chapitre 2 : la bioinformatique

9-Outils de la bioinformatique :

Le traitement bioinformatique des séquences biologiques peut être :

-simple : composition de Tm, traduction, carte de restriction, recherche de cadres ouverts de lecture .

-Complexe : alignement, recherche d'amorce et optimisation des amorces, prédiction de structure secondaire et tertiaire, recherche de motifs, construction d'arbres phylogénétique. Cette dernière catégorie nécessite une connaissance des outils utilisés (**coutouly et al,2006**).

Tableau 3 : les outils de la bioinformatique (Coutouly et al, 2006)

Outil	Commentaire	Adresse Internet (cf.cederom)
Séquences Nucléotidiques		
Readseq	Conversion des formats de séquences (Fasta, Embl,...)	http://www.ebi.ac.uk/cgi-bin/readseq.cgi
Freqseq	Détermination de la composition en bases	http://www.infobiogen.fr/services/analyse/cgi-bin/fredseq.in.pl
Carteres	Etablissement de la carte de restriction	http://www.infobiogen.fr/services/analyse/cgi-bin/car
TACG	d'une séquence avec des choix des enzymes	http://biotools.umassmed.edu/tacg
ORF-finder	Recherche des ORF(*Open Reading Frame)	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf
Transeq	Traduction dans les 6 phases de lecture	http://www.cbi.ac.uk/cgi-bin/readseq.cgi

Chapitre 2 : la bioinformatique

Traduc		http://www.infobiogen.fr/services/analyse/cgi-bin/traduc_in.pl
VecScreen	Direction de fragments de vecteurs de clonage	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/VecScreen
GenMark	Prédiction de Gènes eucaryotes et procaryotes	http://opal.biology.gatech.edu/GeneMark
Outils pour ARN	Outils de prédiction de structure des ARN	http://bioweb.pasteur.fr/sequanal
Outils par la PCR		
Obligocalc		http://www.basic.northwestzrn.edu/biotools/oligocalc.html
Tm-pred	Détermination de Tm par différentes méthodes	http://dna.bio.puc.cl/cardex/servers/dnaMATE
Primer3		http://biotools.umassmed.edu
Primerquest		http://biotools.idtdn
FastPCR (téléchargeable)	Recherche d'amorces pour PCR	http://biocenter.helsinki.fi/bi/Programs/fastpcr.htm
Séquences d'acides animés		
ProtParam	Détermination paramètres Physiochimiques (masse moléculaire, pHi..)	http://www.expasy.org/tools/protparam.html
Psipred	Prédiction des hélices alpha, feuillets bêta	http://www.expasy.org/tools/#secondary
SignalP	Recherche de peptide signal	http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP
Tmpred	Prédiction de fragments transmembranaires	http://ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html
Prosite	Banques des motifs	http://www.expasy.ch/prosite
SWISS-	Modélisation 3D	http://swissmodel.expasy.org

Chapitre 2 : la bioinformatique

MODEL		
Alignement de séquences		
Needle	Alignement globale(algorithme de Needleman)	http://www.ebi.ac.uk/emboss/align
FASTA(FAST-All)		http://www2.ebi.ac.uk/fasta3
BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)	Alignement local	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST
Weblogo	Création de séquences logo d'un alignement multiple	http://www.weblogo.cbr.mrc.ca
T-Coffee	Alignement multiple	http://igs-server-cnrs-mrs.fr/Tcoffee/tcoffee_cgi/index.cgi
Multalin		http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/align_multalin.pl
Clustal W	Alignement multiple et analyse phylogénétique	http://ebi.ac.uk/clustalw
Phylip		http://www.infobiogen.fr/services/analyse/cgi-bin/phylo_in.pl

Chapitre 3:

METHODOLOGIE

DE TRAVAIL

Chapitre 3 : méthodologie de travail

Méthodologie de travail :

Afin de rechercher les gènes responsables de la résistance au stress abiotique, nous avons effectué une recherche des gènes dans :

- la base de données (Gen bank). et ncbi

-les résultats la recherche *in silico* des gènes du blé induits par le stress abiotique sont présents dans le tableau suivant :

Tableau.4 : Gènes induit par le stress abiotique chez le blé :

Type de stress	Espèce	gènes	références
Stress hydrique secheresse	blé tendre (<i>Triticum aestivum</i>)	dhn wcor dreb	Nemat M. Hassan et al 2015
	Blé	TaDHN1 TaDHN2 TaDHN3 TaDHN4 TaDHN5 TaDHN6 TaDHN7 TaDHN8 TaDHN9 TaDHN11 TaDHN12 TaDHN13 TaDHN14 TaDHN15 TaDHN16 TaDHN17 TaDHN18 TaDHN19 TaDHN20 TaDHN21 TaDHN22 TaDHN23 TaDHN24 TaDHN25 TaDHN26 TaDHN27 TaDHN28	Yuezhi Wanga et al, 2014

Chapitre 3 : méthodologie de travail

		TaDHN29 TaDHN30 TaDHN31 TaDHN32	
Stress salin	Blé	TaNAC29 ORF TaNAC29 RT RD29A RD29B KIN1 TaTublin AtActin2	Zhongyang Xu et al 2015
	<i>T. turgidum</i>	TtNAC-A7 TtNAC- A51 TtNAC-B47 TtNAC-B69 TtNAC- B27 TtNAC-A59	Mohammed Najib Saidi et al, 2017
Secheresse Et froid	<i>Triticum durum</i>	Cbf2 Cbf3 Cbf4 Cbf5 Cbf9 Cbf10 Cbf12-1 Cbf12-2 Cbf12-3 Cbf13 Cbf14 Cbf15 Cbf16 Cbf17 Cbf18-1 Cbf18-2 5E4 6H8 1C1 10D10 9B7 3H9 7H8 2H8 6G2 7C3 WCOR410	Anna Maria De Leonardis et al,2007

Chapitre 3 : méthodologie de travail

Selon Muthusamy S.K et al, 2017, Deux méthodes ont été suivies pour identifier la famille des gènes TaHSP20 chez le blé. Dans la première approche, les séquences protéiques des membres de la famille des HSP20 d'Arabidopsis et du riz ont été téléchargées des bases de données TAIR (<https://www.arabidopsis.org/>) et the MSU Rice Genome Annotation Project (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>), respectivement. Ces séquences protéiques de TaHSP20 d'Arabidopsis et du riz ont été utilisées comme requête et une recherche avancée a été faite sur la base de données du blé (wheat genomedatabase) et sur la base de données wheat full length cDNA database TriFLDB pour identifier les homologues respectifs du blé. Dans la deuxième approche, un profil du modèle Markov caché (HMM Hidden Markov Model) a été construit à l'intérieur en utilisant la famille de protéines OsHSP20 du riz (PF00011) et a été utilisé comme une requête pour rechercher le protéome du blé. Le nouveau assemblage TGCAv1 représente plus de 78% du génome du blé de pain avec un scaffold N50 de 88Kpb. The Clustal Omega tool (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) a été utilisé pour l'alignement des séquences multiples et le déplacement des clones du ADNc dupliqués. Pfam (<http://pfam.xfam.org/>) and the SimpleModular Architecture Research Tool (SMART) tool ont été utilisés pour prévoir les domaines conservés dans les séquences protéiques identifiées. Les gènes homologues du blé identifiés ont été confirmés par une recherche tblastn dans la rice genome database TIGR et dans l'Arabidopsis genome database (<https://www.arabidopsis.org/>). Le point isoélectrique et le poids moléculaire de TaHSP20 ont été comptés par ExPASy tool (http://web.expasy.org/compute_pi/). La localisation subcellulaire des sHSPs a été prévue par le serveur TargetP 1.1 et le serveur MultiLoc2. Les informations sur la localisation chromosomique des gènes TaHSP20 du blé ont été obtenues de la base de données wheat genome database (<http://plants.ensembl.org/Triticumaestivum/Info/Index>).

Les noms des gènes et groupe et la Localisation chromosomique de ces gènes sont présents dans le tableau suivant (**Tab. 5**):

Chapitre 3 : méthodologie de travail

**Tableau. 5 :Liste de famille des gènes Ta HSP20 identifiés chez le blé tendre
(Muthusamy S.K et al,2017):**

Nom de gène	Groupe	Localisation chromosomique
TaHSP14.5-CI	CI sHSP	3DS
TaHSP15.0-CI		4DL
TaHSP15.1-CI		4DL
TaHSP16.6-CI		3B
TaHSP16.9A-CI		U
TaHSP16.9B-CI		3DS
TaHSP16.9C-CI		3DS
TaHSP16.9D-CI		3DS
TaHSP16.9E-CI		U
TaHSP16.9F-CI		U
TaHSP16.9G-CI		U
TaHSP16.9H-CI		U
TaHSP17.0-CI		3B
TaHSP17.3A-CI		4AS
TaHSP17.3B-CI		4DL
TaHSP17.3C-CI		4AS
TaHSP17.3D-CI		4BL
TaHSP17.3E-CI		5BL
TaHSP17.4-CI		U
TaHSP17.5A-CI		4AS
TaHSP17.5B-CI		4DL
TaHSP17.5C-CI		4AS
TaHSP17.5D-CI		U
TaHSP17.5E-CI		U
TaHSP17.5F-CI		U
TaHSP17.6A-CI		3B
TaHSP17.6B-CI		U
TaHSP17.6C-CI		U
TaHSP17.7A-CI		3AS
TaHSP17.7B-CI		4DL
TaHSP17.9-CI		7BS
TaHSP18.0-CI		7BS
TaHSP22.7-CI		3AS
TaHSP23.7-CI		7AS
TaHSP25.1-CI		4AL
TaHSP25.5-CI		3DS
TaHSP25.7-CI		3B
TaHSP26.7-CI		3DS
TaHSP47.7-CI		3AS
TaHSP17.3A-CII		CII sHSP
TaHSP17.3B-CII	3DS	
TaHSP17.3C-CII	3B	

Chapitre 3 : méthodologie de travail

TaHSP17.4-CII		3DS
TaHSP17.5-CII		3B
TaHSP17.6A-CII		4DS
TaHSP17.6B-CII		3DS
TaHSP17.6C-CII		3B
TaHSP17.7A-CII		3DS
TaHSP17.7B-CII		3B
TaHSP17.7C-CII		3DS
TaHSP17.7D-CII		3B
TaHSP17.8A-CII		3DS
TaHSP17.8B-CII		3AS
TaHSP17.9-CII		3AS
TaHSP18.0-CII		3B
TaHSP18.3-CII		6DS
TaHSP20.0-CII		3B
TaHSP22.7-CII		3B
TaHSP25.1-CII		3AS
TaHSP27.5-CII		7BL
TaHSP38.1-CII		3B
TaHSP18.9-CIII	CIII sHSP	6AL
TaHSP19.0-CIII		U
TaHSP19.1-CIII		6DL
TaHSP21.7-ER	ER sHSP	2AL
TaHSP21.8-ER		2DL
TaHSP21.9-ER		4DS
TaHSP22.0-ER		4BS
TaHSP23.9-ER		U
TaHSP25.4-ER		2BL
TaHSP27.7-ER		4AL
TaHSP13.8-MTI	MT sHSP	7DS
TaHSP14.7-MTI		7BS
TaHSP14.9-MTI		7BS
TaHSP19.5-MTI		2BL
TaHSP22.9-MTI		U
TaHSP23.0A-MTI		U
TaHSP23.0B-MTI		7DS
TaHSP23.0C-MTI		7DS
TaHSP23.2A-MTI		U
TaHSP23.2B-MTI		7AS
TaHSP23.4A-MTI		7DS
TaHSP23.4B-MTI		7DS
TaHSP23.5A-MTI		6AL
TaHSP23.5B-MTI		6BL
TaHSP23.5C-MTI		6DL
TaHSP23.5D-MTI		7BS
TaHSP23.7-MTI		U
TaHSP25.4A-MTI	7DS	

Chapitre 3 : méthodologie de travail

TaHSP25.4B-MTI TaHSP23.8-MTII TaHSP28.7-MTII		7BS 6AS 6BS
TaHSP23.9-P TaHSP26.2-P TaHSP26.5A-P TaHSP26.5B-P TaHSP26.6-P TaHSP26.9A-P TaHSP26.9B-P TaHSP27.6-P TaHSP45.1-P	P sHSP	5DL 4AS 4AS 4DL 4AS 4BL U 5AL 5BL
TaHSP21.3-P-like TaHSP21.6A-P-like TaHSP21.6B-P-like TaHSP23.9-P-like TaHSP24.0-P-like TaHSP24.7-P-like	P-Like sHSP	5AL 5DL 5BL 5DL 5BL 5AL
TaHSP15.0-PX TaHSP15.1-PX	PX sHSP	7BS 7AS
TaACD51.2- TF TaACD51.5A- TF TaACD51.5B- TF TaACD59.7-TF	TF	6AL 6BL 6DL U
TaACD17.2-CI TaACD18.1-CI	UAP I	2DS 2BS
TaACD20.0A-CII TaACD20.0B-CII TaACD20.1-CII	UAP II	6BS U U
TaACD20.5-CIV TaACD20.6A-CIV TaACD20.6B-CIV TaACD20.6C-CIV	UAP IV	1BL 1DL 1AL U
TaACD26.3-CV TaACD27.4-CV TaACD31.2-CV TaACD31.5-CV TaACD34.1-CV TaACD34.5-CV TaACD34.6-CV TaACD35.7-CV	UAP V	3DL 3AL 1AL 1DL 7AL 1AL 7AL 7DL

Chapitre 3 : méthodologie de travail

TaACD35.8-CV		U
TaACD35.9-CV		7DL
TaACD41.4-CV		1AL
TaACD41.9-CV		1DL
TaACD42.1-CV		1BL
TaACD45.5-CV		7BL
TaACD19.4-CVII	UAP VII	7AL
TaACD21.8-CVII		1BL
TaACD22.3B-CVII		7DL
TaACD22.4-CVII		1DL
TaACD22.6-CVII		1DL
TaACD22.9-CVII		1AL
TaACD23.3A-CVII		1BL
TaACD23.8-CVII		4BL
TaACD23.9-CVII		4BL
TaACD24.0-CVII		4BL
TaACD24.2-CVII		4DL
TaACD24.4-CVII		4DL
TaACD24.8-CVII		4AS
TaACD27.8-CVII		4AL
TaACD35.7-CVII		4DS
TaACD39.6-CVII		4AL
TaACD43.4-CVII		4BS
TaACD52.4-CVII		5DS
TaACD56.3-CVII		5BS
TaACD16.3-CIX	UAP IX NaLi	4DL
TaACD59.5A-NaLi		3B
TaACD59.5B-NaLi		3AS
TaACD59.5C-NaLi		3DS
TaACD58.7-NaLi		4AS
TaACD58.4-NaLi		3B
TaACD60.3-NaLi		4BL
TaACD58.8-NaLi		4DL

Discussion :

A partir les résultats obtenus nous avons identifié plusieurs gènes de résistances au différents stress abiotiques :

-Les gènes de résistance à la sécheresse (dhn, wcor, dreb , TaDHN1 TaDHN2 TaDHN3 TaDHN4 TaDHN5 TaDHN6 TaDHN7 TaDHN8 TaDHN9 TaDHN11 TaDHN12 TaDHN13 TaDHN14 TaDHN15 TaDHN16 TaDHN17 TaDHN18 TaDHN19

Chapitre 3 : méthodologie de travail

TaDHN20 TaDHN21 TaDHN22 TaDHN23 TaDHN24 TaDHN25 TaDHN26
TaDHN27 TaDHN28 TaDHN29 TaDHN30 TaDHN31 TaDHN32).

- Les gènes de résistance au froid (Cbf2 Cbf3 Cbf4 Cbf5 Cbf9 Cbf10 Cbf12-1 Cbf12-2
Cbf12-3Cbf13 Cbf14 Cbf15 Cbf16 Cbf17 Cbf18-1Cbf18-2 ,5E4, 6H8 ,1C1, 10D10 ,9B7
,3H9 ,7H8 ,2H8 ,6G2 ,7C3, WCOR410).

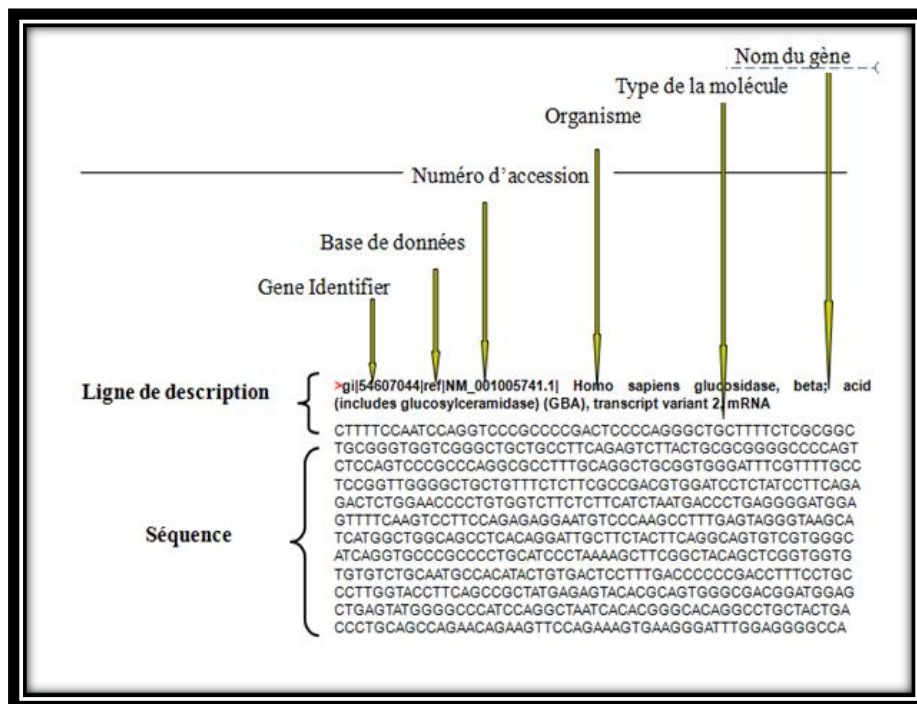
- Les gènes de résistance à la salinité (TaNAC29 ORF ,TaNAC29 RT ,RD29A, RD29B,
KIN1 TaTublin ,AtActin2, TtNAC-A7, TtNAC-A51 ,TtNAC-B47 ,TtNAC-B69, TtNAC-
B27, TtNAC-A59).

- Dans ce travail nous avons identifié d'autre groupe de gènes liés à la tolérance au stress
Thermiques la famille des gènes Ta HSP20.

Résultats de conception d'amorces :

-Une recherche des gènes dans la base de données (Gen bank) en format Fasta ;

Format qui permet de représenter un ou plusieurs séquences (nucléiques ou protéiques).
Dans ce format la ligne qui commence par le symbol '>' caractérise le début d'une nouvelle
séquence. Le symbol '>' est suivi d'un identifiant de séquence et de commentaires éventuels
(**figure 6**). Les lignes suivantes constituent la séquence (jusqu'à ce qu'une nouvelle ligne
commence par '>' ou la fin de fichier). Exemple (NCBI) :



Figure(6) : structure de format FASTA

Chapitre 3 : méthodologie de travail

-Utilisation du programme primer 3 pour la conception d'amorces.

-Les résultats de la conception d'amorces sont représentés dans le tableau ci- dessous

Tableau. 6 : résultats de la conception d'amorce par le programme primer 3 :

Gènes	Amorce sens et antisens	Taille	longueur	TM	CG%
WCOR410	Sens : GAGAAGGAGGAGGAGCTGGT Anti sens : CTTTCCTTGAGCCCCTTCT	225	20 20	59.95 59.82	60.00 50.00
Additionnels oligos	Sens : GAGAAGGAGGAGGAGCTGGT Anti sens : TTTTTCCTTGAGCCCCTTCT	224	20 20	59.95 60.18	60.00 45.00
	Sens : CTGACGCGAAGGAGAAGAAG Anti sens : CTCCCACCTTGACACCAACT	216	20 20	60.27 60.00	55.00 55.00
	Sens : CTGACGCGAAGGAGAAGAAG Anti sens : AACACACGCCAACAATTCAA	178	20 20	60.27 60.01	55.00 40.00
	Sens : CTGACGCGAAGGAGAAGAAG Anti sens : CACACGCCAACAATTCAATC	176	20 20	60.27 59.97	55.00 45.00
DREB3	Sens : GGCATGCTGCAGTCTGATTA Anti sens : AAGCCGACCAAACACCATAG	156	20 20	59.98 59.99	50.00 50.00
Additionnels oligos	Sens : TCTACCTGGATGGCTTGGAC Anti sens : AAGCCGACCAAACACCATAG	191	20 20	60.07 59.99	55.00 50.00
	Sens : CGTGATGGGCCTAATTCAGT Anti sens : CGAATTTTCAGCAACCCACTT	218	20 20	59.96 60.11	50.00 45.00

Chapitre 3 : méthodologie de travail

	Sens : CCTGGAAGAACTTGTGGAG Anti sens : ACTGAATTAGGCCCATCACG	195	20	59.84	55.00
	Sens : AGCCTGGAAGAACTTGTGGA Anti sens : ACTGAATTAGGCCCATCACG	196	20	59.84	50.00
	Sens : CCTGGAAGAACTTGTGGAG Anti sens : ACTGAATTAGGCCCATCACG	195	20	59.84	50.00
NAC69-1	Sens : ACGGCATGAAGAGGAAGAGA Anti sens : GGGGGATCCTCTCGATCTAC	195	20	59.95	50.00
Additionnels oligos	Sens : CCTCTGACCAGGAACAGGAG Anti sens : TAGTCGACGGTGTTGAGCAG	193	20	59.83	60.00
	Sens : CTCCTCTGACCAGGAACAGG Anti sens : TAGTCGACGGTGTTGAGCAG	195	20	60.05	55.00
	Sens : CTCCTCTGACCAGGAACAGG Anti sens : TAGTCGACGGTGTTGAGCAG	195	20	59.83	60.00
	Sens : CCTCCTCTGACCAGGAACAG Anti sens : TAGTCGACGGTGTTGAGCAG	196	20	60.05	55.00
	Sens : CCTCTGACCAGGAACAGGAG Anti sens : GTAGTCGACGGTGTTGAGCA	194	20	59.83	60.00
	Sens : CCTCTGACCAGGAACAGGAG Anti sens : GTAGTCGACGGTGTTGAGCA	194	20	59.90	55.00
CBF-B14	Sens : TCAACGCAGCAGCTAAACAC Anti sens : GCGTCTCCTTGA ACTTGGTC	186	20	60.20	50.00
	Sens : TCAACGCAGCAGCTAAACAC Anti sens : GCGTCTCCTTGA ACTTGGTC		20	59.85	55.00
Additionnels oligos	Sens : GATGCCGGATCGTTCTACTC Anti sens : CAATGAACGAGCACATACGG	231	20	59.66	55.00
	Sens : GATGCCGGATCGTTCTACTC Anti sens : CAATGAACGAGCACATACGG		20	60.13	50.00
	Sens : GCAGCAGCTAAACACGCTAA Anti sens : GATGCCGGATCGTTCTACTC	181	20	59.42	50.00

Chapitre 3 : méthodologie de travail

	Anti sens : GCGTCTCCTTGAACCTGGTC Sens : GTTCTACTCGGAGGGCCTGT Anti sens : CAATGAACGAGCACATACGG Sens : GAGGGCCTGTTCATGGAGT Anti sens : CAATGAACGAGCACATACGG	220	20	59.85	55.00
			20	60.65	60.00
			20	60.13	50.00
		210	19	60.13	57.00
			20	60.06	50.00
NAC29	Sens : TAGAGAGCTTGGGTGGTTGC Anti sens : CCCACGGATCGAACTTGTAG	233	20	60.40	55.00
			20	60.51	55.00
Additionnels oligos	Sens : TAGAGAGCTTGGGTGGTTGC Anti sens : ATGTCTACGTCGGCGATGAT	213	20	60.40	55.00
			20	60.51	50.00
	Sens : ACCAAGACTGCCTGGATCAT Anti sens : CATGTGGTCGTAGTCGGACA	192	20	59.54	50.00
			20	60.59	55.00
	Sens : GAAGGCGCTCGTCTTCTACA Anti sens : CATAGCACCCAGTCATCCAA	165	20	60.68	55.00
			20	59.52	50.00
	Sens : TAGAGAGCTTGGGTGGTTGC Anti sens : TTGCGAAGGTAGTGCAGGAT	162	20	60.40	55.00
			20	60.80	50.00
CBF9	Sens : CGCCCGAGTTTTACATGTCT Anti sens : TAGTCGAACAAGCAGCTCCA	196	20	60.13	50.00
	20		59.74	50.00	
Additionnels oligos	Sens : CGCCCGAGTTTTACATGTCT Anti sens : GCTTCCCAAATCGAGAAGAA	250	20	60.13	50.00
			20	59.39	45.00
	Sens : CGCCCGAGTTTTACATGTCT Anti sens :	248	20	60.13	50.00

Chapitre 3 : méthodologie de travail

	TTCCCAAATCGAGAAGAAGG Sens :		20	59.24	45.00
	CGCCCGAGTTTTACATGTCT Anti sens :	193	20	60.13	50.00
	TCGAACAAGCAGCTCCATAG Sens :		20	59.17	50.00
	CTGCGGAAGCAGATTGTTCT Anti sens	238	20	60.54	50.00
	CGCCGGAAGACATGTAAAAC		20	60.50	50.00

Discussion :

- A travers les résultats obtenus dans le tableau de conception d'amorces des six gènes (WCOR410, DREB3, NAC69-1, CBF-B14, NAC29, CBF9) de résistance au différents stress abiotiques (sécheresse, froid, salin) utilisés.
- A partir de séquences de ces gènes trente amorces ont été désignées avec leurs tailles, positions, longueurs, et Tm, GC%). Les amorces conçues par bioinformatique peuvent être utilisé pour leur détection par PCR. Nous pouvons donc dire qu'on a conçu de nouvelles amorces par l'outil bio-informatique, ayant l'avantage d'être stables et ayant des propriétés adaptées aux protocoles expérimentaux qui seront utilisés comme base dans les laboratoires de biotechnologies et de biologie moléculaire.

CONCLUSION

CONCLUSION :

Les stress abiotiques tels que la sécheresse, la salinité, et l'extrême température limitent considérablement la croissance des plantes et affectent de manière significative la biomasse et le rendement du grain dans le monde entier. Les plantes ont développé des mécanismes pour faire face aux différents stress abiotiques tant au niveau physiologique et biochimique. L'une d'entre elles est les gènes de résistance.

Dans ce travail, grâce à la recherche in silico nous avons identifier au total deux-cent Trente-huit (238) gènes qui tolèrent aux différents stress abiotiques notamment ceux résistants à **la sécheresse** tel que : dhn, wcor, dreb , dans *Triticum aestivum*. TaDHN1 TaDHN2 TaDHN3 TaDHN4 TaDHN5 TaDHN6 TaDHN7 TaDHN8 TaDHN9 TaDHN11 TaDHN12 TaDHN13 TaDHN14 TaDHN15 TaDHN16 TaDHN17 TaDHN18 TaDHN19 TaDHN20 TaDHN21 TaDHN22 TaDHN23 TaDHN24 TaDHN25 TaDHN26 TaDHN27 TaDHN28 TaDHN29 TaDHN30 TaDHN31 TaDHN32 dans le blé, **au froid** Cbf2 Cbf3 Cbf4 Cbf5 Cbf9 Cbf10 Cbf12-1 Cbf12-2 Cbf12-3 Cbf13 Cbf14 Cbf15 Cbf16 Cbf17 Cbf18-1 Cbf18-2 ,5E4, 6H8 ,1C1, 10D10 ,9B7 ,3H9 ,7H8 ,2H8 ,6G2 ,7C3, WCOR410 dans *Triticum durum*, **et à la salinité** TaNAC29 ORF ,TaNAC29 RT ,RD29A, RD29B, KIN1 TaTublin ,AtActin2 chez le blé, TtNAC-A7, TtNAC-A51 ,TtNAC-B47 ,TtNAC-B69, TtNAC-B27, TtNAC-A59 chez le *Triticum turgidum*.

L'utilisation des outils de la bioinformatique tel que le programme de la conception da amorce (primer3) a permis de mettre au point de nouvelles amorces.

Et nous a permis d'établir des amorces PCR pouvant être utilisés aux protocoles expérimentaux dans les laboratoires de biotechnologie.

Référence
bibliographique

Référence bibliographique:

Actualitix, 2016 : Algérie : Blé - Production (Tonnes), Atlas de statistique sur les pays
<https://fr.actualitix.com/pays/dza/algerie-ble-production.php>.

Anna Maria De Leonardis et al,2007 Leonardis, A. M., Marone, D., Mazzucotelli, E., Neffar, F., Rizza, F., Fonzo, N. D., Mastrangelo, A. M. (2007): Durum wheat genes up-regulated in the early phases of cold stress are modulated by drought in a developmental and genotype dependent manner. *Plant Science*,172(5), 1005-1016. doi:10.1016/j.plantsci.2007.02.002

Anonyme .A, 2015 : Dossier spécial - Blé GIS Biotechnologies Vertes, 1999 - 2015 : plus de 15 ans de partenariat public-privé pour la recherche sur le blé,
<http://www.gisbiotechnologiesvertes.com/fr/11-documents/33408-dossier-special-ble>

Anonyme .B, 2015 : Un précieux «sous-produit» du blé au son, sous la loupe,
www.pistor.ch/lebensmittel/PDF/Aliments/Ble.pdf.

Anonyme .C,2011 : Fiche d'information du CCSM Gènes, ADN et chromosomes, center canadien science et medias,
www.sciencemediacentre.ca/smc/docs/fiche_ADN_et_chromosomes.pdf

Anonyme .D ,2013 : Initiation à la bioinformatique, Formation biologie moléculaire / bioinformatique, biotech.spip.ac-rouen.fr/IMG/ppt/formation_bioinformatique.ppt .

Belagrouz .A,2013 : Analyse du Comportement du Blé Tendre, Variété El WIFAK (*Triticum aestivum L.*) Conduite en Labour Conventionnel, Travail Minimum et Semis Direct sur Les Hautes Plaines Sétifiennes, Université Ferhat Abbas Sétif,107p.

Bertrand.1996 : Les sites antiques. La lettre du Pays de Tronçais

Bonsai ., Isabelle Quinkal (Journaliste), François Rechenmann (Chercheur) (2014) : **Source** : article présentant la bioinformatique, sur le site d'*Interstices*. Bioinformatique et données biologiques, Cours d'introduction à la bioinformatique et de présentation des banques de séquences : p 1-10.

Bousba. R (2012) : « Caractérisation de la tolérance a la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum Desf*) » . *Thèse de Doctorat de l'Université Mentouri Constantine* .117p.

C. Beroud ,2010 : Bases de données et outils bioinformatiques utiles en génétique, Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale.

Chellali B. 2007. Marché mondial des céréales : L'Algérie assure sa sécurité alimentaire.<http://www.lemaghreb.dz.com/admin/folder01/une.pdf>. (31.05.2008).

Chifolleau .A.M, 2016 :HMSN204 Info. Biologique et Outils bioinformatiques Banques de données biologiques

Coutouly *et al.*, (2006): Coutouly. G ; E. Klein ; E. Barbieri ; M. Kriat ; (2006) : Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique Biosciences et techniques. Paris, France. P 217-220.

Deléage .G,2016 : introduction a la bioinformatique structurale universite clude bernard lyon 1.

Djermoun .A, 2009 : La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques, Université de Hassiba Benbouali de Chlef, Revue Nature et Technologie. n° 01/Juin 2009. Pages 45 à 53

FAO, 2017: Bulletin de la FAO sur l'offre et la demande de céréales

Frédéric Choulet ,2014 : La séquence du plus grand des chromosomes du blé tendre dévoilée

Groupe The Trust, 2010 : Réponses des plantes à l'environnement, <http://www.bdesciences.com/.../Reponses%20des%20Plantes%20a%20l%20Environnement/...>

Guy Perrière, 2000 : Bases de données et outils d'analyse pour la génomique bactérienne, Université Claude Bernard – LYON 1.

Hervé Levesque, Jean-François Madre, 2013 : Le blé, une plante domestiquée au génome polyploïde complexe, ife-ens de lyon.

Hervé Levesque,2014 : le génome nucléaire de Blé, <http://accs.ens-lyon.fr/evolution/biodiversite/dossiers-thematiques/plantes/poacees/les-genomes-du-ble/le-genome-nucleaire-du-ble>

Laurent. D, 2011 : Bioinformatique: Annotation des génomes(eucaryotes) BBE – UMR CNRS n° 5558 Université Claude Bernard - Lyon 1

Mohammed Najib Saidi, 2017 Saidi, M. N., Mergby, D., & Brini, F. (2017): Identification and expression analysis of the NAC transcription factor family in durum wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. durum). *Plant Physiology and Biochemistry*, 112, 117-128. doi:10.1016/j.plaphy.2016.12.028

Nadjem .k, 2012 : contribution a l'étude des effets du semis direct sur l'efficience d'utilisation de l'eau et le comportement varietal de la culture de ble en region semi-aride, Université Ferhat Abbas Sétif.131p.

Navarro. M, 2009: Etude fonctionnelle de gènes de facteurs de transcription CBFs impliqués dans la tolérance au froid chez l'Eucalyptus.

Nemat M. Hassan et al 2015 Hassan, N. M., El-Bastawisy, Z. M., El-Sayed, A. K., Ebeed, H. T., & Alla, M. M. (2015): Roles of dehydrin genes in wheat tolerance to drought stress. *Journal of Advanced Research*,6(2), 179-188. doi:10.1016/j.jare.2013.11.004

Nicolas .M, 2009: etude du transcriptome keratinocytaire.

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.* 12 pages. www.regional.org-au/au/cs

Sbabou .L, 2010 : TD Biologie Moléculaire Introduction à la bioinformatique. Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, Université Mohamed V - Agdal• Faculté des Sciences B.P. 1014 -Rabat –MAROC.

Senthilkumar K. Muthusamy,2017 Muthusamy, S. K., Dalal, M., Chinnusamy, V., & Bansal, K. C. (2017): Genome-wide identification and analysis of biotic and abiotic stress regulation of small heat shock protein (HSP20) family genes in bread wheat. *Journal of Plant Physiology*,211, 100-113. doi:10.1016/j.jplph.2017.01.004

Vincens. P, 2013 : Biologie *in silico*, Ecole normale supérieure département de biologie, paris france.

Witcombe et al., 2009: 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.

Yuezhi Wang,et al 2014 Wang, Y., Xu, H., Zhu, H., Tao, Y., Zhang, G., Zhang, L., . . . Ma, Z. (2014): Classification and expression diversification of wheat dehydrin genes. *Plant Science*,214, 113-120. doi:10.1016/j.plantsci.2013.10.005

Zhongyang Xu et al 2015 Xu, Z., G., Wang, C., Xue, F., Zhang, H., & Ji, W. (2015): Wheat NAC transcription factor TaNAC29 is involved in response to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*,96, 356-363. doi:10.1016/j.plaphy.2015.08.013

Annexe

ANNEXES .01

La séquence du gène WCOR410 « *Triticum aestivum* »

```
1   aaaagccaca  agccaagaac  caatacttga  tctgttgttt
cctttagctc  ccggaagact
61  tttagctgca  ccgatcgatc  tcgatcatgg  aggatgagag
gagcaccag  tcgtaccagg
121 gaggtgagggc  cgccgagcag  gtggaggtga  cggacagggg
cctcctcggc  aacctcctcg
181 gcaagaagaa  ggctgaggag  gacaaggaga  aggaggagga
gctggtcacc  ggcatggaga
241 aggtctccgt  ggaagagccc  gaggtcaaga  aggaggagca
cgaggatggc  gagaagaagg
301 agaccctctt  ctccaagctg  caccgatcca  gctccagctc
cagctcgtct  agtgacgagg
361 aagaagagga  ggtgatcgat  gacaacggcg  aggtgatcaa
gaggaagaag  aagaaggggc
421 tcaaggaaaa  gctccagggg  aagctgcccg  gccacaagga
caccgagggg  gagcacgtga
481 cggggctacc  ggcaccggcg  gccccgcgt  ctgtgcagac
ccacggcggc  caccatgaca
541 ccgacgtcgt  cgtcgagaag  atcgacggcg  acgtgaagac
agaggcggca  ccggcagtgc
601 ccgaggagga  gaagaaaggc  ttcttgaaa  agatcaagga
gaagctgccc  ggcggccaca
661 agaagccgga  ggacgctgct  gcggtgcccg  tcacgcacgc
tgctccagca  ccagtgcacg
721 cgccggtgcc  ggccccgag  gaggtgagca  gccctgacgc
gaaggagaag  aagggcctgc
781 tgggcaagat  catggacaag  ctgcctggtt  accacaagac
aggggaggag  gacaaggccg
841 ccgccgctac  aggcgagcac  aagcccagcg  cttgatcgcc
gccgtgcccg  agaccctga
901 ccggacctcg  attgaattgt  tggcgtgtgt  tgtgtttgct
ttacgtctaa  gttgggtgtca
961 aggtgggagg  ggttgatcgt  ctttgaagg  ccggtccgtg
aagcccgttc  agtgacgggt
```

1021 gcttctgttt cagtttggtt cagagtcagg tcctggatgt
 tgtcaagttt gtttacttat
 1081 gggcacttgt gtattggttt attgctgggc attatgcctt
 gatattaag atttcc

ANNEXES .02

La séquence du gène DREB3 « *Triticum aestivum* »

1 gcgaacgcta gatattctgga cccgatccgg atcgggcccgg
 ccatgacggg agatcgggaag
 61 gacgctgagg cggcggcggc ggcggcccga cccttcgaga
 tcccggcgct ccagcctgga
 121 agaacttgtg gagcagagga aagtaccgg agtcatgttc
 tcgtcaaacc aatagcagga
 181 agcagtaatc ttccctgtaa tgaatatgca ctcttggcgc
 ggcaaaacc caagggagat
 241 ggcagccag tggcatctat tctgcgaaa aagcgacctc
 ggagatcacg tgatgggect
 301 aattcagtct ctgaaacgat caggcgatgg aaagaagtga
 accaacaact ggagcatgat
 361 ccacaggggtg caaagagggc gaggaagcca cctgcaaagg
 gttcaaagaa gggctgtatg
 421 caggggaaag gaggacctga gaatacacia tgtggattcc
 gtggtgtaag gcaacgtact
 481 tgggggaagt gggttgctga aattcgggag ccaaatcggg
 tgagcaggct ctggttggga
 541 acgttcccca ctgctgagga tgctgcccgt gcttatgacg
 aggcagccag agcaatgtat
 601 ggcgcaactgg ctcgtaacaa ctccctgtg catcctgcac
 aagctcctgc tgtggctgta
 661 gcagcggcaa ttgaagggtg tgtacgtggg gcttcagcat
 catgtgagtc tactacaaca
 721 tccaccaacc actcagatgt tgcttcttcc ttgccgagac
 aagctcaagc tcttgagatt
 781 tactcccagc cagatgtgct tgagtccacc gaatcagttg
 tgcttactcc tgttgagcat
 841 tacagccatc aagacagtgt tcctgacgct ggctcaagca
 ttgcaaggag cacatccgaa

901	gaggatgtgt	ttgagccatt	ggagcctatt	tccagtttgc
	cggatgggga	atctgacggt		
961	tttgatatag	aagaattatt	aagattgatg	gaagccgacc
	caattgaagt	tgagccggtc		
1021	aacgggggct	cctggaatgg	ggtggagatt	ggccagcagg
	aacctctcta	cctggatggc		
1081	ttggaccaag	gcatgctgga	gggcatgctg	cagtctgatt
	atccttacc	aatgtggata		
1141	tcagaggatc	gggcatgca	caaccctgcc	ttccatgatg
	ctgagatgag	cgagttcttc		
1201	gaagggttgt	gatgaattac	cggcggccaa	accatgtcta
	tgggtgttgg	tcggcttgcc		
1261	cttcggtgtc	cgctgctgcg	ctccagtgaa	gatcaaatgg
	tggaccagaa	gattggattc		
1321	ctctg			

ANNEXES .03

La séquence du gène NAC69-1 « *Triticum aestivum* »

1	gcagcatttt	tatgcagtag	ccatcttctc	ctcctcctcc
	ccccgccttc	cagctagcca		
61	cctagctcac	tatcacatca	tccagcagcc	cacaccaact
	catattgatt	ccgttcccac		
121	ctgctcgcca	tcgccagcca	tgccaatggg	cagcagcgcc
	gccatgcccg	ccctccctcc		
181	cggcttccgg	ttccaccca	ccgacgagga	gctcatcgtc
	cactacctcc	gcaggcaggc		
241	cgcgtccatg	cccagccccg	tgcccatcat	cgccgaggtc
	aacatctaca	agtgcaacct		
301	atgggacctc	cccggcaaag	ctttgttcgg	ggagaatgag
	tggactttct	tcagcccccg		
361	ggatcgcaag	tacccaacg	gcgcgcgccc	gaaccgcgcc
	gccgggtccg	gctactggaa		
421	ggccaccggc	accgacaagg	ccatcctgtc	cacgccggcc
	aacgagagca	tcgggggtcaa		
481	gaaggcgctc	gtgttctaca	ggggcaagcc	gccaagggc
	gtcaagaccg	actggatcat		

541 gcacgagtac cgcctcaccg cagccgacaa ccggaccacc
aagcgcagag gatcctccat
601 gaggctggat gactgggtgc tgtgtaggat ccacaagaag
tgcggcaact tgcccaactt
661 ctctctctt gaccaggaac aggagcatga gcaggagagc
tccaccgtgg aggactcgca
721 gaacaaccac accgtgtcgt cgcccaagtc cgaggccttc
gacggcgacg gcgacgacca
781 cctccagttg cagcagttcc gcccctatggc gatcgccaag
tcgtgctccc tcaccgacct
841 gctcaacacc gtcgactacg ccgcgctctc gcacctcctc
ctcgacggcg ccggcgctc
901 gtcgtcggac gccggagcag actaccagct gcctcccga
aaccactca tctactcgca
961 gcctccatgg caacaaacgc tacactataa taacaacaac
ggctacgtga acaacgagac
1021 catcgacgtg cctcagctac ccgaggcgcg cgtagatgac
tacggcatga atggcgataa
1081 gtataacggc atgaagagga agagatccag cggcagcttg
tactgcagcc agctgcagct
1141 ccagcggat cagtacagcg gcatgctgat ccatccgttc
ctcagccagc agctgcacat
1201 gtgaagaacc agagagcttg ggtcgaagag atcatcattg
ttccatttga acttgctgta
1261 gatcgagagg atccccgct gtggcagata ggcagggatc
tagctagctt gctgtgtcgt
1321 gaacgaccga ccgataagaa cggacaaatt tcagaattct
tgggtgtagca caaagctgta
1381 aattacgggg gtttattgtg aaataaatta atccagtatt atc

ANNEXES .04

La séquence du gène CBF-B14 « *Triticum aestivum* »

1 tcaacgcagc agctaaacac gctaagctac ctgctgctt
aattactcca cagtcgacag
61 gctcccggcg aactgcgat cgttcgatgg acgccgccga
cgccgcctcc ccgtgtgatg

121 gccacaggac ggtgtggtcg gagccgccga agcggccggc
cggccggacc aagttcaagg
181 agacgcgcca cccgctgtac cgcggcgtgc ggcgacgggg
ccccgccggc cggtggggtgt
241 gcgaggtgcg cgtgctcggg atgaggggct ccaggctctg
gctcggcacc ttcaccaccg
301 ctgagatggc agcgcgcgcg cacgacgccg ccgttctcgc
gctctctggg cgcgccgctt
361 gtctcaactt cgccgactcc gcctggcgga tgctccccgt
cctcgccggc ccgttcagca
421 ccgccaagga gatcaaggac gccgtcgccg tcgccgtctt
ggcgttccaa aggcagcacc
481 gggtcgcgtc catggcacca ttgtcccctg cgcggacaac
cgatgacgag aaggaaatcg
541 atggctcgcc ggcgccgagc gccctgttca tgtccagcga
gctggtgaat gagcactggg
601 ttggcggcat ggatgccgga tcgttctact cggagggcct
gttcatggag tcgccggaca
661 ccagaccgtg gcgggaagac ctcgagctct gtggcgtcga
gacaccgcca tggagctact
721 tgttcgacta aagcagttaa gttaaattgtt tgtatagata
gtttctctct tctgttccac
781 caaatatggg aggaaacaga gggggatatt ttccccatat
gtccgtatgt gctcgttcat
841 tgtg

ANNEXES .05

La séquence du gène NAC29 « *Triticum aestivum* »

```
1   ctcccttctt   ctgatcgtgt   gtgtgttaga   gagcttgggt
ggttgcacgt acgaggtacg
61   tgcgtgtcga   tcgggtggtc   gatcatggcg   atggcgcagg
ggcaggggca gggggcggcg
121  acgtcgtctg   cgccgggggt   ccggttccac   ccgacggacg
aggagctcat cctgcactac
181  cttcgcaacc   gcgcgcgcgc   cgcgcgcgtg   ccggtctcca
tcatcgccga cgtagacatc
241  tacaagtctg   atccgtggga   cctcccttcc   caggcggtgt
acggcgactg cgagtggtag
301  ttcttcagcc   cgcggggatcg   caagtacccc   aacggcatcc
gccccaaacc cgccgcccggc
361  tccggctact   ggaaggccac   cggcaccgac   aagcccatcc
acgacccccg caccggccag
421  ggcgtcggcg   tcaagaaggc   gctcgtcttc   tacaagggcc
gcccgcccaa gggcaccaag
481  actgcctgga   tcatgcacga   gtaccggctc   gccgcccgac
ccctcaccac cgccgtcaac
541  acctacaagc   ccatcaagtt   ccgcaacgtc   tccatgaggt
tggatgactg ggtgctatgc
601  cggatctaca   agaagaccgg   cctggcgtcg   ccgatggtagc
cgccgctgtc cgactacgac
661  cacatggccg   accacgacga   cctctccggc   ggcgggcggca
ccttcgacga cgccgcctgc
721  agcttctacg   cgcaactccag   cagcagcagc   agcgccagca
gaacatgat  cacgcagcag
781  ccgccgcacg   ccgggggact   ccccacgata   ccgtccttct
ccgagctctt cgacgactac
841  tcgctcgcgc   agatcctcga   cgccgaggcc   gagcacggcg
ccaccacca  cctcgcgcgc
901  cacccttccc   tgaacatgct   cctccccgtc   ggcgacaacg
cgcacggagt acagccgctg
961  tactacgcgc   cgtcgtcgtc   atcgccggac   gccagcggcg
ggagcgcggg gaaacgcaag
1021 gccgcgagcc   cggaagagtc   atcgccaag   aggcttaacg
ggtcgtgctt cgacgcgcgc
1081 ccgcagtcgg   cgaacagctg   gcagggggcg   gcgtcggtagc
tgggcggcct cggatcatcag
1141 atgcttcctc   agttctaagc   tgtaattaa   tttaacttaa
atcggtcgtg taagcgcg
```

ANNEXES .06

La séquence du gène CBF9 « *Triticum aestivum* »

```
1  atcaaaacct  cccaacacag  ccgctgattc  ttccagtact
cccgtccac  acctcccacg
61  agcgtctccg  ccagctctcg  actcagatgg  acgtcgccga
catcgcctcc  ccgtccggcc
121  agcaggagca  gggccaccgg  acggtgtcgt  cggagccgcc
gaagcggccc  gcggggcgga
181  ccaagttcca  cgagacgcgc  caccgcctgt  accgcggcgt
gcggcgccgt  ggccgcgtcg
241  ggcagtgggt  gtgcgagggt  cgcgtgcccg  ggatcaaggg
ctccaggctc  tggctcggca
301  cttcaaacac  ggccgagatg  gcggcgcgcg  cgcacgacgc
cgccgtgctc  gcgctctccg
361  gccgcgccgc  ctgcctcaac  ttcgccgact  ccgcatggcg
catgctgccc  gtgctcgcgg
421  ccggctcctt  cggcttcggc  agcgcgagcg  agatcaaggg
cgccgtcgct  gtcgcccgtc
481  tcgcgttcct  gcggaagcag  attgttcttc  cagtcgccgt
cgccgtcggtg  gcgctccagc
541  agaagcaggt  cccgatcgcc  gtcgccgtgg  tggcgctcca
gcagaagcag  gttccggctg
601  ccgtcgccgt  ggtggcgctc  cagaagctgc  cagttccggg
cgccgtcgcc  gtcgtggcgc
661  tccagcagca  gcagatcatt  cttccagtcg  cgtgcctggc
gcccagagttt  tacatgtctt
721  ccggcgacct  gttggagctg  gacgaggagc  agtggtttgg
cggcatggag  gccgggtcgt
781  actacgcgag  cttggcgcag  gggatgctcg  tggcgccgcc
ggacgaaaga  gccaggccgg
841  agagcggcga  gcagagcggc  gtccagacgc  cgctatggag
ctgcttgttc  gactaattta
901  gcgatactgt  caagttgtag  atagtcgcct  tcttctcgat
ttgggaagcg  agcagagtag
961  tactagaggt  atttgtagag  ttcccggctt  ctacttttgg
ggaaaagggc  tactcctata
1021  ttgcttaat  acagaaatta  ttggtactga  aaaaaaaaaa
aaaaaaaaaa  aaa
```


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

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en
Biologie et Génomique végétale

Résumé

Le blé est une céréale importante en termes de consommation humaine dans de nombreux pays du monde, les stress abiotique est l'un des facteurs limitant la productivité végétale et le rendement agricole, Plusieurs techniques ont été utilisées tout au long de l'histoire (la sélection de masse, la sélection généalogique, in vitro, in vivo ...) pour L'amélioration de la tolérance. Une nouvelle branche de la biologie a été établi à savoir l'approche in silico, l'objectif est que les recherches des laboratoires sont traitées et regroupées dans des bases de données dont la plupart sont accessibles à tous les biologistes.

Ce travail vise à trouver des gènes de résistance aux stress abiotiques par la recherche in silico et la conception d'amrces à partir de ces gènes. Dans cette recherche plusieurs gènes ont été identifiés avec la désignation de trente amorces relatives de ces gènes. Ces données seront utiles et utilisées comme base de données dans les laboratoires de recherche.

Mots clés : Blé, stress abiotique, in silico, gènes de résistance.

Laboratoire de recherche:de Biochimie, Génétique et Biotechnologie végétale à UFM Constantine .

Jury d'évaluation :

Président du jury : M^{me}. YKHLEF Nadia , **Professeur** à UFM Constantine .

Rapporteur : M^{me}. BOUSBA Ratiba , **MCA** à UFM Constantine .

Examineur : M^{lle}. MOUELLEF Adra , **MAA** à UFM Constantine .

Date de soutenance : 15 /06/2017

