



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et la recherche scientifique  
Université Abbes Laghrou Khenchela  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



Département des  
Sciences Agronomiques

**MEMOIRE**  
Présenté pour l'obtention du diplôme de

**MASTER**

FILIERE : Sciences biologiques

OPTION : Biotechnologies et amélioration des plantes

Thème

**Analyse des ESTs en vue de l'identification  
des gènes de réponse au stress salin chez  
l'orge « *Hordeum vulgare* L. »**

Présentée par :

Soutenu le: 01/06/2016

➤ MAHDAOUI Yazid

➤ MAAROUF Ridha

Jury de soutenance :

Président : Dr. LABASSI A.

MCB U. Abbès Laghrou Khenchela

Examinatrice : Mme. MERIDJA W.

MAA U. Abbès Laghrou Khenchela

Promoteur : Dr. FERCHA A.

MCB U. Abbès Laghrou Khenchela

**Promotion : Juin 2016**

# *Dédicace*

*A celui qui a attendu avec patience les fruits de ça bonne  
éducation .....*

*A mes parents que dieu les gardes*

*Ma mère Messaouda et mon père Ismail*

*A mes chers frères et sœurs*

*A ma grande famille Maarouf et la famille Falek*

*Chacun son nom*

*A tous mes collègues les bio-technologistes*

*Ridha*

# Dédicace

À mes très chers parents qui ont toujours été là  
pour moi,

Et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de  
persévérance.

J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma  
reconnaissance et tout mon respect.

À mes chers frères et sœurs,

Et à toute la famille.

À ma grande famille Mahdaoui et Bendjeddou

À mes frères et à tous mes amis.

À tous mes collègues et aux enseignants

De l'institut de Biologie

Je dédie ce mémoire

Yazid

## **Remerciements**

Avant toute chose, nous tenons à témoigner notre gratitude et nos plus sincères remerciements aux membres du jury qui nous font un immense honneur en acceptant de participer à l'évaluation de notre travail de thèse.

Nous tenons à remercier plus particulièrement Dr. Fercha Azzedine, notre enseignant et encadreur pour la confiance qu'il a placée en nous, sa disponibilité, ses conseils avisés, son exigence et son esprit critique lors de la correction de notre thèse.

Et bien sûr nous remercions nos familles pour leur soutien  
éternel

Merci à tous ceux qui donnent des rêves et qui contribuent  
à rendre la recherche plus passionnante chaque jour ...

## Liste des Abréviations

**ABA : Acide abscissique**

**ADC : Arginine décarboxylase.**

**ADH : Aldéhyde déshydrogénase.**

**ADN : Acide Désoxyribonucléique.**

**ADNc : ADN complémentaire**

**ADNg : ADN génomique**

**APX : Ascorbate Peroxydase (Péroxydase de l'ascorbate).**

**ARN : Acide ribonucléique**

**ARNm : Acide ribonucléique messenger**

**AtNHX1: Gène, de l'Arabidopsis thaliana, codant l'antiport Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> de la vacuole.**

**ATP: Adénosine triphosphate**

**Bg2:blast2GO**

**BLAST: Basic Local Alignment Search Tool (outil de recherche basique pour l'alignement local).**

**BLAT: BLAST-like alignment tool (outil d'alignement semblable à Blast).**

**C°: degré Celsius**

**Ca<sup>2+</sup>: calcium**

**Cap3: contig assembly program (programme d'assemblage des contigs).**

**CAT : Catalase**

**Cl : Le chlore**

**Co2: dioxyde de carbone**

**DDBJ: DNA Data Bank of Japan (Banque de données japonaises pour l'ADN).**

**EAV: Entity-Attribute-Value data model.**

**EBI: European Bioinformatics Institute (Institut européenne des bio-informatiques)**

**EC:** Enzyme code.

**EMBL:** European Molecular Biology Laboratory (Laboratoire européen de la biologie moléculaire).

**EST:** Expressed sequence tag (marqueur de séquence exprimée).

**ExPASy:** Expert Protein Analysis System (Système d'analyse des protéines pour les experts).

**FAO:** Food and Agriculture Organization (Organisation de l'agriculture et de la nutrition).

**FASTA:** Fastall (fast-all) extension de fichier (type de fichier).

**FT :** Facteur de transcription.

**GAPDH :** Glycéraldéhyde-3 Phosphate Déshydrogénase.

**GO:** Gene Ontology (ontologie du gène).

**GPX:** Glutathion Peroxydase

**GSS:** Genome Survey Sequences Database (une sub-division de GenBank).

**GST:** Glutathion-S-transférase

**H<sup>+</sup>:** proton

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** peroxyde d'oxygène

**Ha:** hectare

**HKT1 :** High Affinity K<sup>+</sup> Transporters (transporteurs de potassium à haute affinité).

**EMBO:** European Molecular Biology Organization (Organisation européenne de la biologie moléculaire).

**JIPID:** Japan International Protein Information Database (Base de données internationale japonaise de l'information des protéines).

**K<sup>+</sup>:** potassium

**KEGG:** Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (Encyclopédie de Kyoto sur les gènes et les génomes).

**Kna1 :** Gène codant la protéine responsable à l'exclusion du sodium.

**LINES:** Long interspersed nuclear element (élément nucléaire intercalé long).

**LTR: long terminal repeat (repetition terminale longue).**

**MDH : Malate déshydrogénase.**

**Mha. : Million d'hectares.**

**MIPS: Martinsried Institute for Protein Sequences ( Institut de Martinsried pour les sequences des protéines).**

**mM : milli Mol**

**Mt. : Million de tonnes**

**MYB: MYeloBlastosis family of transcription factors (facteurs de transcription de la famille du myéloblastose).**

**Na<sup>+</sup>: sodium**

**NaCl : chlorure de sodium**

**NADPH: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate Hydrogène.**

**NBRF: National Biomedical Research Foundation (établissement national de la recherche bio-médicale).**

**NCBI: National Center for Biotechnology Information (Centre national de l'information biotechnologique).**

**NIG: National Institute of genetics (Institut national de la génétique).**

**NO<sub>3</sub><sup>-</sup> : nitrate**

**O<sub>2</sub><sup>-</sup> : radicaux superoxydes**

**OH : hydroxyl**

**PA : Partie aérienne**

**PA : Polyamines.**

**pH: potentiel de l'hydrogène**

**PIR : Ressource de l'Information de Protéine.**

**PR : Partie racinaire**

**ROS : Reactive Oxygen species**

**RuBP : Ribulose Biphosphate**

**SGBDR : Système de Gestion de Bases de Données Relationnel**

**SIB : Institut Suisse de Bioinformatiques.**

**SINEs: Short interspersed nuclear element (élément nucléaire intercalé court).**

**SOD: Superoxyde-dismutase**

**SVG: scalar vector graphics (extentionde fichier).**

**TBP: TATA-box-binding protein (Protéine de liaison de la TATA-Box).**

**TIGR: The Institute for Genomic Research (L'Institut pour la recherche génomique).**




**TRE: Teneur relative en eau**

**TREP: database for Triticeae repetitive elements (Base de données pour les éléments réceptifs de la Triticeae).**

**Sommaire:**

Remerciements.....	iii
Liste des Abréviations .....	iv
Sommaire:.....	viii
Liste des figures: .....	xi
Liste des tableaux: .....	xii
Résumé .....	xiii
Introduction Générale : .....	xiv
Chapitre I: Analyse Bibliographique.....	1
1. Introduction : .....	1
2. Biologie et production de l'orge.....	2
2.1. Généralités : .....	2
2.2. Classification :.....	2
2.3. Biologie : .....	6
2.3.1. Grain de l'orge.....	6
2.3.2. Appareil végétatif .....	7
2.3.3. Appareil reproducteur .....	8
2.3.4. Cycle biologique de développement de l'orge : .....	10
2.4. Production de l'orge .....	14
3. Impact du stress salin sur la croissance et la production de l'orge.....	16
3.1. Introduction :.....	16
3.2. Définition de la salinisation : .....	16
3.3. Origine de la salinité :.....	16
3.3.1. La salinité primaire .....	16
3.3.2. La salinité secondaire : .....	17
3.4. Composantes de la salinité :.....	17
3.4.1. Le stress osmotique : .....	17
3.4.2. Le stress ionique : .....	17
3.4.3. Le stress nutritionnel : .....	18

3.4.4.	Le stress oxydatif :.....	18
3.5.	Effet de la salinité sur les plantes :.....	19
3.5.1.	Effet de la salinité sur la germination et la levée :.....	19
3.5.2.	Effet de la salinité sur l'architecture de la plante.....	19
3.5.3.	Effet de la salinité sur la partie aérienne.....	20
3.5.4.	Effet de la salinité sur la partie racinaire.....	20
3.5.5.	Effet de la salinité sur le développement et la croissance de la plante.....	21
3.5.6.	Effet de la salinité sur les échanges gazeux et la photosynthèse.....	21
3.5.7.	Effet de la salinité sur la physiologie de la reproduction :.....	21
3.5.8.	Effet de la salinité sur le rendement agronomique :.....	21
3.6.	Tolérance des plantes à la salinité :.....	22
3.6.1.	Les halophytes :.....	22
3.6.1.1.	Les plantes de type inclusif (include).....	22
3.6.1.2.	Les plantes de type exclusif (exclude).....	23
3.6.2.	Les glycophytes :.....	23
3.6.3.	La tolérance des céréales a la salinité :.....	23
3.7.	Mécanismes de la tolérance à la salinité :.....	23
3.7.1.	Contrôle de l'absorption et le transport de sodium.....	24
3.7.2.	Régulation de la concentration cytoplasmique de sodium Na :.....	25
3.7.3.	L'efflux de sodium.....	25
3.7.4.	Compartimentation vacuolaires de sodium :.....	26
3.7.5.	Prélèvement de potassium :.....	26
3.8.	Les plantes face aux stress salin.....	27
3.8.1.	Signalisation cellulaires :.....	27
3.8.2.	La croissance et le développement des plantes sous stress salin :.....	27
3.8.3.	Les différents types de réponse des plantes à la salinité.....	28
3.8.4.	Importance de ces mécanismes :.....	29
4.	Les ESTs: définition et importance dans la recherche des gènes de tolérance aux stress abiotiques.....	30

4.1. Définition :	30
4.2. Importance dans la recherche des gènes de tolérance aux stress abiotiques :	32
5. Banques et bases de données biologiques	34
5.1. Les bases de données utilisées en bioinformatique :	34
5.1.1. Bases de séquences nucléiques	34
5.1.2. Bases de séquences protéiques :	35
6. Logiciels pour traitement des données	37
6.1. BLAST2GO : 	37
6.2. EGAssembler : 	40
6.2.1. Définition :	40
6.2.2. Description de la canalisation :	41
6.2.3. Description de l'interface :	42
6.3. Ensembl Plants : 	43
Chapitre II : Matériel et Méthodes	45
1. Obtention des séquences des ESTs et formation des Contigs	45
2. EGAssembler va :	47
3. Identification et analyse fonctionnelle des EST-contigs	48
Chapitre III : Résultats & Discussion	49
1. RÉSULTATS	49
2. Analyse fonctionnelle des contigs	52
3. DISCUSSION	63
3.1. Gènes impliqués dans la signalisation cellulaire/la transcription et le contrôle de la croissance cellulaire	63
3.2. Gènes impliqués dans le métabolisme primaire et énergétique	66
4. CONCLUSION	71
Références bibliographiques	72

## Liste des figures:

Figure 1. Le croissant fertile.....	2
Figure 2. Plantules d'orge au stade juvénile ( <a href="http://cdn3.regie-agricole.com/ulf/TNM_Biblio/fiche_107415/fiches_bth_mars_2012_14.jpg">http://cdn3.regie-agricole.com/ulf/TNM_Biblio/fiche_107415/fiches_bth_mars_2012_14.jpg</a> ).....	3
Figure 3. Plantes d'orge au stade adulte .....	3
Figure 4. Orge à six rangs à gauche et à deux rangs à droite (Gauthier, 2010).....	4
Figure 5 Section d'orge à six rangs à gauche et d'orge à deux rangs à droite (Soltner, 2005).....	5
Figure 6. Vue ventrale et dorsale du grain de l'orge (Souilah, 2009).....	6
Figure 7. Coupe longitudinale du grain de l'orge (Guiga, 2006).....	7
Figure 8. Description morphologique d'orge à droite et de blé tendre à gauche (Souilah, 2009). .....	8
Figure 9. Épillet d'orge à deux rangs à gauche et d'orge à six rangs à droite (Soltner, 2005).....	9
Figure 10. Fleur de l'orge (Soltner, 2005).....	9
Figure 11. Glume à gauche et glumelle à droite (Souilah, 2009). .....	10
Figure 12. Epi d'orge à deux rangs (Souilah, 2009). .....	10
Figure 13. Évolution morphologique du grain de l'orge (Guiga, 2006). .....	11
Figure 14. Phase levée-début tallage ( <a href="http://www.gembloux.ulg.ac.be/pt/pic/Stades.pdf">http://www.gembloux.ulg.ac.be/pt/pic/Stades.pdf</a> ). .....	11
Figure 15. Phase début tallage- début montaison (Souilah, 2009).....	12
Figure 16. Différents stades de développement du blé tendre et de l'orge (Soltner, 2005).....	13
Figure 17. Principaux importateurs d'orge (AMPROU et al., 2016). .....	14
Figure 18. Evolution du bilan mondial d'orge (Crystel, 2014). .....	14
Figure 19. Production mondiale de l'orge (FAO, 2014).....	15
Figure 20. Diminution du pourcentage de germination avec l'augmentation de la salinité (Chamekh, 2010)	19
Figure 21. Développement racinaire du blé en situation de stress (A) ou normal (B).....	20
Figure 22. Classification des plantes selon leur niveau de tolérance à la salinité en fonction de la concentration en sel (Munns & Tester 2008) .....	22
Figure 23. Les points de contrôle et de la régulation de transport du sel au niveau de la plante (Munns, 2002) .....	24
Figure 24. Les transporteurs ioniques de Na <sup>+</sup> au niveau cellulaire (Mansour et al., 2003).....	26
Figure 25. Signalisation cellulaire du stress salin (Zhu, 2003).....	27
Figure 26. Schéma des deux phases de développement des plantes tolérantes et sensible sous stress salin (Munns, 2002) .....	28
Figure 27. Phases d'un projet EST (Tagu, 2003). .....	31
Figure 28. Représentation des différents niveaux d'annotation (Stein, 2001).....	32
Figure 29. Vue d'ensemble de l'application ( <a href="http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/21/18/3674/F1.large.jpg">http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/21/18/3674/F1.large.jpg</a> ).....	39
Figure 30. Processus d'EGAssembler ( <a href="http://www.genome.jp/tools/egassembler/img/EGassembler-tutorial-3-Figure-1.jpg">http://www.genome.jp/tools/egassembler/img/EGassembler-tutorial-3-Figure-1.jpg</a> ).....	41

Figure 31. Page d'accueil d'EGassembler.....	42
Figure 32. Page d'accueil d'Ensembl Plants .....	44
Figure 33: Obtention des ESTs depuis NCBI ((1)Rendez-vous sur www.ncbi.nlm.nih.gov (2)depuis le menu déroulant sélectionner "EST"(3)dans la boite de recherche tapez votre requête(4)appuyez sur "Search"(5)résultats de la recherche(6)pour télécharger les séquences appuyez sur "Send to"(7)choisissez "File"(8)choisissez le format "FASTA"(9)choisissez l'ordre de tri des séquences(10)appuyez sur "Create File" pour télécharger le fichier.).....	45
Figure 34. Chargement du fichier FASTA sur EGassembler (1) tapez un nom pour le projet (2) fournir un @mail vers lequel les résultats seront envoyés (3) nom du fichier à charger (4) Options pour l'élimination des séquences des contaminants. ....	46
Figure 35. Chargement du fichier FASTA sur EGassembler (5) Options pour l'élimination de répétitions (6) Options pour l'élimination du vecteur .....	46
Figure 36: Chargement du fichier FASTA sur EGassembler (7) Options pour l'élimination de l'organelle (8) Options pour la formation des contigs .....	47
Figure 37. Résultats pour l'élimination des séquences non valides .....	49
Figure 38. Résultats pour l'élimination des répétitions .....	50
Figure 39. Résultats pour l'élimination des répétitions .....	50
Figure 40. Élimination des séquences propres aux vecteurs et aux organelles .....	51
Figure 41. Formation des contigs .....	51
Figure 42. Relation entre le nombre des termes GO et le nombre des contigs.....	52
Figure 43. Classification des contigs selon la fonction des protéines qu'ils représentent.....	53
Figure 44. Métabolisme de la proline et l'arginine.....	60
Figure 45. Métabolisme de l'Acide Ascorbique (vitamine C).....	61
Figure 46. Métabolisme du Glutathion .....	62

## Liste des tableaux:

Tableau 1. Classification de l'orge .....	2
Tableau 2: Classification et description fonctionnelles des protéines (gènes) identifiées.....	54

## Résumé

L'orge est souvent affectée par le stress salin. Ainsi, le présent travail se rapporte à la prédiction et l'annotation des gènes intervenants dans les mécanismes de tolérance au stress salin chez l'orge. Afin d'identifier ces gènes, 2037 ESTs, extraites de plantes d'orge exposées à un stress salin, ont été téléchargées depuis NCBI (21/03/2016). Ces ESTs ont été assemblées dans 188 contigs (unigenes). Les fonctions moléculaires ont été obtenues seulement pour 154 contigs par ontologie des gènes (GO). Ces résultats présument l'intervention potentielle de ces gènes dans les mécanismes de tolérance au stress salin, et par conséquent, ils peuvent être utiles dans les programmes d'amélioration génétique visant l'obtention de plantes/variétés tolérantes à la salinité.

**Mots clés :** *Hordeum vulgare*, Stress salin, analyse des ESTs, NCBI, Gènes de réponse à la salinité.

## Abstract

Barley is obviously affected by salt stress. This work aim to the reconstruction and the annotation of genes involved in the salt stress tolerance mechanisms in barley. In order to identify these salt-responsive genes, 2037 ESTs, extracted from barley plants exposed to salt stress, were downloaded from NCBI (21/03/2016). These ESTs were clustered and assembled in 188 contigs (or unigenes). Molecular functions were assigned only to 154 EST-contigs based on Gene Ontology (GO). The results claim the potential involvement of these genes in the mechanisms of salt tolerance and therefore, can be useful in the research programs aiming at obtaining tolerant plants/varieties to salinity.

**Keywords:** *Hordeum vulgare*, Salt stress, ESTs analysis, NCBI, Salt-responsive genes

## ملخص

كثيرا ما يتضرر الشعير من زيادة ملوحة التربة. يهدف هذا العمل إلى إعادة بناء وتسمية الجينات التي تتدخل في آليات مقاومة الملوحة عند الشعير في محاولة لتحديد هذه الجينات. لهذا الغرض تم تحميل من موقع NCBI 2037 « ESTs », استخلصت من نباتات الشعير بعد تعريضها لإجهاد ملحي. تم تجميع سلاسل « EST » في 188-contigs وقد تم الحصول على الوظائف البيولوجية لـ 154-contigs فقط بفضل انطولوجيا الجينات (GO). من خلال هذه الدراسة يمكن القول أن هذه الجينات تتدخل في آلية مقاومة الملوحة لذا يمكن أن تكون مفيدة في برامج البحوث التي تهدف إلى الحصول على نباتات/أصناف متحملة للملوحة.

**الكلمات المفتاحية:** الشعير، الإجهاد الملحي، تحليل الـ ESTs، NCBI، جينات الاستجابة للملوحة.

## **Introduction Générale :**

Le développement de variétés tolérantes au stress salin est l'un des défis majeurs des programmes de sélection visant l'amélioration de la production de l'orge depuis plusieurs années (El-Sayed & Khodier, 2000 ; Rasmusson, 1992).

Le problème principal dans l'approche de sélection traditionnelle ou classique est le manque de la compréhension des mécanismes génétiques sous-tendant la tolérance au stress salin. Il est ainsi important d'étudier les mécanismes de la tolérance au stress salin au niveau moléculaire et identifier les gènes intervenants dans ces mécanismes en se basant sur leurs niveaux d'expression en conditions de stress salin, pour avoir, par conséquent, la possibilité de développer des variétés d'orge tolérantes au stress salin (Blumwald et al., 2004).

L'identification des gènes fortement exprimés dans des conditions de salinité fournit une compréhension plus complète des réponses transcriptionnelles au stress salin et aide dans l'identification des promoteurs qui réagissent à ce stress. Ces gènes identifiés fourniront les moyens pour l'amélioration des mécanismes de résistance de l'orge au stress salin, à travers le génie génétique (Houde et al., 2006).

Dans la présente étude, basée sur les marqueurs de séquences exprimées (ESTs), une tentative a été faite pour identifier des gènes candidats putatifs exprimés au cours d'un stress salin. Afin d'identifier le rôle de ces gènes dans le mécanisme de réponse au stress salin, une analyse fonctionnelle a été également réalisée.

Les résultats de la présente étude seront d'une grande utilité pour la création de variétés résistantes à la salinité, aussi bien pour l'orge que pour les autres récoltes d'hivers notamment les blés.

## **Chapitre I: Analyse Bibliographique**

### **1. Introduction :**

La production en grains est un caractère complexe qui dépend d'un grand nombre de facteurs inhérents à l'environnement et à la plante elle-même.

Ainsi, **Evans & Fischer en (1999)** définissent le potentiel de production d'un cultivar comme étant la production de ce cultivar dans son environnement sans limitation de nutriments et d'eau et en absence d'insectes, de maladies, de mauvaises herbes et autres stress contrôlables.

De même, **Gooding et al. en (2002)** rapportent que la production en grains du blé est largement dépendante de la biomasse totale sous des conditions favorables. Dans le même contexte, **Alam et al. en (2007)**, rapportent que le nombre de talles, d'épis fertiles, d'épillets par épi, et de grains par épi sont déterminants dans la définition du potentiel de production d'un cultivar.

Cependant, ces constatations ne sont pas toujours vraies si les conditions de l'environnement deviennent défavorables. Ainsi, **Ben Naceur et al., 2001** étudient le comportement des céréales sous contrainte saline, ont montré qu'on pourrait avoir un nombre de grains/épi élevé mais avec des grains échaudés et mal remplis. En effet, il est vrai que la modification d'un facteur de production, au cours du cycle de développement de la plante (stress quelconque), sans variation compensatrice des autres, provoque souvent un changement du rendement.

Une des conditions défavorables est la salinisation qui représente le majeur facteur influençant la croissance et la production des plantes dans les régions arides et semi-arides. La salinisation de la zone racinaire s'empile naturellement avec l'utilisation de l'eau de qualité marginale ou avec l'intensification du déficit hydrique (**Dudley & Shani, 2003**) est à pour conséquence la réduction de la production (**Maricle & Lee, 2006**).

L'orge est la céréale la plus cultivée sur les terres affectées par le sel et/ou le déficit hydrique marqué (**Demiral et al. 2005**). La salinité ralentie la germination, réduit le nombre de talles et par la même voie réduit le rendement (**El-Sayed & Khodier, 2000**). L'importance de l'orge n'a cessé de croître au cours de la dernière décennie tant sur le plan national que sur le plan mondial. C'est en effet la céréale dont la production mondiale a marqué la plus forte augmentation relative, et elle figure au 4<sup>ème</sup> rang après le maïs, le blé et le riz avec une production annuelle de 137 millions de tonnes (**FAO, 2007**). Toutefois, les travaux consacrés à l'orge dans le monde entier envisagent l'utilisation de cette espèce presque exclusivement pour la production du grain, et ceci principalement pour l'alimentation animale et la brasserie.

## 2. Biologie et production de l'orge

### 2.1. Généralités :

L'orge cultivée (*Hordeum vulgare* L.), de constitution génomique diploïde ( $2n=14$ ) avec plus de 39 milles gènes ou 5 milliards de paires de bases, est une espèce dont les origines remontent à celles de l'agriculture elle-même (Muñoz-Amatriaín et al., 2015). L'orge à 2 rangs, datant du néolithique, 10000 ans av. J.C., a été découverte dans le croissant fertile, au Moyen Orient (Fig. 1). Elle est considérée comme étant les restes les plus anciens de l'orge cultivée. L'orge est issue des formes sauvages de l'espèce *Hordeum spontaneum* que l'on trouve encore aujourd'hui au Moyen Orient (Bouzerzour et al., 1998; Abbas et Abdelguerfi, 2008).

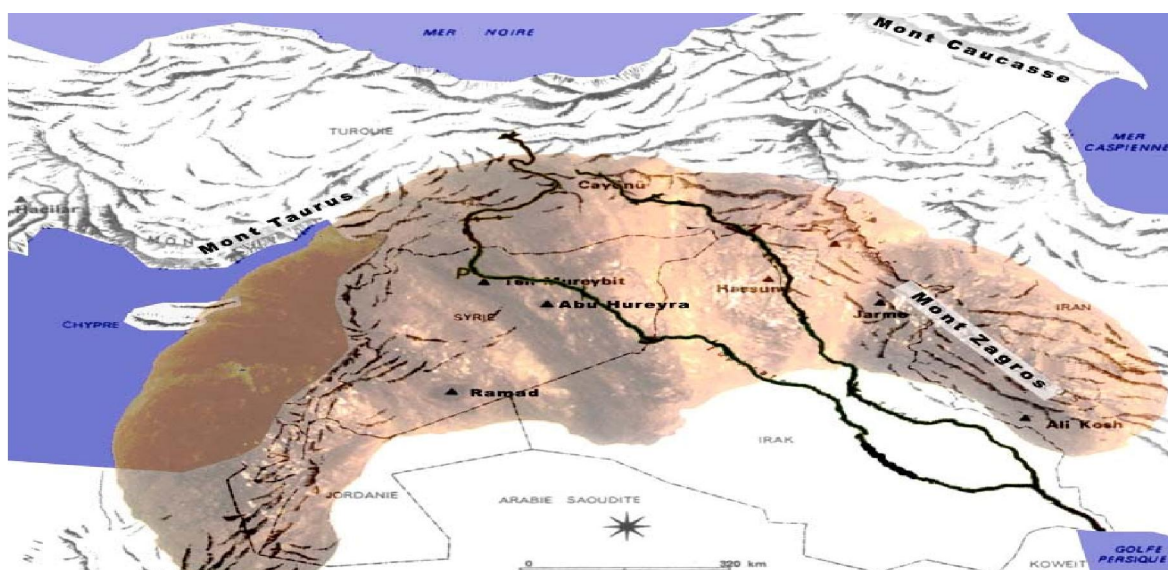


Figure 1. Le croissant fertile

(<http://www.boulangerie.net/forums/styles/bn/template/bnweb/dt/Lecroissantfertile.jpg>)

### 2.2. Classification :

Tableau 1. Classification de l'orge

Classification	Orge
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
S/Classe	Commelinidae
Ordre	Poale
Famille	Poaceae (ex Graminées)
S/Famille	Hordeoideae
Tribu	Hordeae (Hordées)
S/Tribu	Hordeinae
Genre	<i>Hordeum</i>
Espèce	<i>Hordeum vulgare</i> L.

L'orge est une monocotylédone, appartenant à la famille des *Poaceae*. Sa classification est basée sur la fertilité des épillets latéraux, la densité de l'épi et la présence ou l'absence des barbes.

Au stade herbacé, elle se distingue principalement des autres céréales par un feuillage vert clair, la présence d'une ligule très développée, des oreillettes glabres et un fort tallage herbacé (Fig. 2). L'inflorescence est un épi, le plus souvent barbu (Fig. 3). Le rachis porte sur chaque article trois épillets mono-flore, un médian et deux latéraux. Le grain est vêtu par des glumelles qui ne s'en séparent pas lors du battage, ce qui améliore la teneur en cellulose brute.



**Figure 2. Plantules d'orge au stade juvénile ([http://cdn3.regie-agricole.com/ulf/TNM Biblio/fiche 107415/fiches bth mars 2012 14.jpg](http://cdn3.regie-agricole.com/ulf/TNM_Biblio/fiche_107415/fiches_bth_mars_2012_14.jpg))**

L'orge est une espèce très adaptée aux systèmes de cultures pratiqués en zones sèches. Cette adaptation est liée à un cycle de développement plus court et à une meilleure vitesse de croissance en début du cycle. La culture de l'orge s'insère bien dans les milieux caractérisés par une grande variabilité climatique où elle constitue avec l'élevage ovin l'essentiel de l'activité agricole (Bouzerzour et al., 1998). Grillot en 1959 classe les orges selon le degré de fertilité des épillets et la compacité de l'épi en deux groupes (Fig. 4).



**Figure 3. Plantes d'orge au stade adulte**

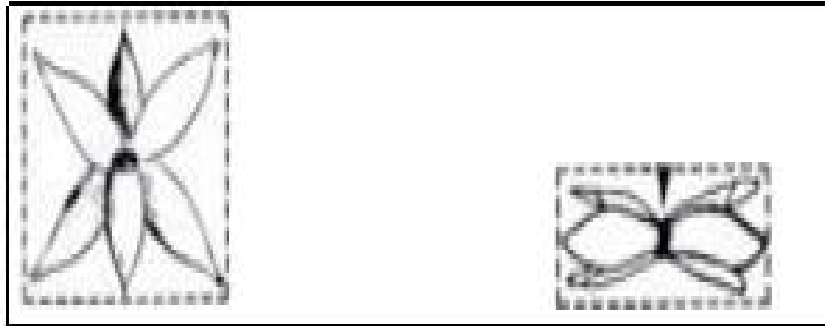
(<http://img.deco.fr/029E017005935500-c1-photo-oYToxOntzOjE6InciO2k6NjcwO30%3D-orge.jpg>)

- le groupe des orges à six rangs dont les épillets médians et latéraux sont fertiles et qui se subdivise selon le degré de compacité de l'épi en :
  - ✓ *Hordeum hexastichum* L. (escourgeon) a un épi compact composé sur chaque axe du rachis de 3 épillets fertiles.
  - ✓ *Hordeum tétrastichum* L. a un épi lâche composé sur chaque axe du rachis de 2 épillets fertiles.
- le groupe des orges à 2 rangs dont les épillets médians seuls sont fertiles. Ce sont :
  - ✓ *Hordeum distichum* L. a un épi aplati et lâche composé de deux rangées d'épillets fertiles, sur chaque axe du rachis, entouré de 4 épillets stériles.



Figure 4. Orge à six rangs à gauche et à deux rangs à droite (Gauthier, 2010)

Au niveau de l'espèce *Hordeum vulgare* L. on distingue les types Pallidum, dont l'épi est de faible densité à section rectangulaire, ce sont les orges à quatre rangs et les types *Parallelum* et *Pyramidatum*, dont les épis sont plus denses à section hexagonale dites orges à six rangs (Fig. 5).



**Figure 5** Section d'orge à six rangs à gauche et d'orge à deux rangs à droite (Soltner, 2005)

Quant à **Soltner (2005)** il classe les orges selon leur milieu de culture en trois groupes qui sont :

- **Les orges d'hiver** dont le cycle de développement varie de 240 à 265 jours, s'implantent en automne. Ces orges ont besoin pour assurer leur montaison, de température vernalisante qui manifeste un degré plus au moins élevé de résistance au froid hivernal
- **Les orges de printemps** dont le cycle de développement est très court (environ 120 à 150 jours), s'implantent au printemps.

Ces orges n'ont aucun besoin de vernalisation pour assurer leur montaison.

- **Les orges alternatives** qui sont intermédiaires au plan tolérance au froid, entre les orges d'hiver et celles de printemps.

## 2.3. Biologie :

### 2.3.1. Grain de l'orge

Le grain est un caryopse de section arrondie ou ovale, de poids moyen variable selon les espèces et les variétés. Dans le cas de l'orge, le grain est vêtu dans la mesure où il reste inséré dans les glumelles au cours de la dissémination où la glumelle inférieure correspond à la face dorsale du grain. Il présente une nervure médiane et deux nervures latérales dorsales. Elle est prolongée par une barbe. Alors, que la glumelle supérieure correspond à la face ventrale du grain. Celui-ci présente une dépression ou sillon à la base duquel est insérée une baguette (Fig. 6)

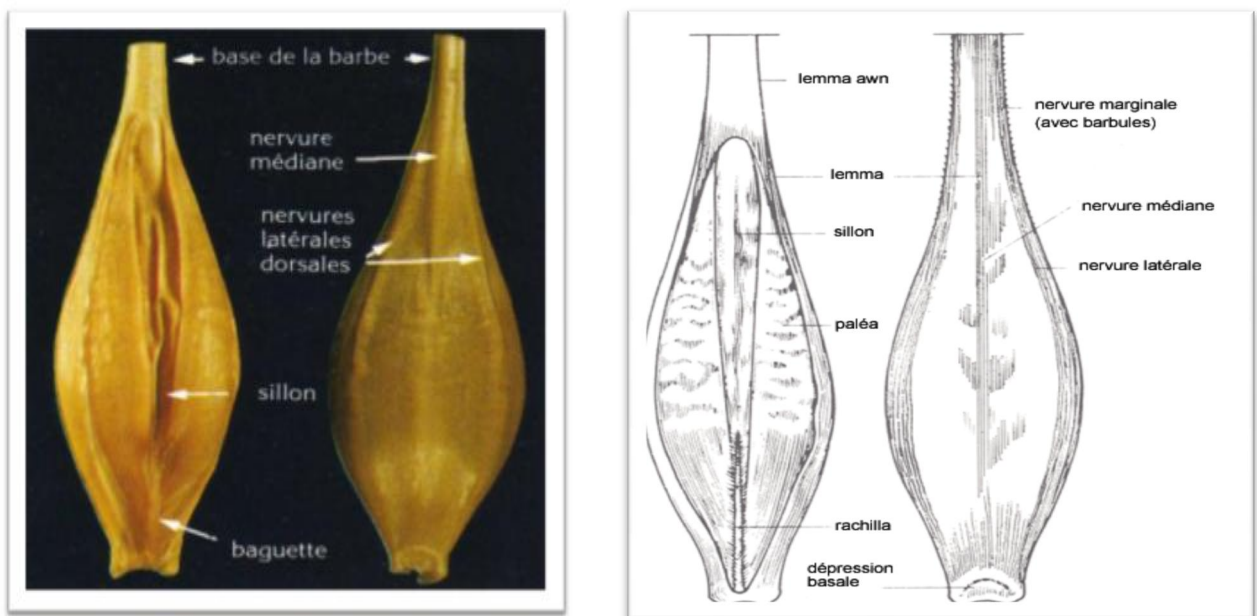


Figure 6. Vue ventrale et dorsale du grain de l'orge (Souilah, 2009)

La coupe longitudinale de grain de l'orge révèle de l'extérieur vers l'intérieur les parties suivantes (Fig. 7) :

- **Le péricarpe ou l'enveloppe** il est constitué de l'extérieur vers l'intérieur par le péricarpe (parois de l'ovaire), le tégument, et l'assise protéique.
- **L'endosperme ou l'amande** constitue presque tout l'intérieur du grain et se compose principalement de minuscules grains d'amidon. Le blé tendre possède une amande farineuse de couleur blanche.
- **Le germe ou l'embryon** comprend 2 parties : la plantule (future plante) et le cotylédon (réserve de nourriture très facilement assimilable, destinée à la plantule) qui contient l'essentiel des matières grasses du grain.

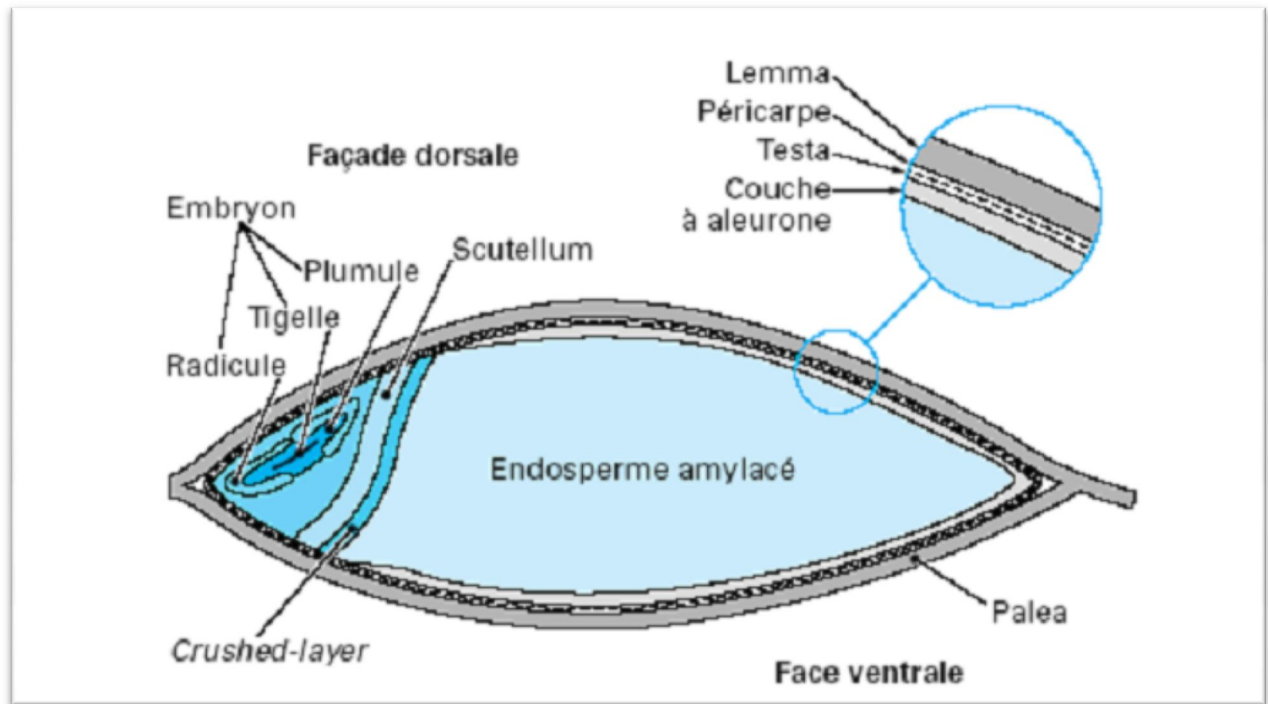


Figure 7. Coupe longitudinale du grain de l'orge (Guiga, 2006).

### 2.3.2. Appareil végétatif

#### ➤ La partie aérienne

Il est formé d'un certain nombre d'unités biologiques ou des ramifications appelées talles. Ces ramifications partent toutes d'une zone, appelée court-nouée située à la base de la tige : le plateau de tallage. L'orge (*Hordeum vulgare* L.) est caractérisée par un nombre de talles élevé.

La tige est creuse et formée d'entre-nœuds, séparées par des nœuds, zones méristématiques à partir desquelles s'allongent les entre-nœuds et se différencient les feuilles. Chaque nœud est le point d'attache d'une feuille. La hauteur de la tige varie selon les espèces, les variétés, et les conditions de culture. Chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.) elle s'étend entre 60 cm à 150 cm (Soltner, 1990)

Les feuilles sont alternes, longues, étroites et à nervures parallèles. Chaque feuille comprend deux parties : une portion inférieure enveloppant l'entre-nœud correspondant à la gaine, et une portion supérieure, le limbe.

Les gaines, attachées au niveau des nœuds, sont emboîtées les unes dans les autres et forment un tube cylindrique entourant la tige qui se déboîte au fur et à mesure de la croissance des entre-nœuds. A la jonction du limbe et de la gaine, on rencontre une petite membrane non vasculaire, plus au moins longue et dentelée, la ligule. De chaque côté de celle-ci, à la base du limbe se trouvent deux stipules appelées oreillettes plus au moins embrassantes (Soltner, 1990).

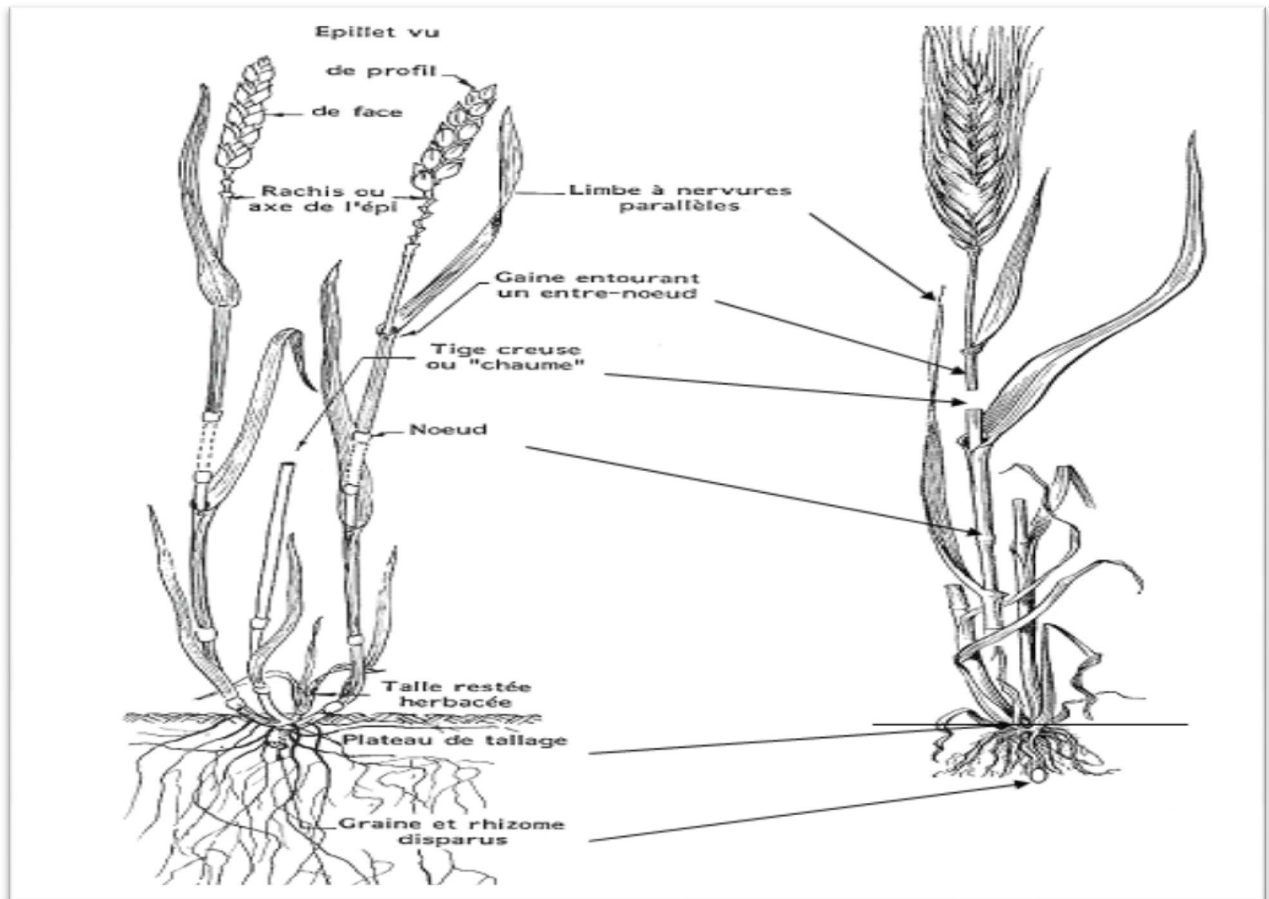


Figure 8. Description morphologique d'orge à droite et de blé tendre à gauche (Souilah, 2009).

#### ➤ La partie racinaire

Il est composé de deux systèmes racinaires successifs :

- Un système séminal, fonctionnel seul de la levée au début du tallage. Les racines de ce système sont au nombre de six, rarement sept (Hazmoune, 2006).
- Un système adventif ou coronal, apparaissant au moment où la plante émet ses talles. Ce système se substitue progressivement au précédent durant l'avancement du cycle biologique des céréales à paille. Il est de type fasciculé (Soltner, 2005).

#### 2.3.3. Appareil reproducteur

L'inflorescence est de type racème C'est donc une grappe dont les fleurs sont sans pédoncules ; elle est appelée épi terminal chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.). C'est une inflorescence indéfinie qui termine l'appareil végétatif. L'unité morphologique de base de l'épi est l'épillet (Fig. 9). L'ensemble des épillets est inclus dans deux bractées ou glumes (inférieure et supérieure). Le nombre de fleurs fertiles par épillet varie selon l'espèce : chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.) il est de 1 à 3. Les épillets latéraux atrophiés des orges à 2 rangs sont le plus souvent stériles (Gallais & Bannerot, 1992).

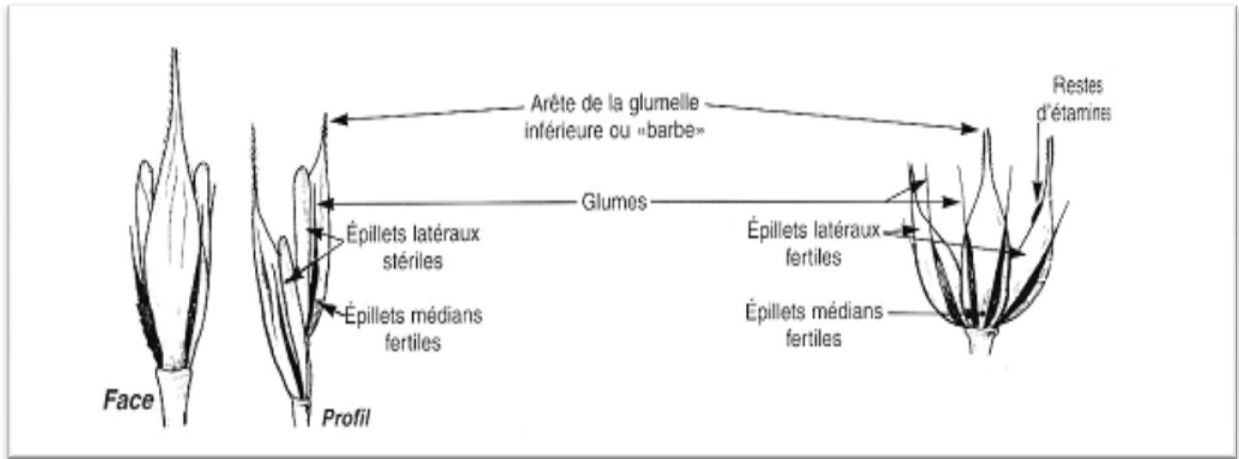


Figure 9. Épillet d'orge à deux rangs à gauche et d'orge à six rangs à droite (Soltner, 2005)

Chaque fleur est hermaphrodite et protégée par 2 glumelles (inférieure et supérieure), et comprend un ovaire possédant un seul ovule, un stigmate divisé (bifide) plumeux et 3 étamines (Fig. 10).

Chaque glume ou glumelle est formée d'une aile développée et d'une aile réduite séparées par une nervure appelée Carène (Fig. 11). La carène est prolongée à sa partie supérieure par un bec.

A la base de ce bec, sur l'aile développée, on trouve une plage de forme et de dimension variables appelée troncature. Chaque glumelle est formée d'un corps, d'un col et d'un bec (Souilah, 2009).

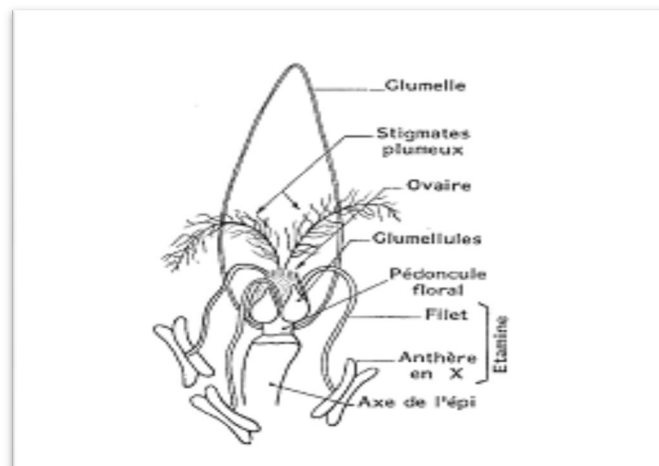


Figure 10. Fleur de l'orge (Soltner, 2005)

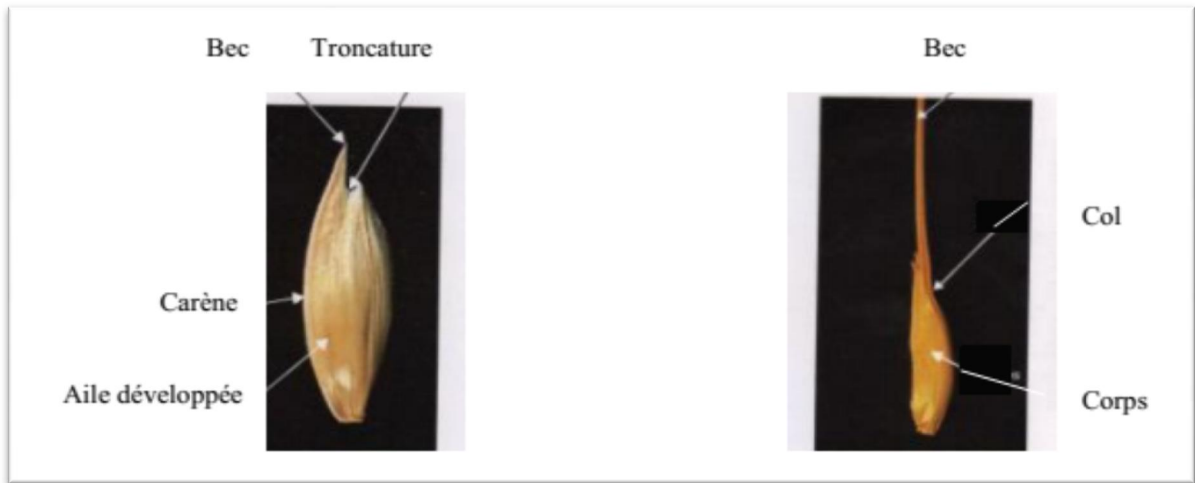


Figure 11. Glume à gauche et glumelle à droite (Souilah, 2009).

L'épi est composé d'un certain nombre d'épillets groupés par trois et insérés alternativement le long de l'axe de l'épi ou rachis (Fig. 12).



Figure 12. Epi d'orge à deux rangs (Souilah, 2009).

Le rachis lui-même composé d'une suite d'articles.

Chez le blé tendre un seul épillet est inséré à chaque article alors que l'orge comporte 2 épillets par article. L'épi est rattaché à la tige par son premier article. La partie supérieure de la tige ou col de l'épi se termine par un rebord ou collerette. On désigne par tiers moyens de l'épi la partie médiane de l'épi (Souilah, 2009).

#### 2.3.4. Cycle biologique de développement de l'orge :

L'orge est une plante annuelle herbacée, effectuant son cycle évolutif en trois grandes périodes (période végétative, période reproductrice et période de maturation) (Fig. 16).

Ces phases sont marquées par plusieurs stades :

➤ **La période végétative :**

Qui s'étend de la germination au tallage. Cette période elle-même subdivise en trois stades principaux :

- ✓ **Phase semis-levée :** Elle débute par le passage du grain de l'état de vie ralentie à l'état de vie active au cours de la germination qui se traduit par l'émergence de la radicule et des racines séminales et celle de la coléoptile (Fig. 13). Dès que la première feuille a percé la coléoptile, ce dernier s'arrête de croître et se dessèche. La réalisation de cette phase est sous la dépendance de facteurs propres à la semence (faculté et énergie germinatives) et de facteurs extérieurs (température et humidité du sol). Le zéro de germination de l'orge est de 0°C (Clément, 1981).

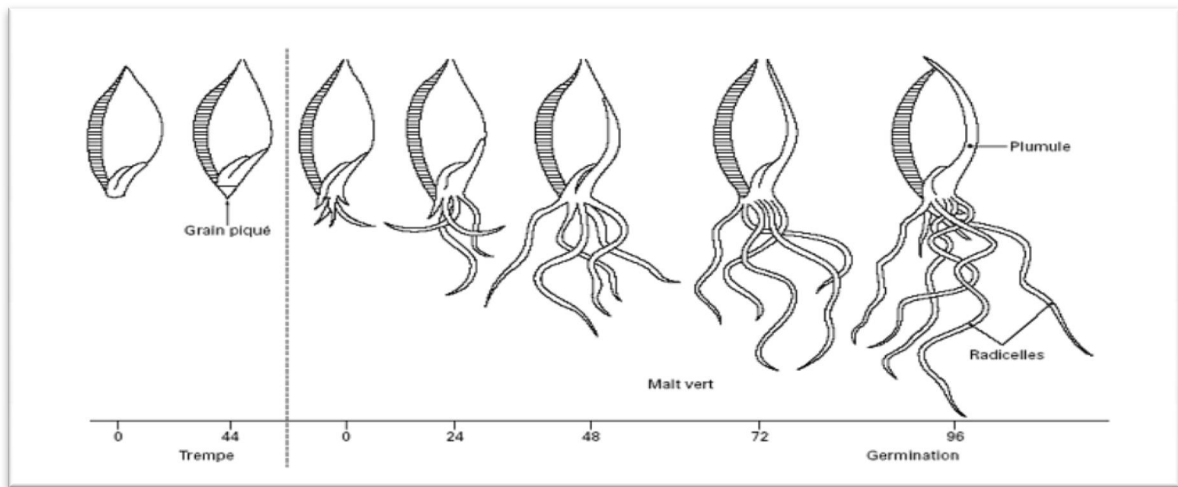


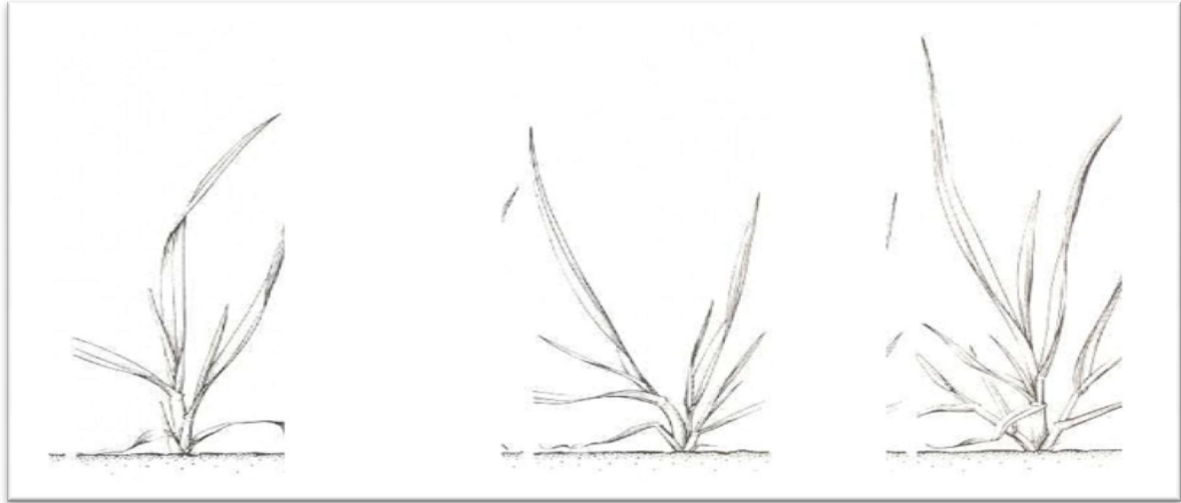
Figure 13. Évolution morphologique du grain de l'orge (Guiga, 2006).

- ✓ **Phase levée-début tallage :** La première feuille fonctionnelle s'allonge, puis la deuxième, jusqu'à la quatrième toutes en position alterne (Fig. 14). Celles-ci, imbriquées les unes dans les autres, partant toutes d'une zone située au proche de la surface du sol appelée plateau de tallage, constituée par l'empilement d'un certain nombre d'entre-nœuds et reliées à la semence par le rhizome (Clément, 1981).



Figure 14. Phase levée-début tallage (<http://www.gembloux.ulg.ac.be/pt/pic/Stades.pdf>).

- ✓ **Phase début tallage- début montaison :** Elle se caractérise par l'entrée en croissance des bourgeons différenciés à l'aisselle de la première feuille, dont le bourgeon donnera le maître brin (Fig. 15). Le nombre de talles émises par plante est fonction de l'espèce (l'orge talle beaucoup plus que le blé tendre), de la variété, du climat, de l'alimentation de la plante en azote, de la profondeur de semis (Soltner, 1990).



**Figure 15. Phase début tallage- début montaison (Souilah, 2009).**

➤ **La période reproductrice**

Selon **Boufenar & Zaghouane (2006)** le début de cette phase est marqué par une différenciation de l'ébauche d'épillet sur l'apex (stade A), ce stade marque la transformation du bourgeon végétatif en bourgeon floral. Le stade B est repéré par l'apparition de deux renflements latéraux qui apparaissent sur l'épillet, ce sont les ébauches des glumes.

Dès le début de la montaison, on assiste à une différenciation des pièces florales : glumelles (inférieure et supérieure), organes sexuels (étamines et stigmate); et en parallèle, la tige et l'inflorescence s'allongent. Les apex des talles différencient des ébauches d'épillets puis des pièces florales et montent. C'est le tallage épi.

Au stade gonflement, l'inflorescence monte en grossissement dans les gaines des différentes feuilles. Ainsi, la gaine de la dernière feuille s'allonge et gonfle. Peu après, l'inflorescence l'épi sort de la gaine de la dernière feuille : c'est le stade épiaison. La fécondation et l'anthèse suivent de quelques jours l'épiaison.

➤ **La période de maturation**

Au cours de cette dernière période, l'embryon se développe et l'albumen se charge de substances de réserves.

On observe une augmentation du volume et du poids des grains. La phase se termine par le stade laiteux (le grain s'écrase facilement en laissant apparaître un liquide blanchâtre).

Ensuite, le poids frais des grains continue à augmenter alors que celui des tiges et des feuilles diminue. La phase se termine par le stade pâteux. Le grain à ce stade s'écrase en formant une pâte.

Enfin, le grain devient dur et de couleur jaunâtre. C'est le stade de la maturation physiologique (Boufenar et Zaghouane, 2006).

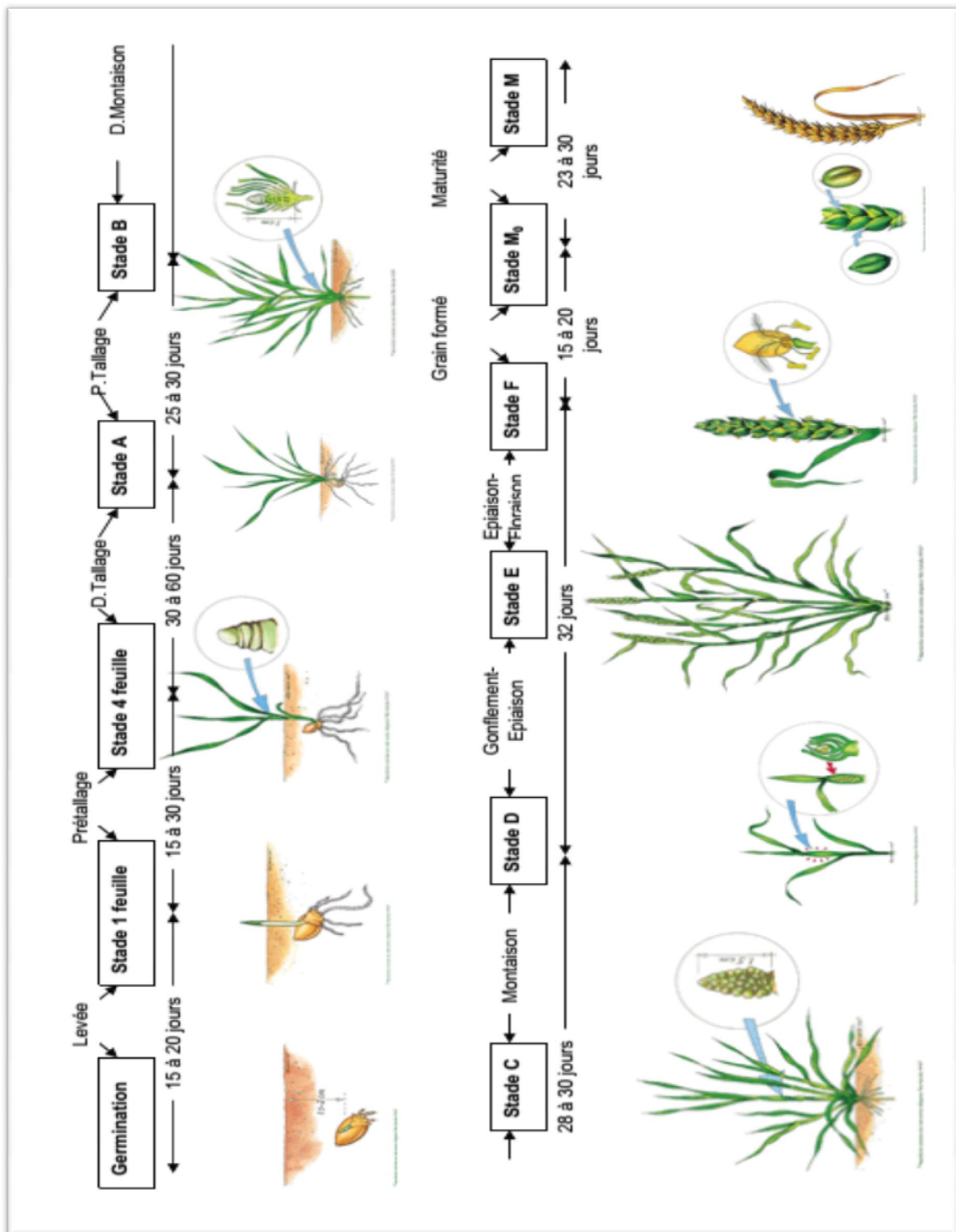


Figure 16. Différents stades de développement du blé tendre et de l'orge (Soltner, 2005)

## 2.4. Production de l'orge

La production mondiale d'orge (Fig. 19) progresse de 3 % en 2015-16 pour atteindre 146 Mt. La récolte progresse sensiblement au Canada, aux Etats-Unis, en Argentine, et recule en Russie. En dépit du recul de la demande chinoise en orge fourragère (mesures en faveur de la consommation de maïs), la consommation mondiale d'orge devrait légèrement progresser à 142 Mt. Les utilisations pour la fabrication de bière sont quasiment stables par rapport à 2014-15 (21 % de la demande totale) (AMPROU et al., 2016).

Le repli des importations chinoises impacte la dynamique des échanges mondiaux qui reculent de 14 % en 2015-16 malgré le redressement attendu de la demande de l'Arabie Saoudite (Fig. 17). Les stocks mondiaux devraient croître de 13 % pour s'établir à 29 Mt (Fig. 18) (Amprou et al., 2016).

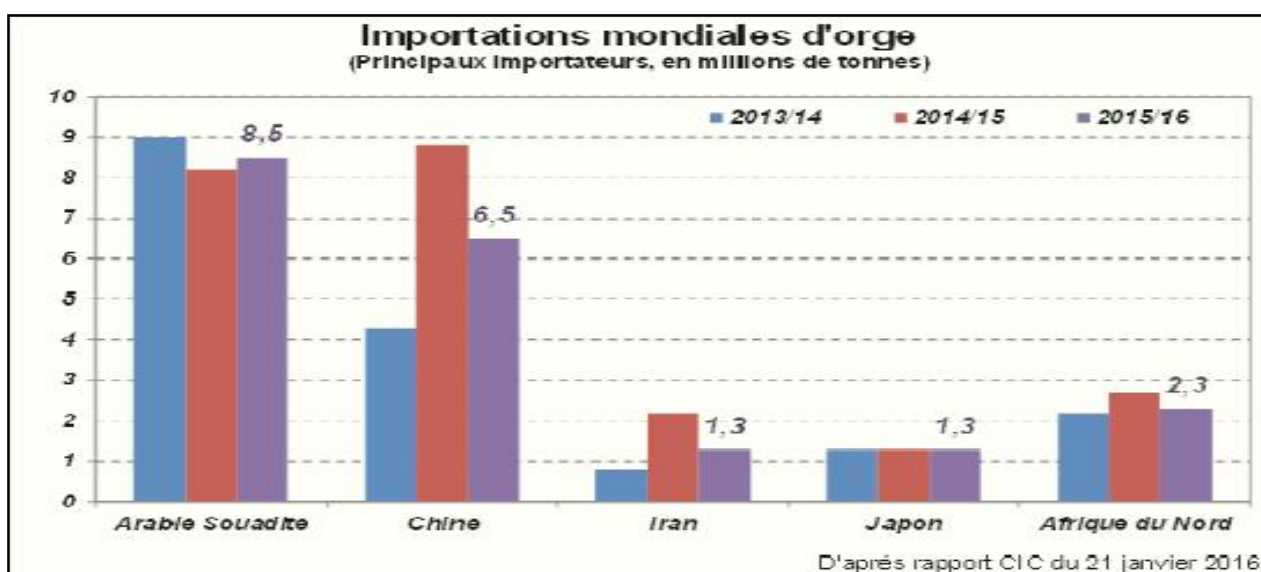


Figure 17. Principaux importateurs d'orge (AMPROU et al., 2016).

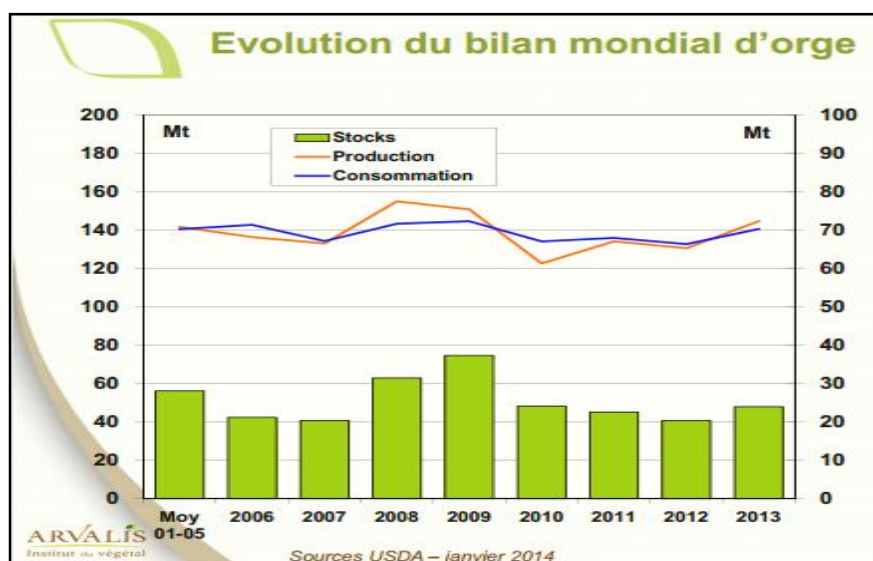


Figure 18. Evolution du bilan mondial d'orge (Crystel, 2014).

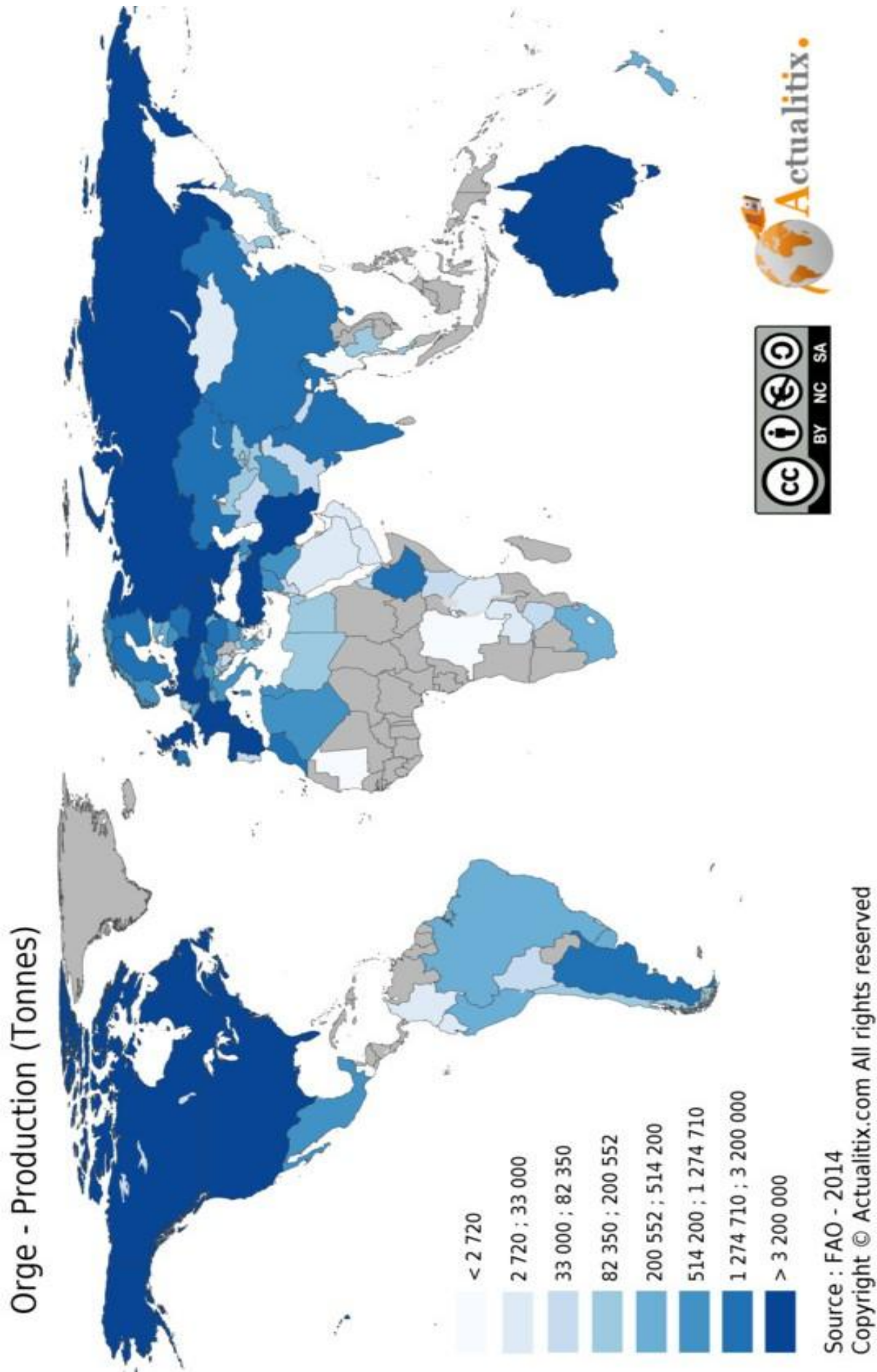


Figure 19. Production mondiale de l'orge (FAO, 2014)

### **3. Impact du stress salin sur la croissance et la production de l'orge**

#### **3.1. Introduction :**

Les stress environnementaux tels que le déficit hydrique, les hautes températures, le stress salin et d'autres, affectent la croissance et le rendement des plantes. Cependant, les plantes ont développé des stratégies d'adaptation pour répondre à ces changements en ajustant leurs systèmes métaboliques.

La définition du stress chez les plantes apparaît avec des significations différentes en biologie, qui convergent principalement en attribuant le stress à n'importe quel facteur environnemental défavorable pour une plante. En conséquence, la capacité d'une plante à survivre à un facteur défavorable est appelée la résistance ou la tolérance au stress.

#### **3.2. Définition de la salinisation :**

La salinisation est un processus d'enrichissement du sol en sels solubles qui aboutit à la formation d'un sol salin. Généralement, le monde perd en moyenne 10 ha de terres cultivables par minute dont 3 ha (plus de 1,5Mha par an) à cause de la salinisation (**Kovda, 1983**). Aujourd'hui, il y a à peu près 400Mha des terres qui sont affectées par la salinisation. En Afrique, près de 40Mha sont affectés par la salinisation, soit près de 2% de la surface totale.

#### **3.3. Origine de la salinité :**

La salinisation des terres est à 80% d'origine naturelle. On parle alors de salinisation "primaire", due aux sels se formant lors de l'altération des roches ou à des apports naturels externes, alors que 20% des terres salinisées ont une origine "anthropique". On parle alors de la salinisation "secondaire", induite par l'activité humaine, liée aux pratiques agricoles et en particulier à l'irrigation (**FAO, 2008**).

##### **3.3.1. La salinité primaire**

La salinité primaire ou naturelle est le résultat de l'accumulation des sels sur une longue période de temps, dans le sol ou les eaux souterraines, elle est causée par trois processus naturels. Le premier est l'altération des roches mères solubles, qui se décomposent et libèrent des sels solubles de divers types, principalement les chlorures de sodium qui est le plus soluble. Le deuxième est le dépôt des sels océaniques par le vent et la pluie : Sels cycliques. Le troisième l'intrusion de l'eau de mer dans les nappes près des côtes est dû à une inversion du gradient hydraulique à cause de la surexploitation des nappes souterraines (**Li et al., 2007**).

L'utilisation de l'eau de cette nappe à des fins d'irrigation entraîne l'intrusion de l'eau saline près de la zone racinaire, la quantité de sel stocké dans le sol varie en fonction du type de sol, elle est faible pour les sols sableux et élevée pour les sols argileux. Elle est également inversement proportionnelle à la pluviométrie moyenne annuelle.

### 3.3.2. La salinité secondaire :

La salinisation secondaire est le résultat des activités humaines qui modifient l'équilibre hydrologique du sol entre l'eau appliquée (irrigation ou de pluie) et l'eau utilisée par les cultures (transpiration). Les causes les plus communes sont le défrichement et le remplacement de la végétation pérenne par les cultures annuelles, ainsi que les systèmes d'irrigation utilisant l'eau riche en sels ou ayant un drainage insuffisant. Selon la (FAO 2007), la totalité des terres irriguées dans le monde est de 230 millions d'hectares, 45 millions d'hectares sont touchés par la salinité (19,5 %) et sur 1500 millions d'hectares de terres agricole arides, 32 millions d'hectares (2%) sont devenus salins, à cause de la salinisation secondaire.

### 3.4. Composantes de la salinité :

Les données classiques sur les effets de la salinité chez les plantes mettent en relief quatre principales composantes par lesquelles la salinité affecte la croissance : le stress osmotique, le stress ionique, le stress nutritionnel et le stress oxydatif (Guetadahan *et al.*, 1997).

#### 3.4.1. Le stress osmotique :

La première conséquence de la salinisation tient à la modification du potentiel osmotique de la solution du sol, lorsque la teneur en sels croît (Cheverry *et al.* 1993).

Plus la solution du sol est salée, plus la pression osmotique est élevée et plus il est difficile pour les racines d'extraire l'eau de la réserve du sol, il en résulte un ralentissement de la croissance. La concentration en sels dépend de la teneur en eau du sol et augmente avec le dessèchement. C'est pourquoi l'excès de sels qui affecte les plantes est atteint beaucoup plus rapidement dans un sol sableux que dans un sol argileux qui piège les ions  $\text{Na}^+$  via les charges négatives de l'argile (Chinnusamy *et al.* 2005).

#### 3.4.2. Le stress ionique :

L'accumulation des ions toxiques  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  au niveau du mésophylle des feuilles, affecte la croissance et le métabolisme de la plantes. Le sel endommage les structures lipidiques et protéiques des membranes plasmiques, la présence de ces ions perturbe l'activité enzymatique cellulaire. La toxicité ionique peut être le résultat du remplacement de  $\text{K}^+$  par  $\text{Na}^+$  au niveau des sites actifs de

protéines induisant aussi un changement de structures protéiques et enzymatiques. (**Chinnusamy et Zhu, 2003**).

### **3.4.3. Le stress nutritionnel :**

La salinité n'est pas une simple affaire de concentrations élevées de Na<sup>+</sup> et de Cl<sup>-</sup>. Le calcium, le sulfate, les carbonates peuvent être présents, avec le bore ou le sélénium à des concentrations excessives. En même temps, d'autres nutriments, particulièrement le phosphore et l'azote, peuvent ne pas être présents ou disponibles en quantités suffisantes pour permettre des taux de croissance élevés (**Gorham, 1989**).

La présence de sels en excès dans le substrat de culture peut entraîner une limitation de l'alimentation en nutriments indispensables. Ce déséquilibre nutritionnel est une cause possible des réductions de croissance sur sel, lorsque des ions essentiels comme I<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup> ou NO<sub>3</sub><sup>-</sup> deviennent limitant (**Soltani et al. 1990**).

### **3.4.4. Le stress oxydatif :**

Les espèces réactives d'oxygènes (ROS) sont habituellement générées par l'activité cellulaire normale avec des faibles concentrations, comme la photo respiration et la B-oxydation des acides gras, et dans ces conditions, la plante possède des enzymes et des métabolites antioxydants suffisants pour faire face à cette faible concentration. De nombreux travaux montrent que des métabolites enzymatiques et non enzymatiques antioxydants telles que les superoxyde-dismutases (SOD), les ascorbate peroxydases (APX), les catalases (CAT), des glutathion-S-transférases (GST) et les glutathion peroxydases (GPX) s'accumulent plus pendant le stress salin (**Sudhakar et al. 2001**).

Une conséquence des stress environnementaux, comprenant le stress salin, est l'apparition du stress oxydatif c'est-à-dire l'accumulation d'espèces réactives d'oxygène (ROS) à des concentrations élevées qui endommagent les structures cellulaires. Ces derniers sont à l'origine du dysfonctionnement de l'appareil photosynthétique et les autres troubles métaboliques. La plupart d'entre eux sont des peroxydes d'hydrogène, des radicaux hydroxyles et des anions superoxyde. La tolérance des plantes à la contrainte saline est fortement corrélée à leur capacité de synthèse des antioxydants nécessaire pour faire face au ROS et de maintenir leur concentration à faible niveau dans les cellules lors du stress (**Parent et al., 2008**).

Par ailleurs (**Demiral et Turkan, 2004**) ont montré que les plantes ont développé des systèmes de défense antioxydants enzymatique et non enzymatique contre les radicaux libres en limitant leur génération.

### 3.5. Effet de la salinité sur les plantes :

La salinité constitue un facteur limitant non négligeable pour l'agriculture mondiale. L'effet de la salinité se manifeste généralement chez la plupart des plantes cultivées par un effet dépressif sur la croissance et le développement. Cet effet néfaste se traduit par des changements morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui affectent négativement la croissance et la productivité végétale.

#### 3.5.1. Effet de la salinité sur la germination et la levée :

La salinité agit sur la germination en ralentissant sa vitesse, ce qui expose plus les semences aux risques. Il a été démontré que la salinité inhibe la germination par son effet osmotique qui se traduit par la difficulté qui trouve l'embryon à absorber la quantité d'eau nécessaire pour déclencher les processus métaboliques. La germination et l'installation de la plantule s'avèrent les stades les plus sensibles pour les céréales. La salinité réduit significativement la précocité de germination des semences, alors que le pourcentage de cette dernière s'avère moins influencé par le stress salin (Fig. 20). Elle affecte tout les processus de germination suite à la baisse du potentiel hydrique autour des graines, ce qui rend l'eau inaccessible à cette dernière pour la réhydratation et la reprise de la vie active de l'embryon (Slama, 2004).

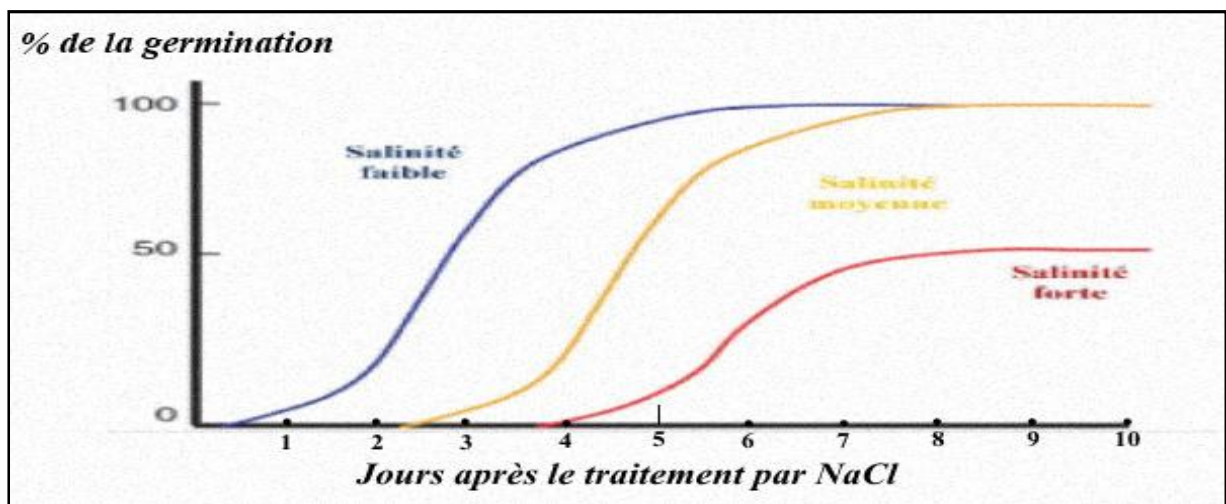


Figure 20. Diminution du pourcentage de germination avec l'augmentation de la salinité (Chamekh, 2010)

#### 3.5.2. Effet de la salinité sur l'architecture de la plante

L'architecture de la plante est profondément modifiée. Sous un stress osmotique, même très modéré et ne présentant pas de symptômes flagrants, se traduit chez beaucoup d'espèces par une modification importante de l'architecture de la plante. Chez les graminées, où le nombre de talles est réduit en cas d'un stress osmotique. Les processus mise jeu et les signalétiques sont des contrôles

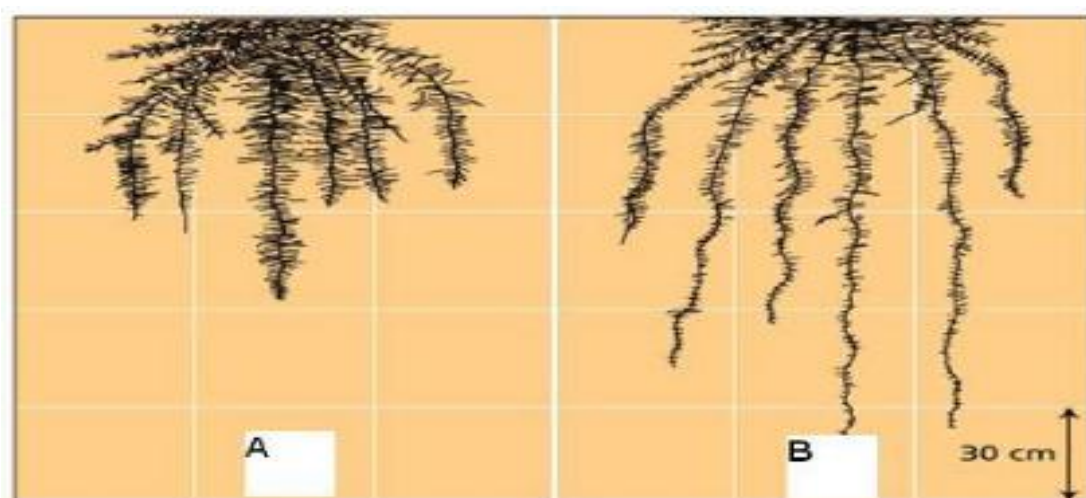
actifs de la plante mettant en jeu des signalétiques hormonales et l'expression de gènes induits par le stress, et non la conséquence passive du stress ou d'un manque de nutriments (Courtois *et al.* 2009).

### 3.5.3. Effet de la salinité sur la partie aérienne

L'effet de la salinité se traduit généralement par une réduction de la croissance végétative, qui est en fonction de la division et l'élongation cellulaire. Elle retarde la croissance des pousses qui sont plus sensible au sel que les racines, l'effet du sel se traduit généralement par une réduction de la croissance en hauteur. Pour les céréales, l'effet majeur de la salinité sur la partie aérienne se traduit par une réduction du nombre de talles et de feuilles. (Epstein & Läuchli, 1989).

### 3.5.4. Effet de la salinité sur la partie racinaire

La salinité affecte le développement de la plante en particulier la croissance des racines. La salinité augmente le rapport PR/PA. En effet, les plantes maintiennent une croissance racinaire relativement importante sous forte contrainte saline, l'augmentation du rapport PR/PA qui s'ensuit semble être associée à une augmentation de leur tolérance au sel. **Kafkai en 1991** suggère que, sous contrainte saline, la plante dépense plus d'énergie photosynthétique pour maintenir un statut hydrique élevé et pour la production de racines en vue de la recherche d'eau et/ou la réduction de la perte d'eau. Dans ces conditions, il semble que l'arrêt de la croissance foliaire soit déclenché par des signaux hormonaux et qu'une part importante des photosynthétats soit alors réallouée à la croissance racinaire. C'est l'une des réponses anatomiques clefs aux stress osmotiques chez de nombreuses espèces, dont le caractère adaptatif apparaît évident puisqu'une augmentation du ratio masse des racines/masse de la canopée maximise la surface d'absorption de l'eau en diminuant la surface d'évaporation (Fig. 21 A) (Munns, 2002).



**Figure 21. Développement racinaire du blé en situation de stress (A) ou normal (B) (Taiz & Zeiger 2006)**

### 3.5.5. Effet de la salinité sur le développement et la croissance de la plante

La salinité retarde le développement des feuilles et le tallage, mais elle pousse la plante vers la maturité des changements de développement de l'apex, lors de la croissance végétative jusqu'à la phase reproductive, a permis à ces auteurs de constater que la salinité accélère la phase reproductive. Ainsi que l'anthèse a lieu plus tôt pour les plantes sous stress, mais le tallage a été retardé de plusieurs jours. Le stress augmente le phyllochrone (l'intervalle entre l'apparence des feuilles successives sur la tige principale en fonction du temps thermique) et réduit le nombre des feuilles engagée sur la tige principale (**Munns & Rawson, 1999**).

### 3.5.6. Effet de la salinité sur les échanges gazeux et la photosynthèse

La salinité affecte l'activité physiologique de la feuille, et plus particulièrement la photosynthèse, qui présente la cause principale de la réduction de la productivité végétale. Selon **Munns & Tester (2008)** la réduction de la photosynthèse est liée à la diminution du potentiel hydrique foliaire, qui est à l'origine de la fermeture des stomates qui cause la réduction de la conductance stomatique. La diffusion du CO<sub>2</sub> à l'intérieur des stomates devient alors limitée et sa fixation au niveau des chloroplastes diminue par conséquent la régénération du RuBP (Ribulose Biphosphate) devient limitée Le contrôle et la régulation stomatique fait intervenir la turgescence cellulaire mais également des signaux racinaires, comme l'acide Abscissique (ABA). La turgescence cellulaire intervient de manière plus ou moins directe au niveau du chloroplaste : directement par le maintien du volume du chloroplaste, et indirectement, par son effet sur l'ouverture stomatique, qui contrôle la conductance, et conditionne l'utilisation de l'énergie photochimique (ATP, NADPH) dans les chloroplastes (**Orcutt & Nilsen, 2000**).

### 3.5.7. Effet de la salinité sur la physiologie de la reproduction :

La salinité réduit le taux de croissance de la plante et ses organes reproducteurs (L'effet de l'accumulation du sel dans le méristème sur la reproduction et le développement ont été étudié par **Munns & Rawson (1999)**, ils ont constaté que les courtes périodes de stress salin pendant l'organogenèse peuvent avoir des conséquences irréversibles sur la fertilité de l'épi elle provoque l'avortement des ovaires.

### 3.5.8. Effet de la salinité sur le rendement agronomique :

Les composantes du rendement tel que le nombre de talles par plante, le nombre d'épis, le nombre d'épillets par épi et le poids du grain, sont élaborés de façon séquentielle dans le temps. Les paramètres de rendement chez l'orge subissent une réduction sous l'action de la salinité et que, plus la salinité est élevée plus le rendement est réduit. De même, les travaux de **Hamdy et al. En 2005**

ont montré que le rendement en grains et le poids des grains sont significativement affectés aussi bien chez le blé que chez l'orge en condition d'irrigation avec une eau saumâtre et que la salinité a un effet néfaste sur le remobilisation des réserves au cour de la phase de remplissage des grains. Cette réduction du rendement en grains est principalement attribuée au déclin du poids de l'épi et du poids de 1000 graines.

### 3.6. Tolérance des plantes à la salinité :

**Munns et Tester 2008** ont établi les limites de tolérance à la salinité de espèces d'intérêt agronomique, leurs classification est déterminé selon le taux de réduction du rendement sous l'effet du sel à divers concentration mesurer en mM (Fig. 22).

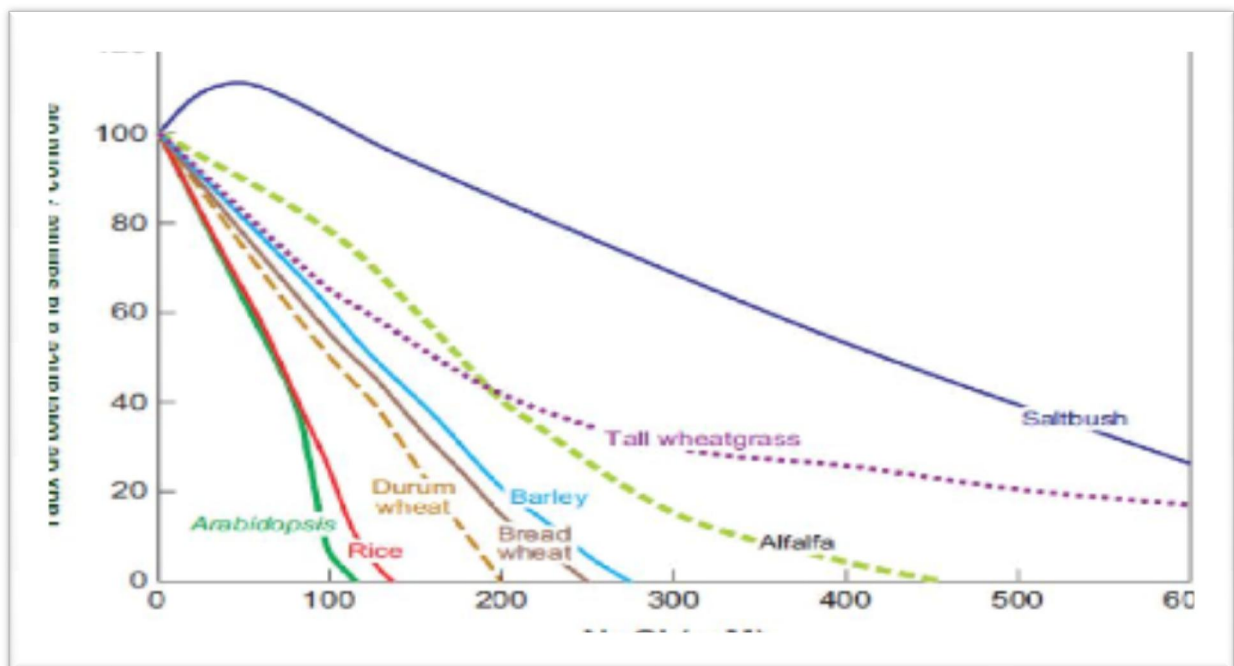


Figure 22. Classification des plantes selon leur niveau de tolérance à la salinité en fonction de la concentration en sel (Munns & Tester 2008)

#### 3.6.1. Les halophytes :

Les halophytes sont des plantes capables de se développer et de croître sous un régime salin de 300 mM de NaCl .ces plantes sont capables d'accumulé le Sodium dans leurs matières foliaires à des concentrations élevées. Le sodium est stockés dans les vacuoles ainsi que ces plantes présentent une modification de leurs enzymes ce qui permettre une forte adaptation à la contrainte saline ces plantes sont classées selon **Levigneron et al. (1995)** en deux catégories :

##### 3.6.1.1. Les plantes de type inclusif (include)

La plante de type inclusif capte le sel, qui parvient aux feuilles de la même façon que l'eau, par le mouvement ascendant de la sève dans les vaisseaux. A l'intérieur des cellules, le sel est alors stocké dans les vacuoles (qui sont des compartiments fermés au sein de la cellule) grâce à des systèmes de "pompes" moléculaires. Le sel est ainsi isolé (**Levigneron et al. 1995**).

### 3.6.1.2. Les plantes de type exclusif (excluser)

La plante de type exclusif empêche le sel de remonter jusqu'aux feuilles. Une première barrière existe au niveau de l'endoderme, couche interne des cellules de la racine. Cependant, cette barrière peut être interrompue, en particulier lors de l'émergence et des ramifications de la racine. D'autres mécanismes limitent le passage de sel des racines vers les feuilles (**Levigneron et al. 1995**).

### 3.6.2. Les glycophytes :

Les glycophytes ne sont pas capables de survivre dans des conditions salines mais ils utilisent certaines stratégies des halophytes pour faire face au sel. Les glycophytes ont des comportements soit inclusifs ou exclusifs selon les géotypes (**Chinnusamy et al. 2005**).

### 3.6.3. La tolérance des céréales a la salinité :

La tolérance des céréales à la salinité dépend de la variabilité génétique telle que certaines espèces résistent à ce type de stress biotique que d'autres. Notamment l'effet toxique des sels est moins prononcé chez le blé tendre que le blé dur par exemple, ce caractère lui est conféré grâce à la présence du *Kna1*, un gène responsable à l'exclusion du sodium. L'orge, dépasse ces deux derniers et arrive à croître normalement dans des conditions considérées comme limitantes. En effet, en additions à l'exclusion de sodium, la plante d'orge se sert d'un autre mécanisme de tolérance à la salinité qui se manifeste par l'emprisonnement des sels dans un compartiment bien spécifique dans la feuille. Ceci non seulement lui épargne leurs effets toxiques mais aussi contrebalance la pression osmotique du sol. Une des approches de l'amélioration de la tolérance à la salinité chez les céréales se base sur les ressources phylogénétiques préexistantes soit des espèces sauvages ou apparentés. (**Munns et al. 2008**).

### 3.7. Mécanismes de la tolérance à la salinité :

Les mécanismes de la tolérance à la salinité se situent à des différents niveaux de la plante. Le contrôle se fait essentiellement dans les vacuoles. À l'échelle de la plante entière, et éventuellement dans les organes les moins sensibles pour contrôler l'absorption, le transport et le stockage du sel (**Horie & Schroeder, 2004**).

### 3.7.1. Contrôle de l'absorption et le transport de sodium

Les mécanismes physiologiques de tolérance à la salinité au niveau de la plante entière dépendent de la capacité de la plante de contrôler l'absorption et le transport du sel aux différents niveaux de la plante (Munns & Tester, 2008) (Fig. 23).

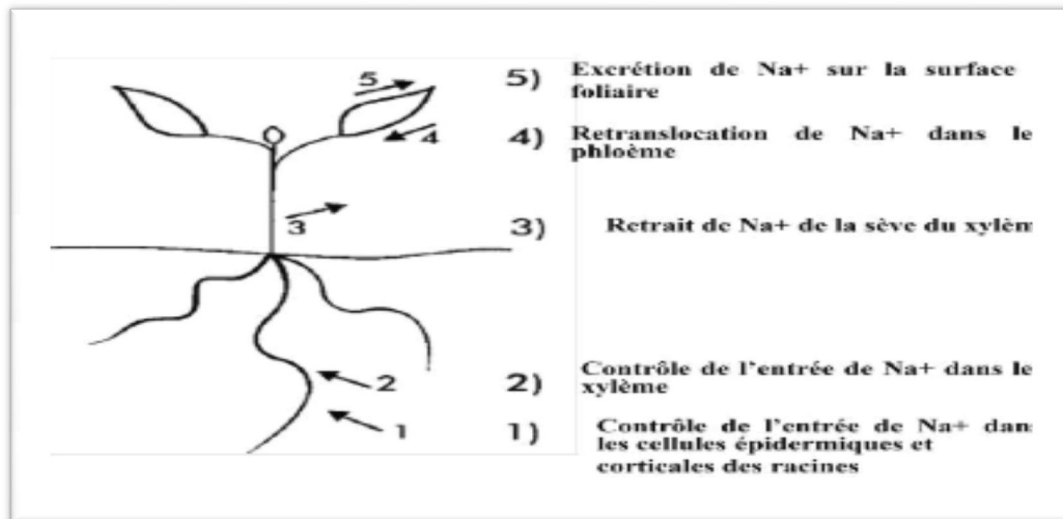


Figure 23. Les points de contrôle et de la régulation de transport du sel au niveau de la plante (Munns, 2002)

- Contrôle de l'entrée de Na<sup>+</sup> dans les cellules épidermiques et corticales des racines : L'absorption initiale de Na<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup> se produit de l'exoderme à l'épiderme, les flux apoplastique se produisent à travers l'endoderme, la régulation de l'entrée initiale de Na<sup>+</sup> dans les cellules corticales des racines est donc importante pour la tolérance des plantes à la salinité (Zhu, 2001).
- Contrôle de l'entrée de Na<sup>+</sup> dans le xylème : L'entrée des ions Na<sup>+</sup> dans les cellules s'effectue grâce à des transporteurs à forte affinité de K<sup>+</sup>, ou par des canaux de faible affinité appelée des canaux cationiques non sélectifs qui sont fortement influencés par les ions Ca<sup>2+</sup>. Ces canaux cationiques permettent l'entrée d'une grande quantité des ions Na<sup>+</sup> à partir d'un sol très salé si elles ne sont pas bien réglementées
- Retrait du Na<sup>+</sup> de la sève du xylème : Le retrait de Na<sup>+</sup> du xylème s'effectue au niveau de la partie supérieure des racines, la partie inférieure des tiges, et au niveau des pétioles ou des gaines foliaires. Dans de nombreuses espèces, les ions Na<sup>+</sup> sont conservés dans la partie supérieure du système racinaire et dans la partie inférieure de la tige, indiquant un échange de Na<sup>+</sup> par K<sup>+</sup> dans les cellules de la stèle de la racine ou dans les faisceaux vasculaires aux niveaux des tiges et des pétioles (Munns *et al.* 2005).

- Ré-translocation de  $\text{Na}^+$  dans le phloème : La ré-translocation de  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  dans le phloème, s'effectue chez les espèces les plus tolérantes, ce qui garantit que le sel n'est pas exporté vers les jeunes tissus foliaires en croissance.
- Excrétion du sel sur la surface foliaire par les glandes : Certaines halophytes possèdent ces types de cellules spécialisées d'excrétion du sel.

Les halophytes ont bien développé des mécanismes pour contrôler l'absorption, le transport et l'excrétion de sel. Alors que les glycophytes s'appuient sur les trois premiers mécanismes, avec des degrés divers alors, le 4<sup>ème</sup> est spécifique de quelques halophytes.

Les canaux ioniques et les transporteurs qui régulent les mouvements du sel à travers les membranes des cellules ont été examinés par plusieurs chercheurs, il n'y a aucun transporteur spécifique des ions  $\text{Na}^+$  mais ils font l'entrée par la concurrence avec d'autres cations, en particulier, les ions  $\text{K}^+$  (Blumwald, 2000).

### **3.7.2. Régulation de la concentration cytoplasmique de sodium $\text{Na}^+$ :**

La présence du sel au niveau du cytoplasme inhibe l'activité presque de la totalité des enzymes, donc les mécanismes de tolérance à la salinité, au niveau cellulaire, se traduisent par le maintien du sel en dehors du cytoplasme, et leur compartimentation dans les vacuoles de la cellule. Cela se produit dans la plupart des espèces et s'explique par les concentrations élevées du sel (supérieure à 200 mM) présents dans les feuilles qui fonctionnent toujours normalement, alors que de telles concentrations détruisent complètement l'activité des enzymes *in vitro*. En général, les ions  $\text{Na}^+$  commencent à inhiber l'activité des enzymes à une concentration ionique supérieure à 100 mM alors que la dose toxique de  $\text{Cl}^-$  n'est pas encore bien définie bien que approximativement elle est dans la même gamme de la concentration des ions  $\text{Na}^+$  (Munns & Greenway, 1980).

### **3.7.3. L'efflux de sodium**

Les ions  $\text{Na}^+$  peuvent être efflués du cytoplasme par un antiport  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ , poussés par le gradient de pH à travers le plasmalemme. Ces transports et ces processus travaillent ensemble pour contrôler la concentration cytoplasmique des ions  $\text{Na}^+$ . Le potentiel négatif de la membrane plasmique des cellules végétales favorise le transport passif des ions  $\text{Na}^+$  dans les cellules. Ces ions pénètrent dans les cellules végétales par les transporteurs de potassium à haute affinité HKT1 et les canaux cationiques non sélectifs (Maser *et al.* 2002) (Fig. 24).

### 3.7.4. Compartimentation vacuolaire de sodium :

La séquestration vacuolaire des ions  $\text{Na}^+$  réduit non seulement leurs concentrations dans le cytoplasme, mais contribue également à l'ajustement osmotique qui maintient l'absorption de l'eau de solution saline. D'autres organites, tels que les plastes et les mitochondries, peuvent également accumuler des ions  $\text{Na}^+$  et contribuer ainsi à la compartimentation intracellulaire de ces ions toxiques. Chez l'Arabidopsis, les antiports  $\text{AtNHX1}$  et  $\text{AtNHX2}$  de la famille de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiports jouent un rôle déterminant au niveau de la compartimentation de  $\text{Na}^+$ . Les antiports  $\text{AtNHX1}$  et  $\text{AtNHX2}$  sont localisées dans la membrane tonoplaste, et leurs niveaux de transcription sont régulés par l'ABA au cours d'un stress osmotique montrent que les niveaux de transcription des antiports vacuolaire  $\text{H}^+$ -ATPase également augmentent lors d'un stress salin. (Yokoi *et al.* 2002)

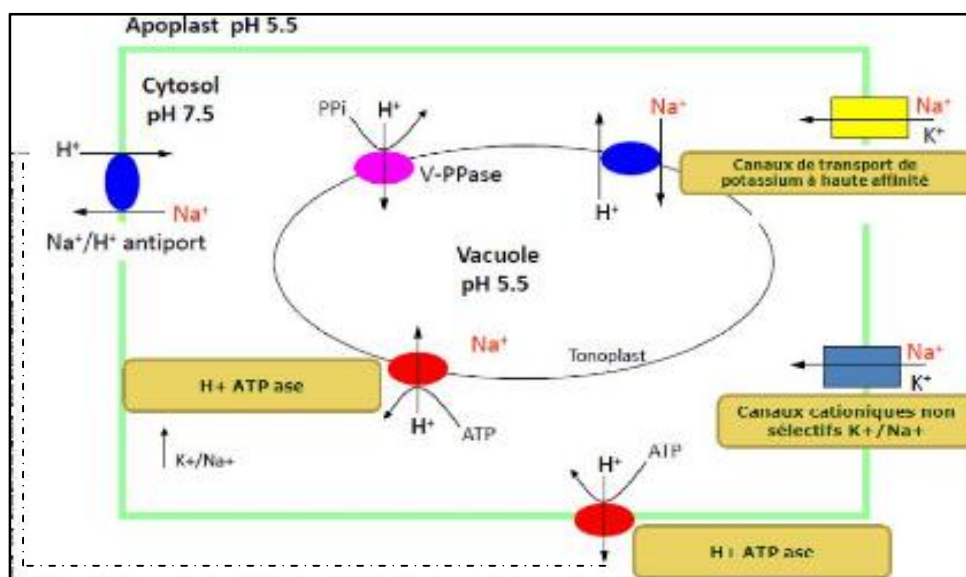


Figure 24. Les transporteurs ioniques de  $\text{Na}^+$  au niveau cellulaire (Mansour *et al.*, 2003).

### 3.7.5. Prélèvement de potassium :

Dans les conditions optimales, les plantes maintiennent un haut ratio cytosolique  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ . Le stress salin entraîne la diminution de ce ratio, du fait que les ions  $\text{Na}^+$  sont en concurrence avec les ions  $\text{K}^+$ , ce qui est défavorable pour les processus biochimiques cellulaires. De même, une forte concentration de potassium augmente le potentiel osmotique qui entraîne une entrée d'eau à partir du milieu extérieur (Claussen *et al.* 1996).

Le prélèvement de  $\text{K}^+$  est essentiel pour la turgescence cellulaire et le déroulement des processus biochimiques sous stress salin. Le niveau de transcription des gènes codant pour les transporteurs de  $\text{K}^+$  reflète probablement une différence de capacité de la plante à prélever le  $\text{K}^+$  sous stress salin. Par exemple chez Arabidopsis, le stress salin augmente le niveau de transcription du gène  $\text{AtKC1}$  correspondant à un transporteur de  $\text{K}^+$  (Pilot *et al.* 2003).



façon significative. Le niveau seuil est d'environ 40 mM de NaCl pour la plupart des plantes, ou moins pour les plantes sensibles comme le riz et Arabidopsis. Cela est en grande partie sous l'effet osmotique du sel autour des racines qui rend l'eau partiellement inaccessible à la plante.

La seconde phase commence lorsque le sel s'accumule à des concentrations élevée et devient toxique (100 mM), les vieilles feuilles qui ne sont plus en expansion, et n'ont pas le pouvoir de diluer le sel accumulé, meurent. Pour les plantes sensible la vitesse à laquelle les feuilles meurent est plus grande que la vitesse à laquelle les nouvelles feuilles sont produites, la capacité photosynthétique de la plante diminue et la plante meure. Tandis que pour les plantes tolérantes les jeunes feuilles se forment rapidement et fournissent les glucides nécessaires pour maintenir les différentes activités vitales de la plante (Munns & Tester, 2008).

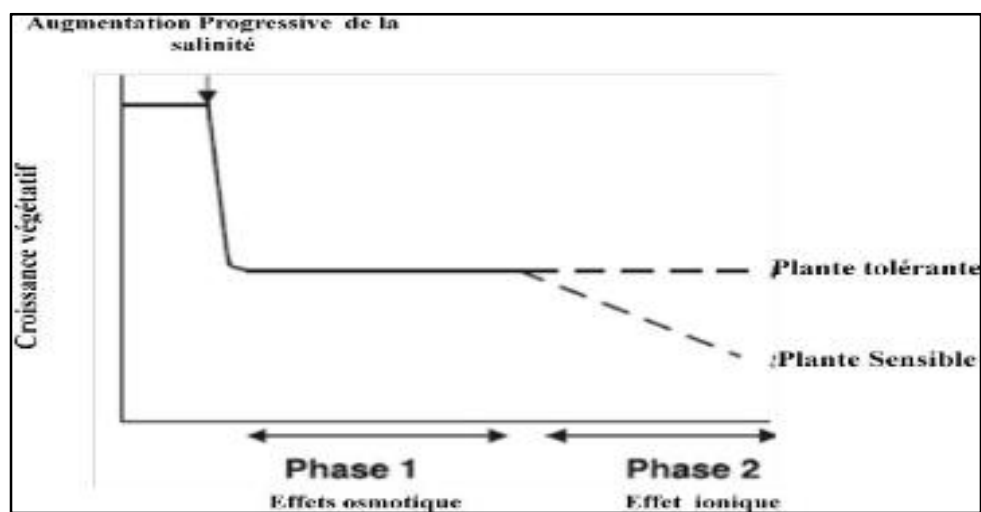


Figure 26. Schéma des deux phases de développement des plantes tolérantes et sensible sous stress salin (Munns, 2002)

### 3.8.3. Les différents types de réponse des plantes à la salinité

Les mécanismes de tolérance à la salinité peuvent être classés en trois catégories:

- **La tolérance au stress osmotique :** Le stress osmotique diminue la croissance et la productivité des plantes. Il ralentit le taux de division et d'expansion des cellules, en causant une perte de turgescence qui est liée à l'insuffisance de l'eau due à l'augmentation du sel autour des racines. Les diminutions du potentiel hydrique foliaire et de la teneur relative en eau de la plante (TRE) observées conduisent à une diminution des capacités photosynthétiques chez la plante (Tezara *et al.* 1999).
- **L'exclusion de  $\text{Na}^+$  des limbes :** Sous un stress salin l'exclusion de  $\text{Na}^+$  de la plante par des divers mécanismes, ne garantit pas son accumulation avec des concentrations toxiques dans les

feuilles. Cet accumulation de  $\text{Na}^+$  se manifeste par un effet toxique après un jour et peut aller à une semaine, selon les espèces, et causes la mort des feuilles âgées prématurément (**Munns & Tester, 2008**).

■ **Tolérance des tissus :** La tolérance des tissus exige la compartimentation intracellulaire de  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  pour éviter leurs effets toxiques dans le cytoplasme, en particulier dans les cellules de mésophile de la feuille. La toxicité se produit après l'augmentation de  $\text{Na}^+$  à des concentrations élevées dans les feuilles. Cette concentration peut être tolérée par les tissus par deux types d'adaptations anatomiques au niveau cellulaire :

- ✓ Augmentation de la taille des cellules en raison de l'augmentation du volume vacuolaire, suite de la séquestration des ions toxique à l'intérieure des vacuoles.
- ✓ Partitionnement des ions à l'intérieure de cellules, les processus de transport intracellulaires des ions toxiques favorisent le cloisonnement de la feuille ce qui garantie que ces ions ne seront pas stockés dans les mêmes cellules. Chez l'orge par exemple soumis à un stress salin, il ya une grande accumulation de  $\text{Cl}^-$  dans l'épiderme et non pas dans le mésophiles, contrairement aux ions  $\text{K}^+$ , mais il n'existe aucune preuve de partitionnement des ions  $\text{Na}^+$ . (**Munns & Tester, 2008**).

#### **3.8.4. Importance de ces mécanismes :**

L'importance relative de ces différents processus varie clairement avec l'espèce (c'est-à-dire, la stratégie de certaines espèces végétales pour répondre au stress salin mais probablement elle varie aussi bien en fonction de la durée d'exposition à la salinité, la concentration de sel, et éventuellement les conditions environnementales locales, notamment l'approvisionnement en eau du sol et l'humidité relatif de l'air, et donc le taux de transpiration des feuilles et leur potentiel hydrique (**Greenway & Munns, 1980**).

#### **4. Les ESTs: définition et importance dans la recherche des gènes de tolérance aux stress abiotiques**

##### **4.1. Définition :**

Un marqueur de séquence exprimée, ou expressed sequence tag (EST), est une courte portion séquencée d'un ADN complémentaire (ADNc), utilisée comme marqueur pour différencier les gènes entre eux dans une séquence d'ADN et identifier les gènes homologues dans d'autres espèces **(Ghislain, 2001)**

Parce qu'il est généralement assez facile de récupérer des brins d'ARNm des cellules, les biologistes récupèrent ces séquences et les convertissent en ADNc, qui est bien plus stable.

Un ARNm étant forcément l'expression d'un gène du génome, l'ADNc issu de cet ARNm n'est pas une copie exacte de la séquence d'ADN qui l'a généré car, suite à l'épissage, l'ARNm ne garde pas les régions non codantes de l'ADN (introns).

Si le génome est correctement identifié, les gènes le composant ne le sont pas encore tous. Et certains gènes identifiés ont une fonction encore inconnue. En utilisant les EST, on cherche à identifier un gène par le chemin inverse, c'est-à-dire que l'on prend la séquence d'ARN pour trouver la séquence d'ADN qui l'a créée. Cela va permettre de localiser le gène dans le génome, tout en n'ayant aucune information sur le gène lui-même.

Pour effectuer une recherche sur la séquence d'ADN originelle, on n'utilise qu'une partie de l'information contenue dans l'ADNc, une centaine de nucléotides. Cette sous-séquence est prise en début ou en fin de séquence.

Le début est relativement bien conservé d'une espèce à l'autre ; aussi, pour identifier de manière unique le gène en cause, on a tendance à utiliser la fin de la séquence comme base de recherche.

Un projet EST comporte une phase de biologie moléculaire et une phase bioinformatique (Fig. 27).

- Étapes de biologie moléculaire :
  - (i) extraction d'ARN et sélection facultative de la fraction poly(A) ;
  - (ii) construction de la banque d'ADNc ;
  - (iii) séquençage en masse sans criblage préalable et sans chercher à corriger les erreurs **(Tagu & Moussard, 2003)**.

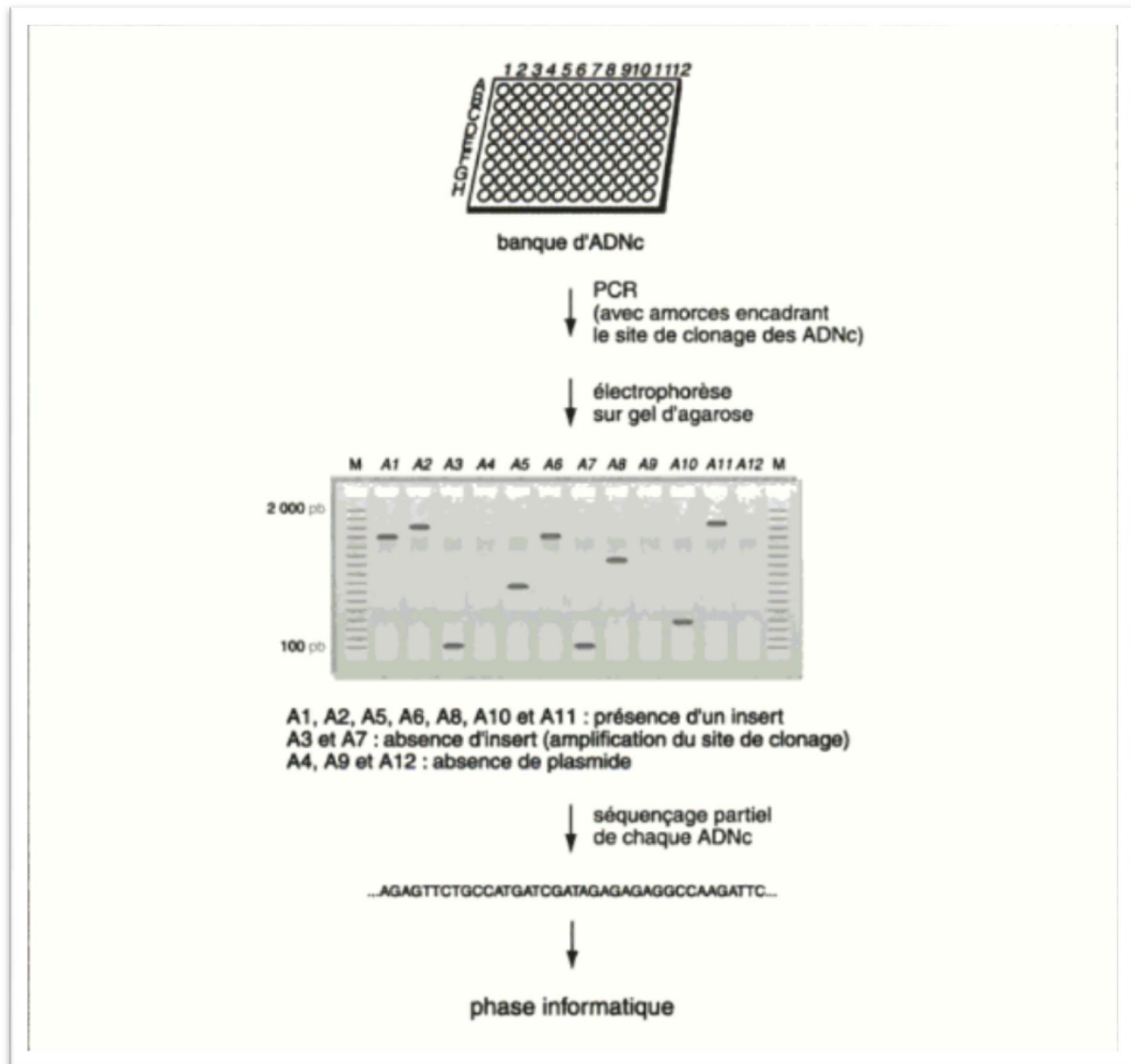


Figure 27. Phases d'un projet EST (Tagu, 2003).

- Étapes informatiques (traitement des données de séquence) :

**(I) Création de contigs :**

- (1) élimination des zones de qualité insuffisante ;
- (2) élimination des séquences de vecteurs et d'adaptateurs ;
- (3) élimination des EST correspondants à des contaminants (ARN ribosomiques, séquences bactériennes, mitochondriales, etc.) ;
- (4) masquage des séquences répétées ;
- (5) "clusterisation" : il s'agit de regrouper les EST codant pour le même gène, sur la base d'une forte similarité de séquence ;
- (6) assemblage ("contigage") : il s'agit de créer pour un même gène une séquence "consensus" à partir de plusieurs EST couvrant des parties différentes du gène, c'est-à-dire le contig le plus long possible à partir des fragments chevauchants du cluster.

(II) **Annotations** : cette étape consiste à assigner une fonction et à caractériser les contigs et les EST isolés (singletons). Elle est fondée sur l'interrogation de bases de données de séquences (nucléiques et protéiques), de motifs, de profils de spectrométrie de masse de protéines, etc. (Fig. 28).

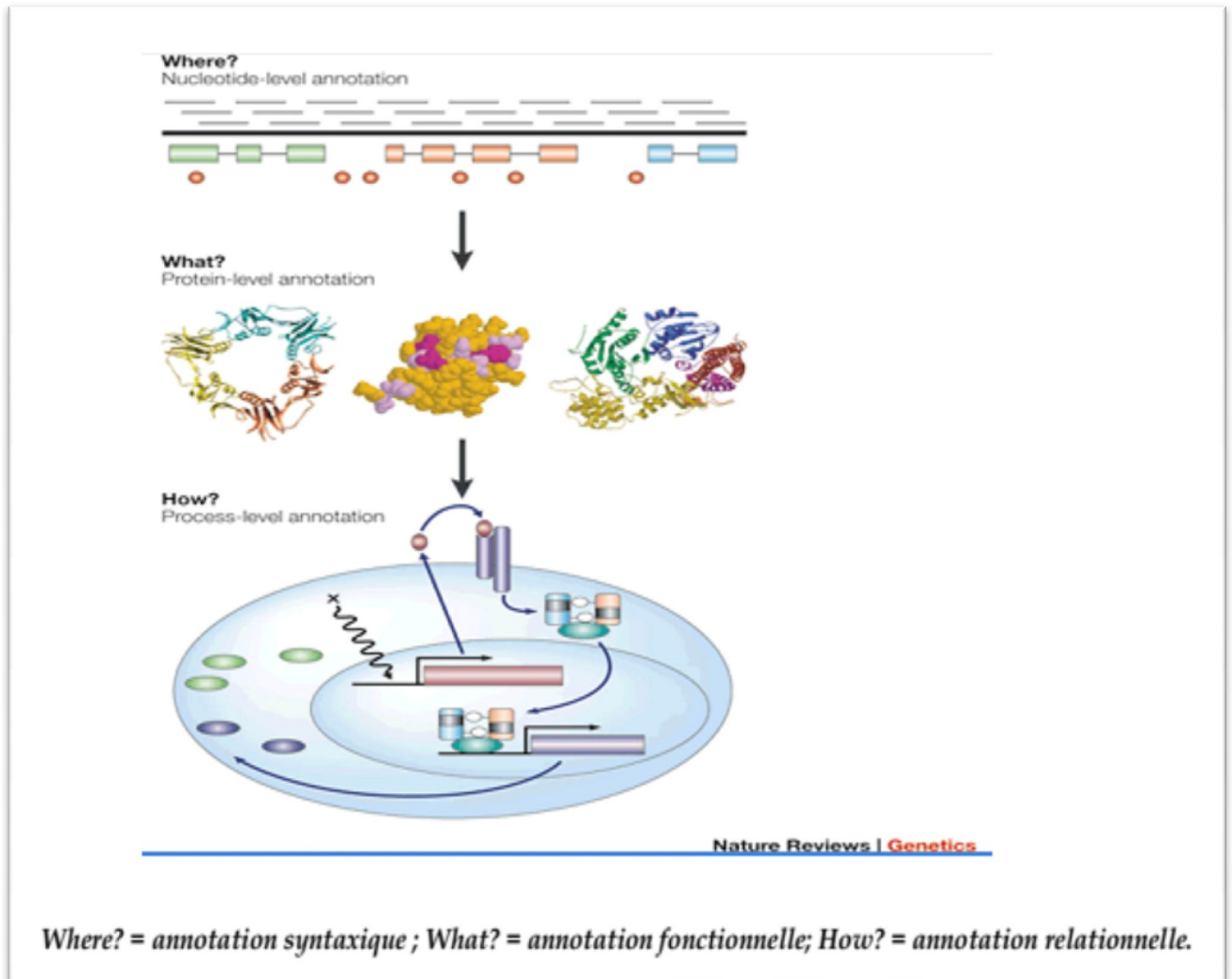


Figure 28. Représentation des différents niveaux d'annotation (Stein, 2001).

L'utilisation de méthodes de prédiction (de fonction, de localisation cellulaire, etc.) peut s'avérer utile au cours de cette étape (Tagu & Moussard, 2003)

#### 4.2. Importance dans la recherche des gènes de tolérance aux stress abiotiques :

Le génome d'un organisme eucaryote possède de nombreux gènes mais chaque type de cellules n'en exprime qu'une fraction selon les fonctions remplies. Une banque d'ADNc obtenue à partir d'un tissu déterminé donne une "photographie instantanée" des gènes exprimés dans ce tissu au moment de l'extraction des ARNm.

Théoriquement, les milliers de clones phagiques ou plasmidiques de la banque recouvrent la presque totalité des séquences exprimées sous forme d'ARNm.

Les gènes fortement exprimés sont plus représentés que ceux qui le sont faiblement (ARNm rares). La détermination d'étiquettes de gènes exprimés (EST, Expressed Sequence Tags) a pour objectif de caractériser une partie de la séquence de la majeure partie des ARNm accumulés dans un tissu donné. Elle implique le séquençage partiel de chacun des ADNc présents dans une banque d'ADNc. Ces séquences sont ensuite comparées une à une à celles qui sont stockées dans les banques de données internationales (p. ex. GenBank via Internet).

Les informations obtenues sur l'homologie de séquences sont, dans certains cas, suffisantes pour assigner une fonction potentielle au gène correspondant.

On peut faire l'hypothèse que les EST qui ne présentent pas d'homologie avec des gènes connus correspondent à des gènes nouveaux, spécifiques du système étudié (espèce, tissu ou état physiologique). Cette recherche d'exhaustivité (séquencer tous les gènes exprimés) se fait en favorisant le nombre par rapport à la qualité.

Cependant les informations obtenues permettent le plus souvent d'identifier les gènes et leur niveau d'expression dans le tissu et l'état physiologique considéré. Cette approche EST permet ainsi l'élaboration d'un catalogue de gènes exprimés dans un tissu particulier. Elle peut alors être couplée à des études d'expression en masse : chacun des ADNc identifiés est déposé sur une membrane ou une lame de verre pour constituer des filtres à haute densité comprenant des centaines, voire des milliers d'ADNc. Ces membranes ou lames peuvent alors être hybridées avec des sondes correspondant aux ARNm de n'importe quel autre tissu ou cellule soumis à différents stress biotiques ou abiotiques. L'étude simultanée de l'expression des centaines de gènes déposés sur les filtres est alors possible.

Les EST sont aussi utilisés pour l'annotation des génomes (localisation des exons) et dans la recherche de polymorphisme pour des études de génétique (**Tagu & Moussard, 2003**).

De nombreux travaux ont été réalisés dans ces dernières années en vue de l'identification des gènes de tolérance aux stress abiotiques, c'est le cas par exemple du maïs (**Bhati *et al.*, 2014**) et du riz (**Bhati *et al.* 2016**).

## 5. Banques et bases de données biologiques

Souvent les termes de banque ou base sont utilisées sans distinction particulière. Toutefois il existe une différence non seulement pour l'utilisateur mais aussi pour l'implantation informatique de ces dernières :

*Banque de données* : ensemble de données relatif à un domaine défini des connaissances et organisé pour être Offert aux consultations d'utilisateurs

*Base de données* : ensemble de données organisé en vue de son utilisation par des programmes correspondant à des applications distinctes et de manière à faciliter l'évolution indépendante des données et des programmes.

Une base de données est un ensemble structuré et organisé permettant le stockage de grandes quantités d'informations afin d'en faciliter leur utilisation (ajout, mise à jour, recherche et éventuellement analyse dans les systèmes les plus évolués).

Elle est toutes organisée en fonction d'un modèle de données (data model) qui peut être de différents types : modèle hiérarchique (hierarchical model), modèle en réseau (network model), modèle relationnel (relational model), modèle orienté objet (object oriented model), modèle semi structuré (semi-structured model), modèle associatif (associative model), modèle EAV (Entity-Attribute-Value data model) ou encore modèle contextuel (context model).

L'un des modèles les plus utilisés aujourd'hui est le modèle de bases de données relationnelles qui a été inventé en **1970** par **Edgar Frank Codd**.

Afin de créer ces banques de données relationnelles, il est nécessaire d'avoir recours à un système informatique nommé Système de Gestion de Bases de Données Relationnel (SGBDR) dont les plus connus sont : Oracle, Access, SQLServer, Informix, Sybase, DB2, MySQL, 4D, Filmaker...etc. Ces SGBDR permettent alors d'accéder à la base de données directement via Internet afin d'en assurer la diffusion la plus large possible (**Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale, 2001**).

### 5.1. Les bases de données utilisées en bioinformatique :

#### 5.1.1. Bases de séquences nucléiques

- EMBL : banque européenne créée en 1980 et financée par IEMBO (European Molecular Biology Organization), elle est aujourd'hui diffusée par EBI (European Bioinformatics Institute, Cambridge, UK)



- GenBank : créée en 1982 par la société IntelliGenetics et diffusée maintenant par le NCBI (National Center for Biotechnology Information, Los Alamos, US).



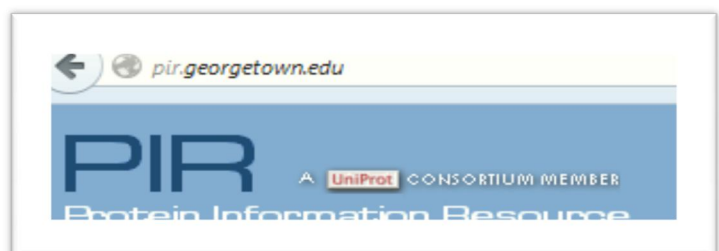
- DDBJ : créée en 1986 et diffusée par le NIG (National Institute Of Genetics, Japan)



Ces trois banques s'échangent systématiquement leur contenu depuis 1987 et ont adopté un système de conventions communes : "The DDBJ/EMBL/GenBank Feature Table Definition"

### 5.1.2. Bases de séquences protéiques :

- PIR-NBRF : créée en 1984 par la NBRF (National Biomedical Research Foundation).



Elle est maintenant un ensemble de données issues du MIPS (Martinsried Institute for Protein Sequences, Munich, Allemagne) et de la banque japonaise JIPID (Japan International Protein Information Database)

- SwissProt : créée en 1986 à l'Université de Genève et maintenue depuis 1987 dans le cadre d'une collaboration, entre cette université (via ExPASy, Expert Protein Analysis System) et

EBI. Celle-ci regroupe aussi des séquences annotées de la banque PIR-NBRF ainsi que des séquences codantes, traduites de l'EMBL.

Elles contiennent les protéines obtenues de plusieurs manières différentes :

- in silico: déduite à partir de la séquence nucléique, par simple traduction du ou des exons la codant.
  - isolée à partir de la cellule.
  - par génie génétique.
- Uniprot Le consortium d'UniProt est composé de l'Institut Européen de Bioinformatique (EBI), de l'Institut Suisse de Bioinformatique (SIB), et de la Ressource de l'Information de Protéine (PIR).



## 6. Logiciels pour traitement des données.

### 6.1. BLAST2GO :

Blast2GO a été spécialement construit comme un logiciel tout-en-un qui peut être utilisé pour l'annotation fonctionnelle des séquences et l'analyse des données de l'annotation. Blast2Go est un outil spécialisé qui a été développé en utilisant le langage de programmation Java et peut fonctionner sur plusieurs plates-formes.

Quatre concepts principaux forment la base sur laquelle repose la création du logiciel Blast2GO : orientation vers la biologie, Haute capacité de traitement de données, flexibilité d'annotation, et possibilités d'exploitation des données (**Hindawi, 2008**).

#### a. Orientation vers la biologie :

Les utilisateurs ciblés par Blast2GO sont des chercheurs en biologie travaillant sur des projets de la génomique fonctionnelle dans des laboratoires où le support fort de la bioinformatique n'est pas nécessairement présent. Par conséquent, l'application a été conçue pour être facile à installer, à avoir des conditions minimales d'installation et d'entretien et d'offrir une interface utilisateur intuitive. B2G a été créée comme une application Java multiplateforme accessible par la technologie Java Webstart. Cette solution utilise la polyvalence la plus élevée d'une application qui fonctionne localement tout en assurant les mises à jour automatiques à condition qu'une connexion internet soit disponible. Cette M-à-J s'est avérée fonctionner très efficacement dans le transfert rapide aux utilisateurs de nouvelles fonctionnalités et correction de bogues. En outre, l'accès aux données dans B2G est renforcé par les paramètres graphiques qui d'une part permettent l'identification et le choix faciles des séquences à de diverses étapes du processus d'annotation et, d'une part, permettent la visualisation commune des résultats d'annotation et de la mise en évidence de la plupart des dispositifs appropriés (**Hindawi, 2008**).

#### b. Haute capacité de traitement de données

Blast2GO devient de plus en plus l'application du choix pour l'annotation des nouvelles séquences dans des projets de la génomique fonctionnelle où des milliers de fragments doivent être caractérisés. En principe, B2G accepte n'importe quelle quantité d'enregistrements dans les limites de ressources de mémoire du poste du travail de l'utilisateur. Des fichiers de données typiques de 20 à 30 mille séquences peuvent être facilement annotés sur un PC de 2 Giga de RAM (les projets les plus grands peuvent employer la version gratuite de l'interface graphique de Blast2GO). Pendant le processus d'annotation, des résultats intermédiaires peuvent être accédés et modifiés par l'utilisateur au choix (**Hindawi, 2008**).

**c. Annotation flexible.**

L'annotation fonctionnelle dans Blast2GO est basée sur le transfert d'homologie. Dans ce cadre, le processus réel d'annotation est configurable et permet la conception de différentes stratégies d'annotation. Les paramètres d'annotation de Blast2GO incluent le choix de la base de données de recherche, la force et le nombre de résultats de Blast et la qualité des annotations transférées. Les vocabulaires soutenus par B2G sont les termes d'ontologie de gène, les codes d'enzymes (EC), les IDs d'InterPro, et les voies de KEGG.

**d. Exploitation de données sur les résultats de l'annotation.**

Blast2GO n'est pas seulement un générateur d'annotations fonctionnelles. L'application inclut un grand nombre de fonctions statistiques et graphiques pour l'évaluation du processus d'annotation et des résultats finaux. En particulier, l'abondance de termes fonctionnels peut être facilement évaluée et visualisée (**Hindawi, 2008**).

La première version de B2G a couvert les fonctionnalités de base d'application : Blast de haut-débit contre NCBI ou des bases de données locales, cartographie, annotation, et l'analyse d'enrichissement de l'ensemble de gènes ; *scalar vector graphics* (SVG) combinés et les diagrammes de distributions de base (Charts). Des modules améliorés pour le Blast à grand échelle, modification de l'intensité d'annotation, curation, vocabulaires additionnels, des graphiques et diagrammes personnalisables de haute performance, exploitation de données et manipulation des séquences, aussi bien qu'une grande sélection de formats d'entrée et de sortie ont été incorporés dans le logiciel Blast2GO (**Hindawi, 2008**).

La Figure 29 montre une vue d'ensemble de l'application. Elle montre schématiquement le fonctionnement typique de B2G. Les Cercles numérotés représentent les principales étapes de l'application. De gauche à droite ceux-ci sont :

- (1) **Blasting** : un groupe de séquences choisies est comparé soit avec ceux présentes dans l' NCBI ou sur des bases de données personnalisées,
- (2) **Cartographie** : Les termes GO sont mappés sur les résultats de blast en utilisant des fichiers d'annotation fournie par le Consortium GO qui sont téléchargés mensuellement au niveau du serveur Blast2GO,
- (3) **Annotation** : les séquences sont annotées en utilisant une règle d'annotation qui prend des paramètres fournis par l'utilisateur,
- (4) **Analyse statistique**: le cas échéant , l'analyse des différences de distribution des termes des GO entre les groupes de séquences peut être effectuée
- (5) **Visualisation** : L'annotation et les résultats statistiques peuvent être visualisées sur le GO DAG. À chacune de ces étapes, différents diagrammes sont disponibles pour évaluer le progrès de

l'analyse et les données peuvent être sauvegardées et exportées dans plusieurs formats (Blast2GO, 2016).

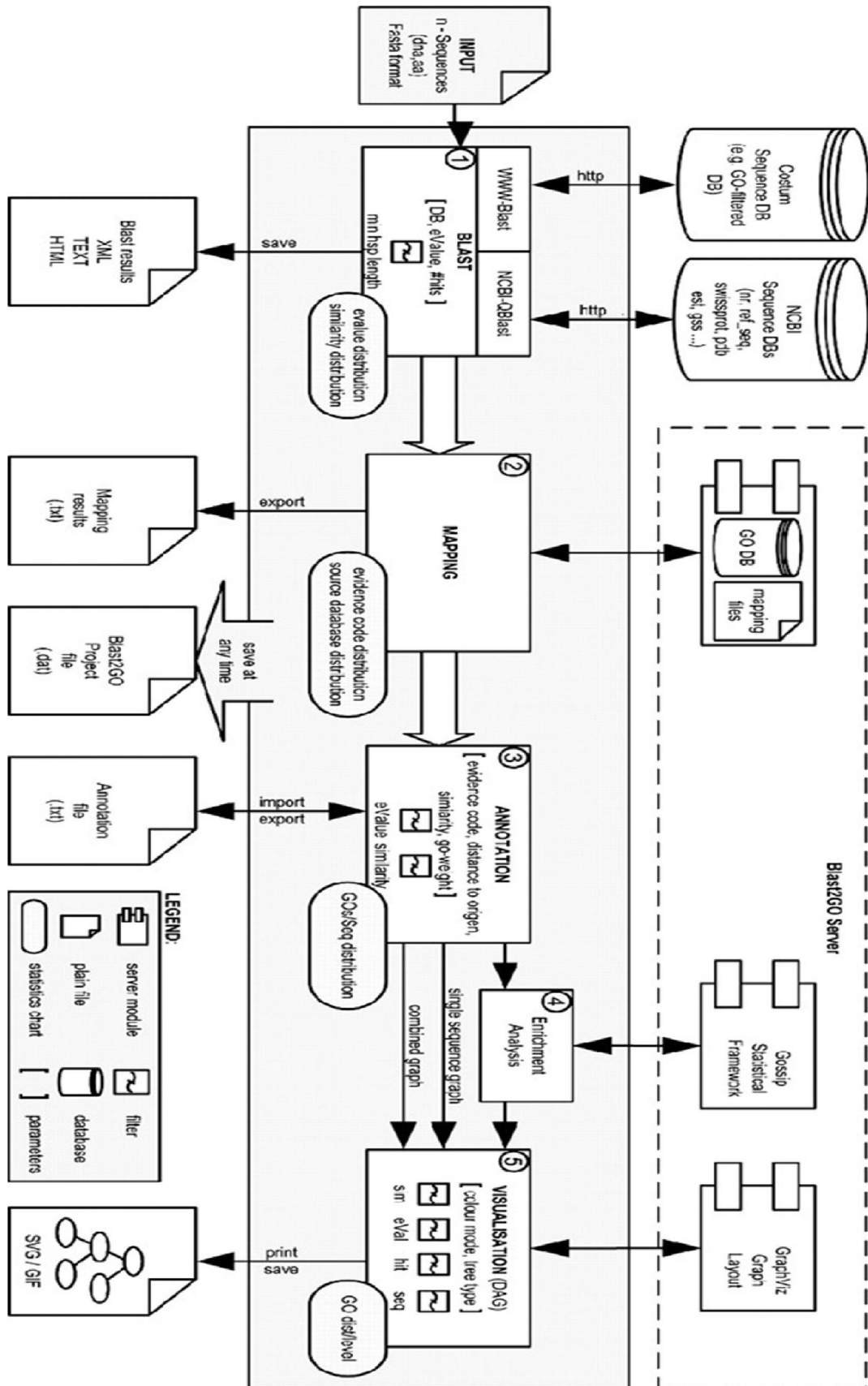


Figure 29. Vue d'ensemble de l'application

(<http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/21/18/3674/F1.large.jpg>)

**6.2. EGAssembler :** **EGassembler**

**6.2.1. Définition :**

EGAssembler est un service en ligne, qui fournit un outil d'analyse aussi bien automatisé qu'adapté aux besoins de l'utilisateur pour le nettoyage, le masquage de répétition, le masquage du vecteur, masquage d'organelle, le groupement et l'assemblage d'ESTs et de fragments génomiques. EGAssembler se compose d'une canalisation des cinq composants suivants, chacune utilise des outils open-source fortement fiables et une base de données non-redondante faite sur commande des vecteurs et des répétitions couvrant presque tous les vecteurs publiquement disponibles et les bases de données de répétitions. La Figure 30 montre un organigramme du processus d'EGAssembler.

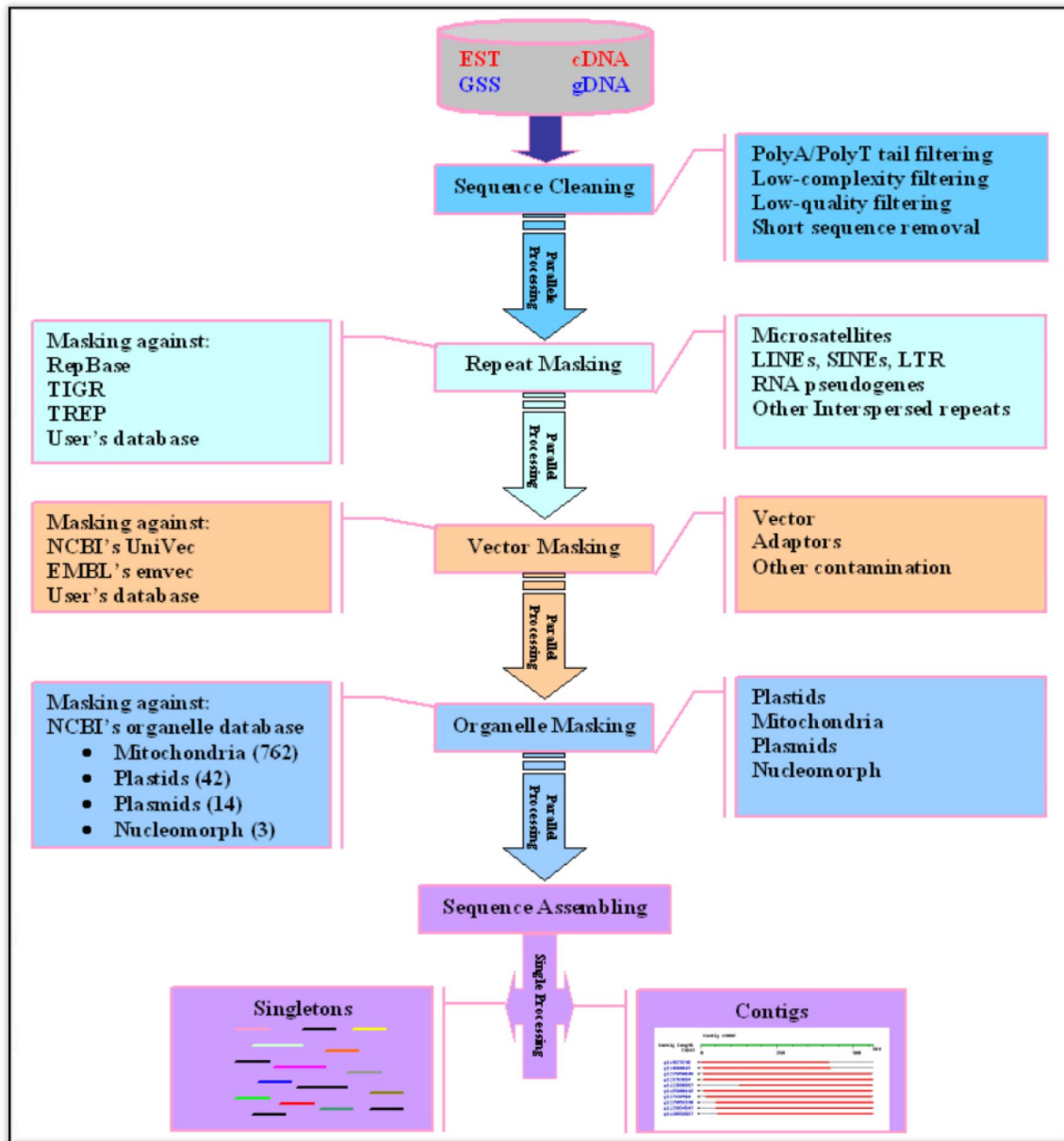


Figure 30. Processus d'EGAssembler

(<http://www.genome.jp/tools/egassembler/img/EGassembler-tutorial-3-Figure-1.jpg>)

### 6.2.2. Description de la canalisation :

Le serveur web accepte n'importe quel type de séquences d'ADN dans le format de FASTA (EST, GSS, ADNc, ADNg). La canalisation inclut :

- Nettoyage de séquences : masquage et criblage automatisés pour différents contaminants et des séquences de mauvaise qualité.
- Masquage de répétition : masquage de séquences d'ADN pour les éléments répétés y compris les petits pseudo-gènes d'ARN, LINEs, SINEs, éléments LTR, microsatellites et d'autres répétitions. Par défaut il emploie notre base de données de répétitions, non-redondante et faite sur commande, qui inclut : RepBase, répétitions de TREP, répétitions de TIGR Plant et des milliers

d'autres séquences de répétition publiquement disponibles sur l'Internet. Les chercheurs peuvent également employer leurs propres bibliothèques des répétitions pour le criblage.

- Masquage de vecteur : enlèvement des séquences des vecteurs, des adaptateurs et toutes autres contaminations. Il emploie par défaut la bibliothèque vecteur/adaptateur d'UniVec du NCBI et comme option la bibliothèque de vecteurs EMVEC d'EMBL. Les utilisateurs peuvent également télécharger leur propre base de données des séquences de vecteurs pour le criblage.

- Masquage d'organelle : en utilisant la base de données courante entière de l'organelle de NCBI (762 mitochondries, 42 plastides et 14 plasmides), les utilisateurs ont l'occasion d'examiner leurs séquences contre tous les génomes plastidial et mitochondrial (mycètes, Métazoaires, plantes et plasmides). Les utilisateurs peuvent également employer leurs séquences d'organelles pour le criblage.

- Assemblage des séquences : Groupement et assemblage des séquences dans des contigs et singletons en utilisant CAP3. **(Manuel en ligne d'EGassembler)**

### 6.2.3. Description de l'interface :

L'interface Web d'EGassembler a trois sous-menus, chacun visé pour différents utilisateurs (Fig. 31) :

Assemblage en Un-Clique, Assemblage étape-par-étape, Traitement autonome.



Figure 31. Page d'accueil d'EGassembler

#### 1. Assemblage en Un-Clique :

Cette option adaptée à des utilisateurs nouveaux à la bioinformatique. Tous les composants dans la canalisation fonctionneraient consécutivement avec leurs options par défaut. Les utilisateurs choisissent seulement des bibliothèques pour le masquage des répétitions, des vecteurs et des organelles. Chaque processus fonctionne consécutivement jusqu'à la fin de tout le processus.

#### 2. Assemblage étape-par-étape :

Les utilisateurs peuvent courir tous les composants décrits dans la canalisation interactivement et avoir l'occasion d'exécuter chacun d'entre eux avec des options avancées. Le fichier de sortie de chaque étape du processus sera automatiquement employé comme entrée à la

prochaine étape de la canalisation ; les utilisateurs peuvent également sauter vers n'importe quelle étape à tout moment avec les résultats précédents.

### **3. Traitement autonome :**

Les utilisateurs peuvent employer chacun des composants avec toutes les options disponibles. L'interface Web montre les paramètres par défaut des programmes originaux, dont les utilisateurs peuvent choisir/changer pour chaque programme. Cette option est identique à celle de l'assemblage "étape par étape". La seule différence est qu'ici les utilisateurs ne peuvent pas employer les résultats d'un processus comme entrée à un autre processus.

### **6.3. Ensembl Plants :**



Ensembl Plants (Fig. 32) est un projet commun de l'institut européen de bioinformatique et du groupe de Doreen Ware au laboratoire Cold Spring Harbor, qui ont développé la base de données Gramene, une ressource pour la génomique comparative des plantes basée sur la technologie d'Ensembl. Les bases de données sont construites en collaboration directe avec la ressource de Gramene, financée par le National Science Foundation des états unis (**Bolser et al., 2016**).

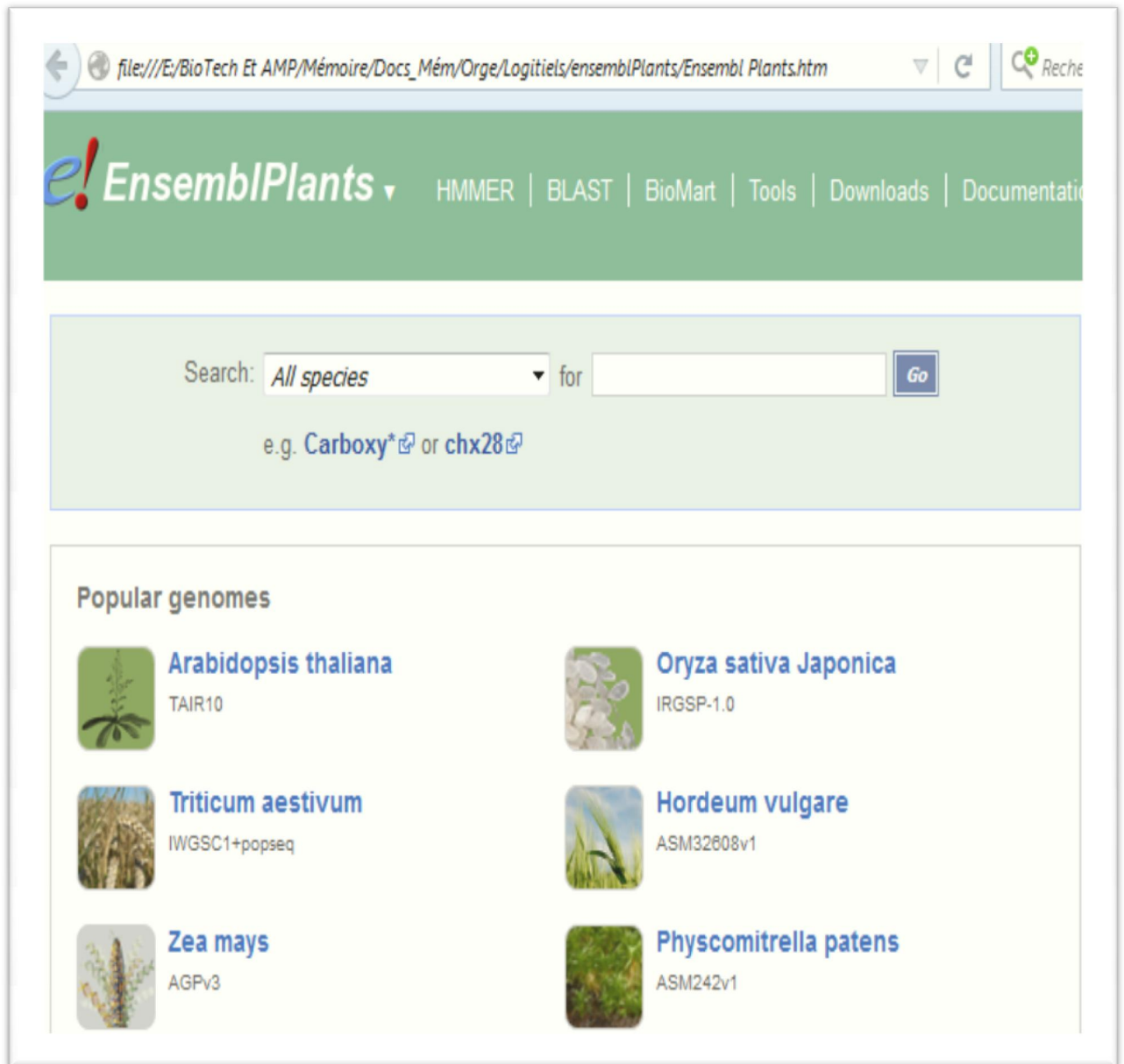
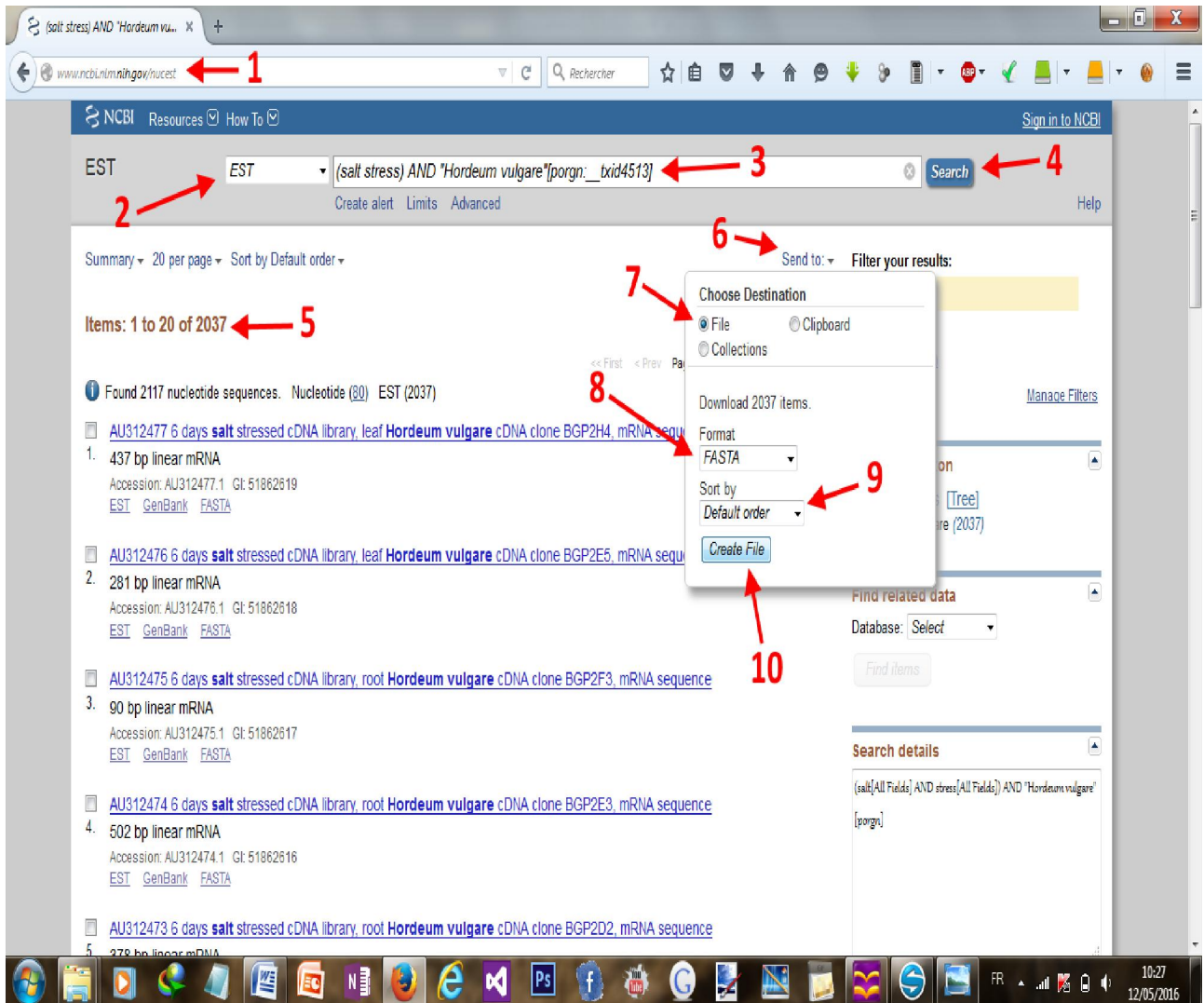


Figure 32. Page d'accueil d'Ensembl Plants

## Chapitre II : Matériel et Méthodes

### 1. Obtention des séquences des ESTs et formation des Contigs

Dans cette étude, 2037 ESTs ayant rapport avec le sel dans l'orge (*Hordeum vulgare* L.) ont été téléchargés depuis NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) (figure 33) sous format (\*.FASTA).



**Figure 33: Obtention des ESTs depuis NCBI ((1)Rendez-vous sur [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) (2)depuis le menu déroulant sélectionner "EST"(3) dans la boîte de recherche tapez votre requête(4) appuyez sur "Search"(5) résultats de la recherche(6) pour télécharger les séquences appuyez sur "Send to"(7) choisissez "File"(8) choisissez le format "FASTA"(9) choisissez l'ordre de tri des séquences(10) appuyez sur "Create File" pour télécharger le fichier.)**

Ce fichier nommé par défaut (sequence.fasta) est chargé sur le logiciel EGAssembler gratuitement disponible en ligne (<http://www.genome.jp/tools/egassembler/>) et les paramètres sont choisis comme montrent les Figures 34, 35 et 36.

PROJECT NAME  EMAIL ADDRESS

**Query sequences**

TEXT DATA , Please paste your sequences (FASTA format)

FILE UPLOAD(FASTA format)

*sequence.fasta*

**Enable Sequence Cleaning Process**

**Options**

number of CPUs

minimum percent identity for an alignemnt with a contaminant

**Figure 34. Chargement du fichier FASTA sur EGassembler (1) tapez un nom pour le projet (2) fournir un @mail vers lequel les résultats seront envoyés (3) nom du fichier à charger (4) Options pour l'élimination des séquences des contaminants.**

**Enable Repeat Masking Process**

**Options**

number of CPUs

Repeats Library

- Human
- Using your custom repeats library  *Aucun fichier sélectionné.*
- Using **EGrep** repeats library (Our custom repeats library)
- Using RepBase repeats library
- Using TREP repeats library
- Using TIGR repeats library

**Enable Vector Masking Process**

**Options**

number of CPUs

Vector Library

- Using your custom vector library  *Aucun fichier sélectionné.*
- Using **EGvec** vector library (Our custom vectors library)
- Using NCBI's vector library
- Using EMBL vector library

**Figure 35. Chargement du fichier FASTA sur EGassembler (5) Options pour l'élimination de répétitions (6) Options pour l'élimination du vecteur**

The screenshot shows the EGAssembler web interface. At the top, there is a section titled "Enable Organelle Masking Process" with a checked checkbox. Below it, under "Options", there are three radio button options for the "Organelle Library": "Using your custom organelle library", "Using Plastids library", and "Using Mitochondria library". The "Using Mitochondria library" option is selected. To the right of these options is a "Parcourir..." button and the text "Aucun fichier sélectionné.". Below this is a list box containing "Toxoplasma gondii", "Triticum aestivum", and "Zea mays". Below the list box is a dropdown menu with "Others", "Plants" (highlighted), and "Plasmid". A red arrow labeled "7" points to the "Using Mitochondria library" option and the "Plants" dropdown. Below this is another section titled "Enable Sequence Assembly Process" with a checked checkbox. Under "Options", there is a text input field for "overlap percent identity cutoff N > 65" with the value "80" entered. A red arrow labeled "8" points to this input field. At the bottom, there are "Submit" and "Reset" buttons.

**Figure 36: Chargement du fichier FASTA sur EGAssembler (7) Options pour l'élimination de l'organelle (8) Options pour la formation des contigs**

## 2. EGAssembler va :

- Éliminer les séquences qui vont causer un groupement incorrect (par comparaison avec des contaminants connus selon un %minimum d'alignement, par défaut, égal à 96%) (élément 4 de la Figure 34).
- Éliminer les répétitions de séquences connues pour Hordeum disponible sur la bibliothèque de répétitions de « TIGR ». (élément 5 de la Figure 35).
- Éliminer les séquences des vecteurs en comparant les séquences avec la bibliothèque des vecteurs de NCBI. (élément 6 de la Figure 35).
- Éliminer les séquences des organelles des plantes repérées par comparaison avec la bibliothèque des organelles « Mitochondria ». (élément 7 de la Figure 36).
- Former les contigs. (élément 8 de la Figure 36).

### **3. Identification et analyse fonctionnelle des EST-contigs**

Les résultats ainsi obtenus de la première analyse par EGAsembler (188 contigs), sont par la suite introduits dans le logiciel Blast2GO pour effectuer différents analyses notamment l'alignement (blasting), et l'annotation génomique.

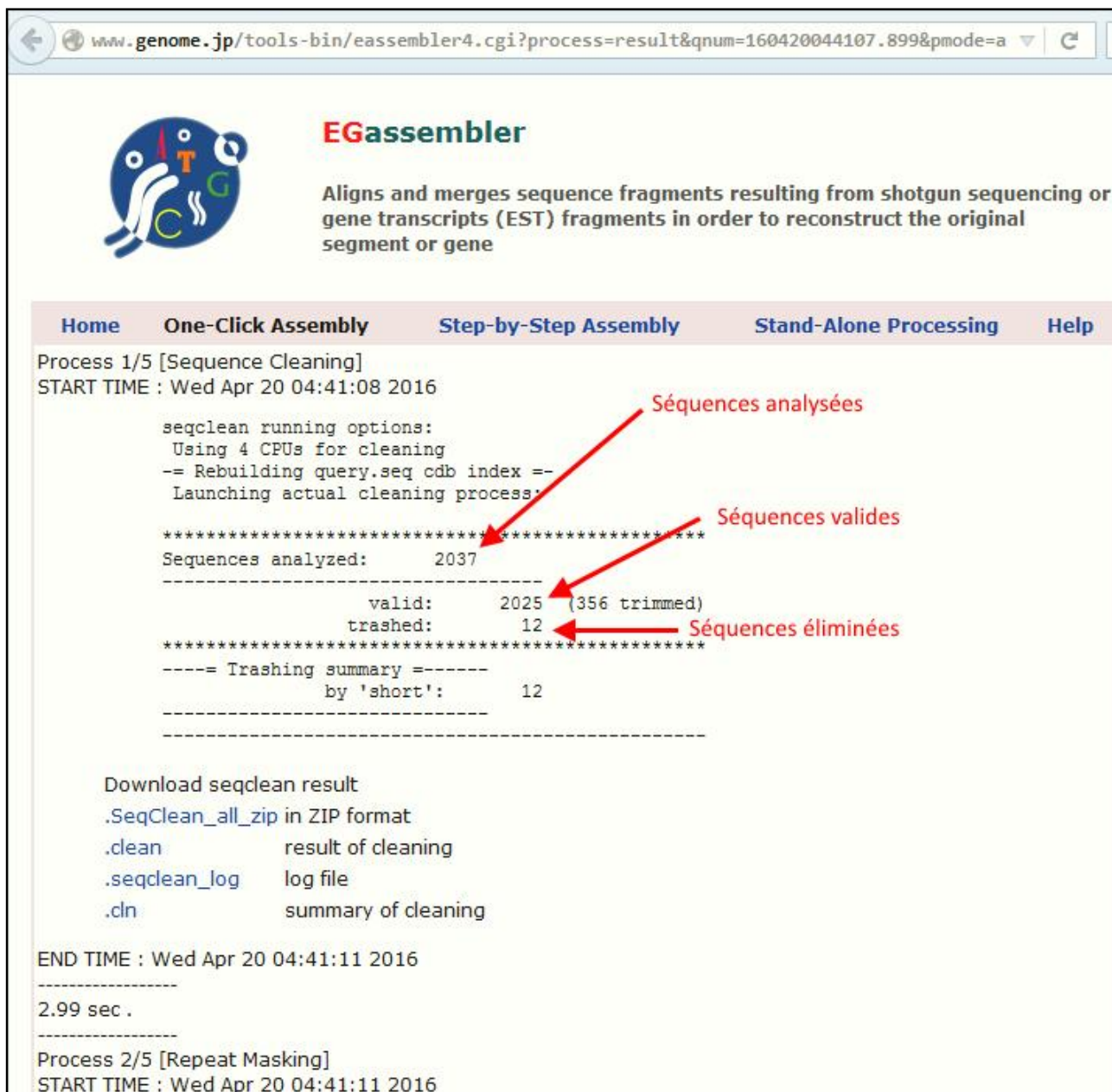
Les paramètres d'analyse ont été choisis sur la base d'études antérieures et des tests préliminaires. Les protéines/gènes ainsi identifiés sont par la suite analysés statistiquement et classés fonctionnellement dans différentes catégories fonctionnelles selon les termes GO.

Par ailleurs, les EST-contigs pour lesquels des termes GO ne sont pas affectés ont été alignés sur le génome de *Hordeum vulgare* en utilisant le programme BLAST/BLAT intégré dans l'interface Ensembl Plants.

## Chapitre III : Résultats & Discussion

### 1. RÉSULTATS

Des 2037 ESTs examinés, 12 séquences étaient éliminés (non valides) et donc 2025 séquences valides (Fig. 37).



**Figure 37. Résultats pour l'élimination des séquences non valides**

Ces 2025 ESTs dont la longueur était de 1509202pb contenaient 31825pb de répétitions soit 2.11% des 2025 EST, éliminées au cours de la deuxième étape (Fig. 38 et 39).

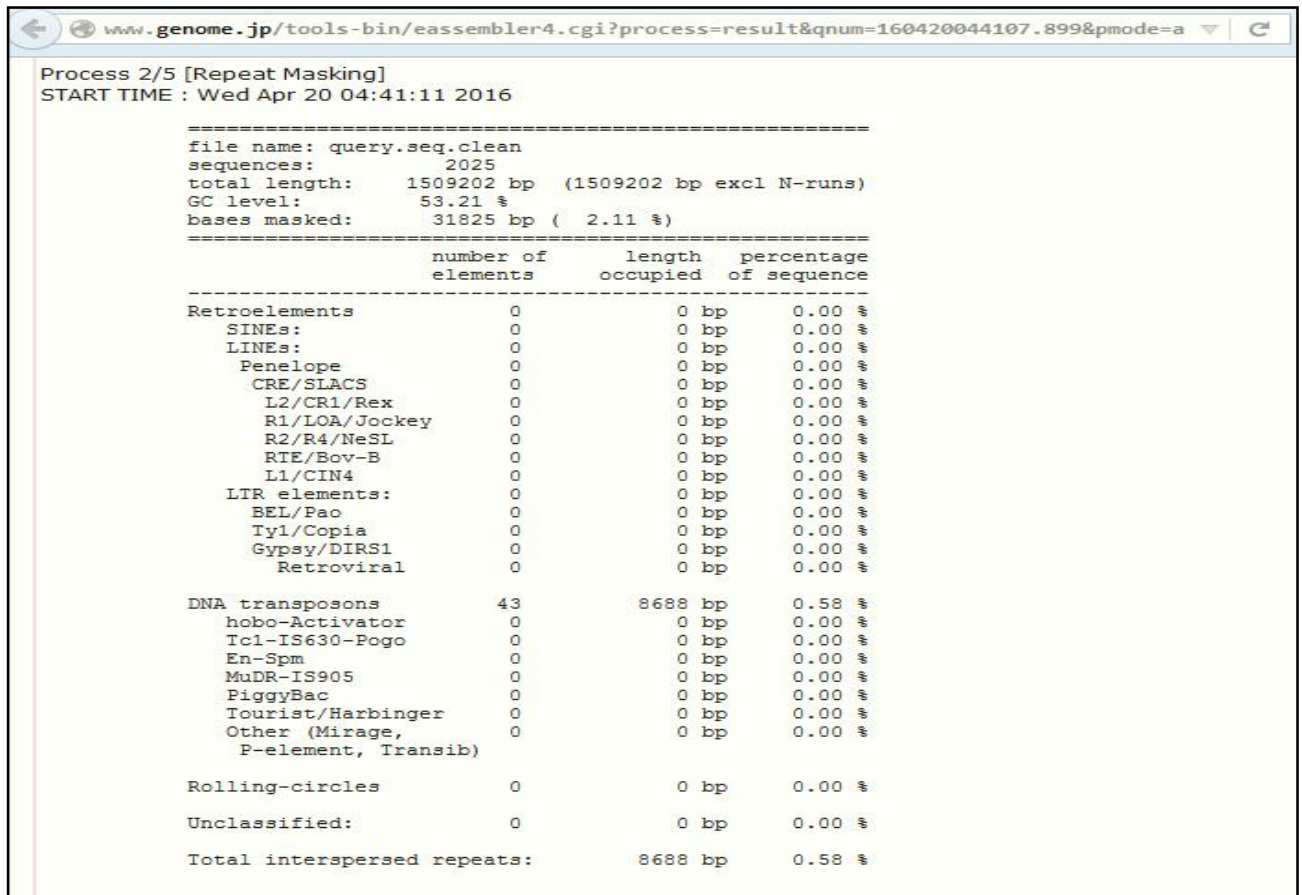


Figure 38. Résultats pour l'élimination des répétitions

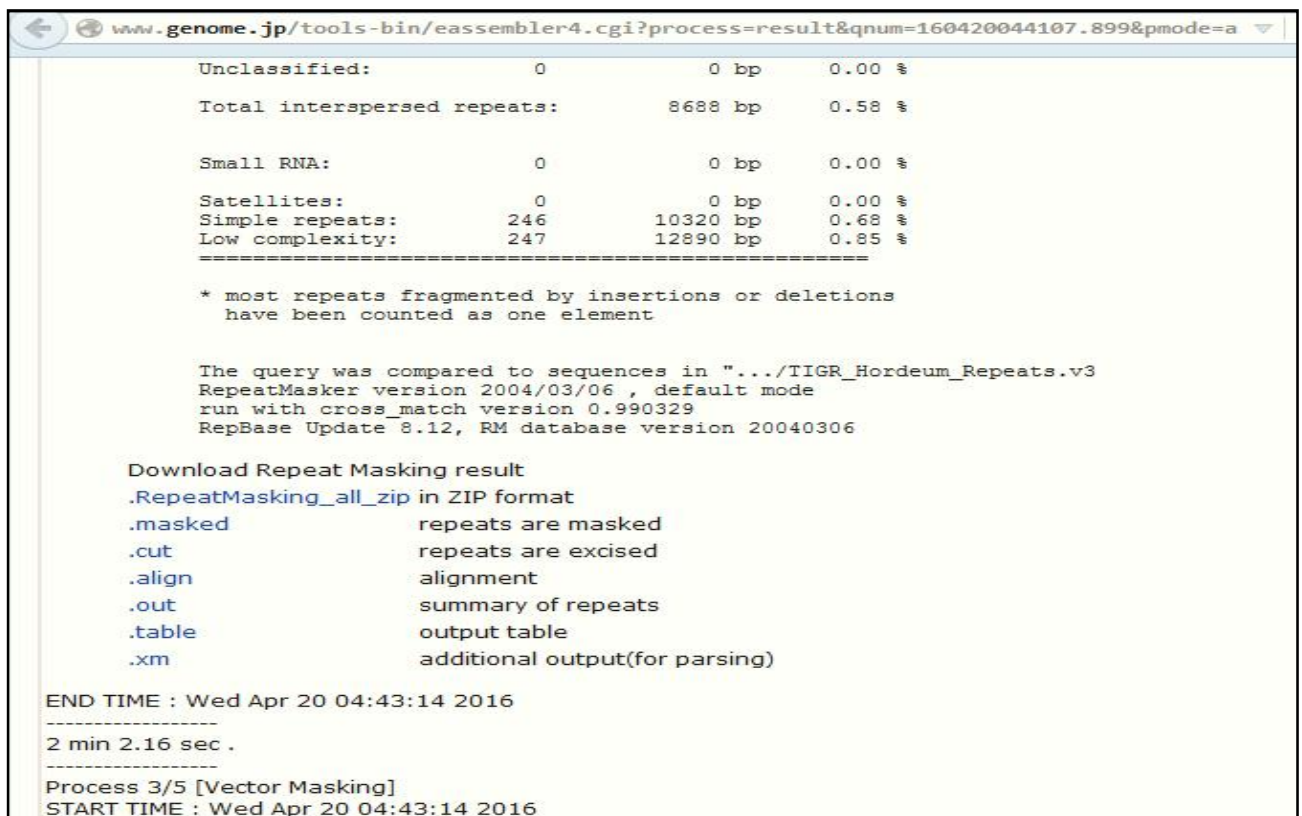


Figure 39. Résultats pour l'élimination des répétitions

De la même façon les séquences propres aux vecteurs et aux organelles était éliminées (Fig. 40).

```

www.genome.jp/tools-bin/eassembler4.cgi?process=result&qnum=160420044107.899&pmode=a
Process 3/5 [Vector Masking]
START TIME : Wed Apr 20 04:43:14 2016

[1 / 4][2 / 4][3 / 4][4 / 4]
Download cross match result
.VectorMasking_all_zip in ZIP format
.vec_Screen      vector sequences are masked
.vec_no_x        vector sequences are excised
.vec_trash       sequences shorter than 80bp
.vec_out         alignment
.vec_log         log file

END TIME : Wed Apr 20 04:43:30 2016
-----
16.75 sec .
-----
Process 4/5 [Organelle Masking]
START TIME : Wed Apr 20 04:43:30 2016

[1 / 4][2 / 4][3 / 4][4 / 4]
Download organelle match result
.OrganelleMasking_all_zip in ZIP format
.org_Screen      organelle sequences are masked
.org_no_x        organelle sequences are excised
.org_trash       sequences shorter than 80bp
.org_out         alignment
.org_log         log file

END TIME : Wed Apr 20 04:45:10 2016
-----
1 min 39.4 sec .
-----
Process 5/5 [Sequence Assembling ]
START TIME : Wed Apr 20 04:45:10 2016

```

**Figure 40. Élimination des séquences propres aux vecteurs et aux organelles**

Et la dernière étape était la formation des contigs en utilisant le logiciel CAP3 de l'EGassembler (Figure 41).

```

-----
Process 5/5 [Sequence Assembling ]
START TIME : Wed Apr 20 04:45:10 2016

Download cap3 result[default]
.Cap3_all_zip    in ZIP format
.contigs        contigs
.singletons     singletons
.cap3_alignment contigs alignment

END TIME : Wed Apr 20 04:45:19 2016
-----
9.19 sec .
-----

```

<a href="#">Home</a>	<a href="#">KEGG</a>	<a href="#">GenomeNet</a>	<a href="#">Kanehisa Laboratory</a>
----------------------	----------------------	---------------------------	-------------------------------------

```

Reference:
Masoudi-Nejad A, Tonomura K, Kawashima S, Moriya Y, Suzuki M, Itoh M, Kanehisa M, Endo T, Goto S
(2006)
EGassembler: online bioinformatics service for large-scale processing, clustering and assembling ESTs and
genomic DNA fragments. Nucleic Acids Res. 34:W459-462.

```

**Figure 41. Formation des contigs**

Les séquences qui n'ont pas pu être regroupées dans des contigs à cause de leur basse similitude avec les ESTs connus forment les singletons, ces singletons peuvent être les résultats d'une contamination ou des gènes dont un seul ARNm été collecté pour le gène exprimé. Le total des contigs ainsi obtenus était de 188 contigs.

## 2. Analyse fonctionnelle des contigs

L'analyse fonctionnelle des contigs d'ESTs était performée avec Blast2GO v 3.2.7 qui est un outil d'annotation basé sur l'Ontologie de gène (GO), connu d'être efficace dans la caractérisation fonctionnelle des séquences de données des plantes.

Sur les 188 contigs analysés, 34 contigs n'avaient pas d'annotation, un total de 1130 termes GO ont été obtenu soit 7 termes par contig en moyenne pour le reste des contigs. Le nombre maximum de termes par contig était de 34.

En général, on observe que la relation entre le nombre des termes GO et le nombre des contigs est inversement proportionnelle (Fig. 42).

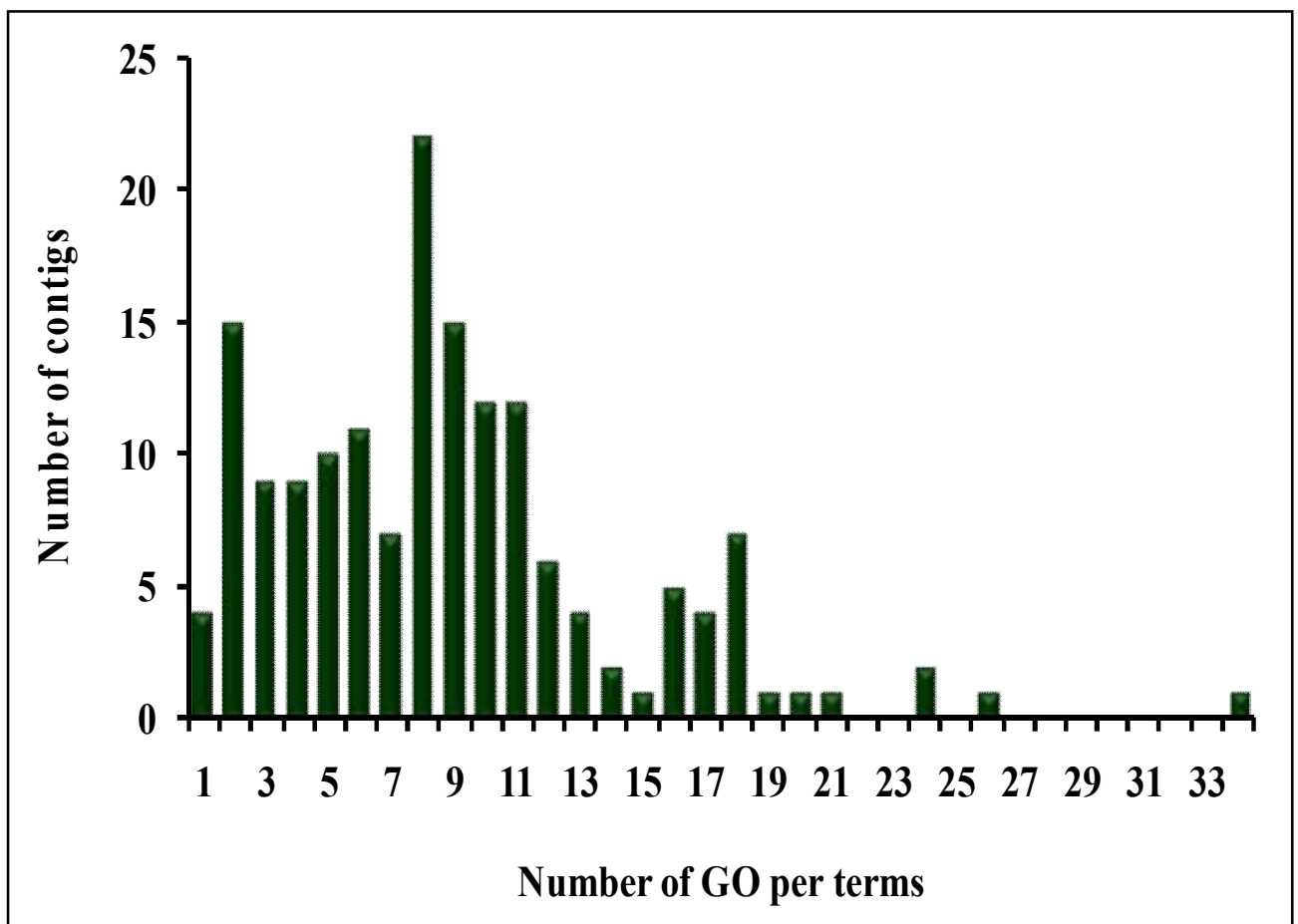


Figure 42. Relation entre le nombre des termes GO et le nombre des contigs

Les résultats de l'analyse sont récapitulés dans le Tableau 2.

Les séquences des contigs d'ESTs étaient alors classées dans des catégories selon la fonction des protéines qu'elles codent :

- Intervention dans le métabolisme (25 contigs ~ 13%).
- Control de l'énergie (10 contigs ~ 5%).
- Division et maturation cellulaire (7 contigs ~ 4%).
- Transcription (7 contigs ~ 4%).
- Synthèse de protéines (5 contigs ~ 3%).
- Stockage des protéines (22 contigs ~ 12%).
- Transport (12 contigs ~ 6%).
- Trafic intracellulaire (3 contigs ~ 1%).
- Structure cellulaire (8 contigs ~ 4%).
- Transduction du signal (7 contigs ~ 4%).
- Intervention en cas de maladies/pour la défense (45 contigs ~ 24%).
- Métabolisme secondaire (3 contigs ~ 2%).

Le reste des contigs représente soit :

- Des protéines dont la classification n'est pas claire (~ 1%).
- Des protéines non classées (~ 8%).
- Des protéines non identifiées (~ 9%).

Ces résultats sont représentés sur la figure 43.

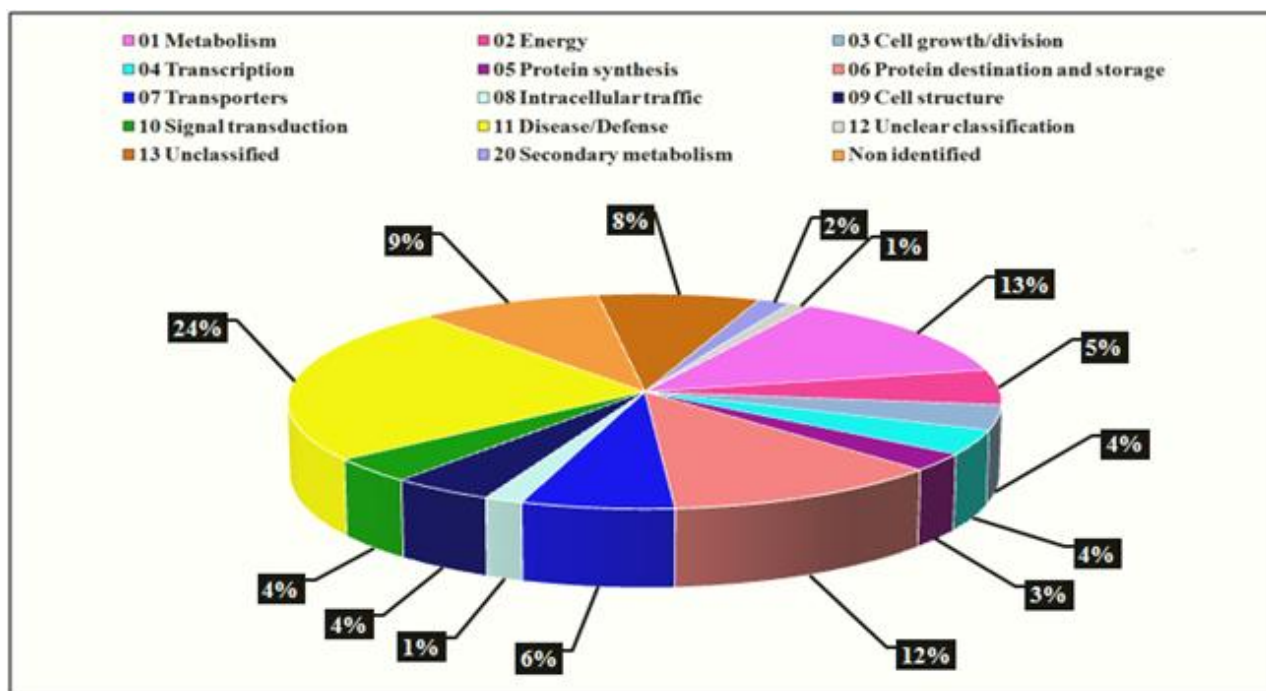


Figure 43. Classification des contigs selon la fonction des protéines qu'ils représentent.

**Tableau 2: Classification et description fonctionnelles des protéines (gènes) identifiées.**

SeqName	Description	Length	#Hits	e-Value	sim mean	#GO	Functional description
<b>01 Metabolism</b>							
Contig2	Delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthetase	760	50	5.30E-115	88%	8	01.01 Amino acid
Contig7	Asparagine synthetase	900	50	1.10E-138	75.12%	8	01.01 Amino acid
Contig12	Dihydropyrimidine dehydrogenase (NADP(+)), chloroplastic	608	50	3.80E-78	89.84%	11	01.01 Amino acid
Contig29	Glutamate decarboxylase	633	100	6.20E-97	88.80%	2	01.01 Amino acid
Contig34	Glutamine synthetase nodule isozyme-like	959	50	1.50E-154	94.38%	5	01.01 Amino acid
Contig52	Arginine decarboxylase, partial	1062	50	1.00E-170	74.70%	4	01.01 Amino acid
Contig99	Arginine decarboxylase	1458	50	2.50E-173	64.98%	4	01.01 Amino acid
Contig105	Aspartic ase oryzasin-1	953	50	4.00E-128	89.28%	8	01.01 Amino acid
Contig122	Glutamine synthetase	993	50	2.10E-164	96.88%	5	01.01 Amino acid
Contig152	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine methyltransferase 1	1612	50	0.00E+00	95.06%	8	01.01 Amino acid
Contig155	Alpha-aminoadipic semialdehyde synthase	1180	50	0.00E+00	84.58%	10	01.01 Amino acid
Contig30	UDP-glucose 6-dehydrogenase 5	1119	100	0.00E+00	88.16%	13	01.05 Sugars and Polysaccharides
Contig82	Sucrose synthase 2	888	100	1.40E-108	96.70%	9	01.05 Sugars and Polysaccharides
Contig136	UDP-glucose 4-epimerase 1	824	50	8.40E-131	86.68%	3	01.05 Sugars and Polysaccharides
Contig148	Xyloglucan endotransglucosylase hydrolase	1186	50	0.00E+00	91.26%	8	01.05 Sugars and Polysaccharides
Contig156	Sucrose:sucrose 1-fructosyltransferase-like	887	50	1.10E-151	84.04%	6	01.05 Sugars and Polysaccharides
Contig38	Acyl-coenzyme A thioesterase 8 isoform X1	871	50	1.60E-68	55.68%	2	01.06 Lipid and sterol
Contig172	Fatty acid desaturase DES2	982	50	5.80E-148	89.28%	6	01.06 Lipid and sterol
Contig176	Phospholipase A1-II 7	786	50	5.70E-100	78.70%	3	01.06 Lipid and sterol
Contig181	Omega-3 fatty acid desaturase, chloroplastic	870	50	2.80E-137	90.70%	6	01.06 Lipid and sterol
Contig22	CHCH domain containing	697	21	5.00E-25	80.62%	3	
Contig61	GDSL esterase lipase At5g55050-like	651	50	8.10E-129	63.48%	3	
Contig62	Catalytic hydrolase	1121	50	0.00E+00	84.64%	2	
Contig63	32 kDa	1140	50	0.00E+00	75.48%	1	
Contig89	Endo-1,3 1,4-beta-D-glucanase	854	50	1.50E-143	77.78%	2	01.05 Sugars and Polysaccharides
<b>02 Energy</b>							
Contig169	Fructose-bisphosphate aldolase cytoplasmic isozyme	884	50	1.30E-177	90.44%	3	02.01 Glycolysis
Contig138	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	1068	50	1.70E-163	96.60%	7	02.01 Glycolysis
Contig86	Pyruvate kinase, cytosolic isozyme	893	50	0.00E+00	94.78%	7	02.01 Glycolysis
Contig157	Triosephosphate isomerase, cytosolic	688	50	7.50E-86	92.62%	26	02.07 Pentose phosphate
Contig73	Isocitrate dehydrogenase [NADP]	861	50	2.50E-147	83.80%	24	02.10 TCA pathway

Contig58	Calvin cycle CP12-1, chloroplastic-like	854	50	1.60E-66	82.90%	2	02.30 Photosynthesis
Contig141	Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase activase small isoform,	1116	50	1.40E-148	95.98%	5	02.30 Photosynthesis
Contig143	Phosphoglycerate kinase, cytosolic	926	50	7.00E-160	94.42%	13	02.30 Photosynthesis
Contig72	Photosystem II 10 kDa polypeptide	842	50	1.90E-71	79.72%	11	02.30 Photosynthesis
Contig158	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase small subunit	788	50	5.90E-109	95.84%	6	02.30 Photosynthesis
<b>03 Cell growth/division</b>							
Contig49	12-oxophytodienoate reductase 1	617	50	1.40E-127	85.18%	12	03.26 Growth regulators
Contig9	Abscisic stress ripening	885	50	6.50E-17	95.34%	1	03.26 Growth regulators
Contig53	Allene oxide synthase, partial	899	50	5.30E-172	83.56%	12	03.26 Growth regulators
Contig125	Allene oxide synthase, partial	1668	50	0.00E+00	81.48%	8	03.26 Growth regulators
Contig108	Bifunctional L-3-cyanoalanine synthase cysteine synthase 1	892	50	3.50E-113	91.06%	24	03.26 Growth regulators
Contig149	Cytokinin-O-glucosyltransferase 2	1081	50	4.70E-102	83.82%	6	03.26 Growth regulators
Contig26	mtN19 precursor	255	100	7.40E-42	70.82%	8	03.26 Growth regulators
<b>04 Transcription</b>							
Contig5	COC1, partial	618	50	6.10E-92	75.76%	10	04.1901 General TFs
Contig44	TATA-box-binding 2	604	50	2.20E-85	98.74%	6	04.1901 General TFs
Contig126	Transcription elongation factor SPT5 homolog 1	864	50	4.30E-32	89.52%	8	04.1901 General TFs
Contig25	Adenosylhomocysteinase	1147	100	0.00E+00	96.20%	9	04.1907 Chromatin modification
Contig27	Ribonuclease 1	808	100	1.40E-107	78.15%	16	0422 mRNA processing
Contig112	CCR4-NOT transcription complex subunit 1 isoform X5	886	10	1.60E+00	65.60%	6	
Contig161	multi-bridging factor 1a	930	50	5.20E-94	92.10%	9	
<b>05 Protein synthesis</b>							
Contig23	60S ribosomal L3	627	100	6.40E-86	89.27%	8	05.01 Ribosomal proteins
Contig56	Elongation factor 1-alpha	775	50	1.70E-136	96.90%	7	05.04 Translation factors
Contig160	Eukaryotic initiation factor 4A	1350	50	0.00E+00	95.84%	8	05.04 Translation factors
Contig179	Eukaryotic initiation factor 4A-3	549	50	9.90E-52	97.10%	8	05.04 Translation factors
Contig131	Translation factor SUI1	1185	50	8.00E-74	95.48%	4	05.04 Translation factors
<b>06 Protein destination and storage</b>							
Contig46	Ankyrin repeat domain-containing 2	758	50	3.00E-137	81.50%	1	06.01 Folding and stability
Contig129	Calreticulin, partial	554	50	1.20E-40	92.22%	8	06.01 Folding and stability
Contig88	Chaperone 2, chloroplastic	1163	50	1.20E-150	94.30%	17	06.01 Folding and stability
Contig117	Cyclophilin 1	856	50	5.50E-92	89.18%	3	06.01 Folding and stability
Contig3	Heat shock cognate 70 kDa 1	502	50	1.00E-37	86.06%	3	06.01 Folding and stability
Contig174	Heat-shock kDa	773	50	1.30E-75	94.42%	2	06.01 Folding and stability
Contig36	Tumor D53	642	50	3.80E-80	85.04%	3	06.01 Folding and stability
Contig162	RING zinc finger domain superfamily	884	50	8.00E-143	84.68%	5	06.01 Folding and stability

Contig184	NEDD8-conjugating enzyme Ubc12	860	50	1.20E-108	88.08%	7	06.13 Proteolysis
Contig121	Polyubiquitin 11	957	50	1.70E-158	99.84%	5	06.13 Proteolysis
Contig120	Polyubiquitin 3	847	50	1.00E-167	96.68%	8	06.13 Proteolysis
Contig57	Polyubiquitin family	893	50	7.40E-159	99.34%	11	06.13 Proteolysis
Contig13	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 28	764	50	1.60E-101	99.34%	19	06.13 Proteolysis
Contig106	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 28-like	964	50	3.60E-90	94.36%	11	06.13 Proteolysis
Contig4	Zinc-metallopeptidase, peroxisomal	1167	50	0.00E+00	84.14%	7	06.13 Proteolysis
Contig40	26S protease regulatory subunit 7	1083	50	4.80E-154	97.04%	10	06.13 Proteolysis
Contig100	Bowman-Birk type wound-induced protease inhibitor	586	50	2.20E-46	65.92%	5	06.13 Proteolysis
Contig127	Bowman-Birk type wound-induced protease inhibitor	810	36	1.30E-44	72.78%	5	06.13 Proteolysis
Contig170	Bowman-Birk type wound-induced protease inhibitor	503	50	1.40E-52	63.58%	5	06.13 Proteolysis
Contig60	Metacaspase, having alternative splicing products	550	50	2.00E-32	88.34%	3	06.13 Proteolysis
Contig111	Vacuolar-processing enzyme-like	866	50	1.50E-138	87.42%	4	06.13 Proteolysis
Contig33	Late embryogenesis abundant Lea14-A	903	50	4.30E-98	82%	6	06.20 storage proteins

#### 07 Transporters

Contig188	Acytochrome-C oxidase electron carrier	324	50	8.20E-02	88.56%	4	07.01 Ions
Contig115	Blue copper	873	50	1.20E-61	72.12%	5	07.01 Ions
Contig187	Blue copper	825	50	2.70E-86	78.60%	5	07.01 Ions
Contig135	Outer plastidial membrane porin	887	50	6.60E-146	83.90%	10	07.01 Ions
Contig173	Potassium transporter 18	577	50	1.30E-74	79.70%	3	07.01 Ions
Contig116	ADP,ATP carrier , mitochondrial	1704	50	0.00E+00	86.78%	6	07.16 Purine/pyrimidines
Contig18	Plasma membrane ATPase	814	100	6.60E-112	92.23%	18	07.22 Transport ATPases
Contig21	V-type proton ATPase 16 kDa proteolipid subunit	964	100	5.80E-72	98.21%	2	07.22 Transport ATPases
Contig145	V-type proton ATPase subunit B 1	891	50	1.40E-151	86.58%	5	07.22 Transport ATPases
Contig110	Lipid transfer	844	50	2.50E-49	82.78%	3	07.99 Others
Contig114	Lipid transfer	905	50	3.90E-40	87.86%	6	07.99 Others
Contig153	Transport Sec61 subunit alpha-like	846	50	4.20E-104	97.04%	4	07.99 Others

#### 08 Intracellular traffic

Contig71	Basic region leucine zipper	748	13	1.10E-03	81.38%	9	08.07 Vesicular
Contig59	AF218627_1plasma membrane associated	1298	50	7.40E-98	88.76%	2	08.07 Vesicular
Contig67	Charged multivesicular body 1-like	616	50	6.00E-61	89.36%	3	08.13 Vacuolar

#### 09 Cell structure

Contig54	Cellulose synthase A catalytic subunit 8 [UDP-forming]	1204	50	0.00E+00	98.04%	6	09.01 Cell wall
Contig151	Actin depolymerization factor	828	50	4.00E-57	76.64%	4	09.04 Cytoskeleton
Contig164	Tubulin alpha-1 chain	1068	50	0.00E+00	99.38%	7	09.04 Cytoskeleton
Contig78	Reticulon B1	1111	100	2.50E-121	83.01%	1	09.07 ER/Golgi

Contig98	Reticulon B2	874	50	3.40E-129	83.12%	3	09.07 ER/Golgi
Contig133	Histone	846	50	2.00E-43	98.20%	6	09.13 Chromosomes
Contig137	Glucuronosyltransferase Os01g0926700	1620	50	0.00E+00	82.10%	10	09.99 Others
Contig130	Glycoside hydrolase family 6	971	50	1.50E-60	55.08%	3	09.99 Others
<b>10 Signal transduction</b>							
Contig178	Cobalamin B12-binding domain	865	8	2.20E-62	69.25%	1	10.01 Receptors
Contig84	Inner membrane yaaH	707	50	1.60E-17	61.68%	1	10.01 Receptors
Contig43	TIFY 10A	1131	50	2.80E-157	67.88%	8	10.04 Mediators
Contig42	Calcium-dependent kinase	613	50	1.50E-143	96.40%	12	10.0404 Kinase
Contig16	Two-component sensor histidine kinase	217	2	3.00E+00	56%	2	10.0404 Kinase
Contig75	Inactive purple acid phosphatase 27	1593	50	0.00E+00	91.26%	4	10.0407 Phosphatases
Contig119	Signal anchor,	574	50	1.90E-31	74.06%	2	10.99 Others
<b>11 Disease/Defense</b>							
Contig101	Germin 8-4	782	50	3.90E-115	85.22%	7	11.01 Resistance genes
Contig124	Germin 1-1	860	50	1.80E-133	87.10%	10	11.02 Defence-related
Contig76	Harpin inducing	854	50	1.90E-118	64.74%	8	11.02 Defence-related
Contig66	Membrane steroid-binding 1	614	50	1.50E-29	70.80%	11	11.02 Defence-related
Contig118	Pathogenesis-related 1	763	50	6.40E-93	87%	10	11.02 Defence-related
Contig123	Pathogenesis-related 1	863	50	1.20E-106	87.56%	10	11.02 Defence-related
Contig183	Phospho-2-dehydro-3-deoxyheptonate aldolase 2, chloroplastic	868	50	2.50E-104	94.42%	10	11.02 Defence-related
Contig55	Plastid-lipid-associated 3, chloroplastic	637	50	6.60E-64	87.96%	4	11.02 Defence-related
Contig142	P-like	985	50	3.60E-135	93.06%	9	11.02 Defence-related
Contig146	Precursor thionin	794	50	9.80E-81	75.86%	2	11.02 Defence-related
Contig39	Subtilisin-chymotrypsin inhibitor-2A	651	50	3.80E-36	77.60%	5	11.02 Defence-related
Contig50	Aldehyde dehydrogenase family 2 member B7,	255	50	5.20E-52	94.22%	8	11.05 Stress responses
Contig80	Aldehyde dehydrogenase family 3 member H1-like	749	100	1.10E-75	80.65%	17	11.05 Stress responses
Contig128	Aldehyde dehydrogenase family 7 member A1	1481	50	0.00E+00	90.42%	11	11.05 Stress responses
Contig167	Alpha-dioxygenase, , expressed	1081	50	7.20E-179	85.22%	14	11.05 Stress responses
Contig87	Dehydrin HIRD11	619	10	7.50E-01	90.40%	-	11.05 Stress responses
Contig168	Pyrophosphate-energized vacuolar membrane proton pump-like	765	50	2.50E-42	97.72%	16	11.05 Stress responses
Contig31	S-adenosylmethionine decarboxylase	1053	100	6.40E-57	68.15%	9	11.05 Stress responses
Contig186	S-adenosylmethionine synthase 1	1202	50	0.00E+00	95.72%	13	11.05 Stress responses
Contig134	Salt stress 3	926	21	4.90E-83	67.38%	1	11.05 Stress responses
Contig35	Salt stress root RS1	621	50	1.70E-44	76.44%	34	11.05 Stress responses
Contig10	Salt stress-induced hydrophobic peptide ESI3	722	50	7.10E-20	89.42%	2	11.05 Stress responses
Contig85	Synaptic glyco SC2	911	50	1.40E-113	87.14%	14	11.05 Stress responses

Contig180	UPF0664 stress-induced –like	942	50	3.60E-123	87.76%	4	11.05 Stress responses
Contig113	Cysteine ase 1	1051	50	0.00E+00	91%	10	11.05 Stress responses
Contig48	Cysteine ase inhibitor	629	50	1.90E-51	88.56%	9	11.05 Stress responses
Contig163	Ferritin-1, chloroplastic	782	50	1.60E-120	95.48%	6	11.05 Stress responses
Contig20	12-oxo-phytodienoic acid reductase	809	100	9.00E-158	81.84%	3	11.06 Detoxification
Contig45	Aldo-keto reductase 2	763	50	2.00E-140	91.44%	2	11.06 Detoxification
Contig171	Ascorbate peroxidase	839	50	9.30E-121	90.46%	8	11.06 Detoxification
Contig83	Catalase HPII	878	100	4.30E-103	72.62%	10	11.06 Detoxification
Contig102	Glutathione peroxidase	912	50	1.60E-114	94.68%	14	11.06 Detoxification
Contig182	Glutathione reductase, cytosolic	1065	50	0.00E+00	91.84%	9	11.06 Detoxification
Contig147	Glutathione transferase	969	50	2.50E-157	87.70%	4	11.06 Detoxification
Contig41	Inositol oxygenase	623	50	4.60E-105	86.70%	7	11.06 Detoxification
Contig79	Lipoxygenase , chloroplastic	432	3	2.10E-12	91.67%	2	11.06 Detoxification
Contig65	Methylsterol monooxygenase 1-1-like	1311	50	2.00E-169	78.92%	5	11.06 Detoxification
Contig19	Peroxidase 5-like	839	100	1.40E-65	69.30%	11	11.06 Detoxification
Contig77	Serine arginine-rich SC35-like splicing factor SCL30	1178	100	6.50E-71	77.76%	6	11.06 Detoxification
Contig154	Superoxide dismutase 2	850	50	9.20E-99	90.04%	10	11.06 Detoxification
Contig8	Thiazole biosynthetic enzyme Thi4 family	581	50	4.00E-37	85.50%	17	11.99 Others
Contig14	60 kDa jasmonate-induced –like	646	50	1.70E-93	52.32%	4	11.99 Others
Contig32	NADP-dependent malic enzyme	1141	50	6.10E-146	95.46%	8	11.99 Others
Contig109	23 kDa jasmonate-induced –like	895	50	3.70E-137	67.48%	-	11.99 Others
Contig140	Brown planthopper-induced resistance 1	922	50	9.80E-120	75.80%	3	11.99 Others

#### 12 Unclear classification

Contig64	Metallothionein 1	895	35	4.40E-13	69.31%	2	
Contig70	Carbonic anhydrase	914	50	1.20E-151	84.44%	5	
Contig104	Metallothionein type 2	913	29	1.90E-15	74.28%	7	
Contig177	Metallothionein, partial	551	50	8.00E-17	73.18%	1	

#### 13 Unclassified

Contig1	Hypothetical protein mgI388	228	4	1.50E-09	66.25%	-	
Contig24	Hypothetical protein TRIUR3_16201	668	6	4.20E-12	83.33%	-	
Contig6	Predicted protein	1022	50	1.40E-108	90.30%	3	
Contig37	Predicted protein	644	2	2.70E-08	93.50%	-	
Contig47	Hypothetical protein F775_17917	667	2	1.50E-05	87.50%	-	
Contig90	Hypothetical protein	848	50	6.20E-48	66.08%	-	
Contig74	Predicted protein	892	50	3.60E-101	85.32%	-	
Contig103	Predicted protein	883	2	1.20E+00	50.50%	-	

Contig107	uncharacterized protein LOC104889602	877	50	1.80E-48	57.68%	2	
Contig132	Hemiasterlin resistant 1-like	1053	50	2.80E-51	84.44%	-	
Contig144	Hypothetical protein TRIUR3_16979	1070	1	2.10E-48	77%	1	
Contig150	, partial	812	50	1.90E-45	92.14%	1	
Contig166	Hypothetical protein TRIUR3_17864	851	7	1.10E-14	80.57%	-	
Contig175	Os01g0794100, partial	1009	50	1.20E-61	64.16%	-	
Contig185	Hypothetical protein F775_13555	848	50	7.90E-23	83.48%	1	
<b>20 Secondary metabolism</b>							
Contig17	Flavonoid 3 -monooxygenase-like	908	50	1.20E-35	66.98%	6	20.1 Phenylpropanoids/phenols
Contig51	Phosphoethanolamine N-methyltransferase 1	1171	50	2.90E-100	76.66%	10	20.5 Amines
Contig69	Phosphoethanolamine N-methyltransferase 1	895	50	1.40E-114	87.86%	10	20.5 Amines
<b>Non Identified</b>							
Contig11	---NA---	272	0	-	-	-	
Contig15	---NA---	846	0	-	-	-	
Contig28	---NA---	640	0	-	-	-	
Contig68	---NA---	607	0	-	-	-	
Contig81	---NA---	436	0	-	-	-	
Contig97	---NA---	1121	0	-	-	-	
Contig91	---NA---	627	0	-	-	-	
Contig92	---NA---	768	0	-	-	-	
Contig93	---NA---	811	0	-	-	-	
Contig94	---NA---	859	0	-	-	-	
Contig95	---NA---	800	0	-	-	-	
Contig96	---NA---	870	0	-	-	-	
Contig139	---NA---	665	0	-	-	-	
Contig159	---NA---	870	0	-	-	-	
Contig165	---NA---	735	0	-	-	-	

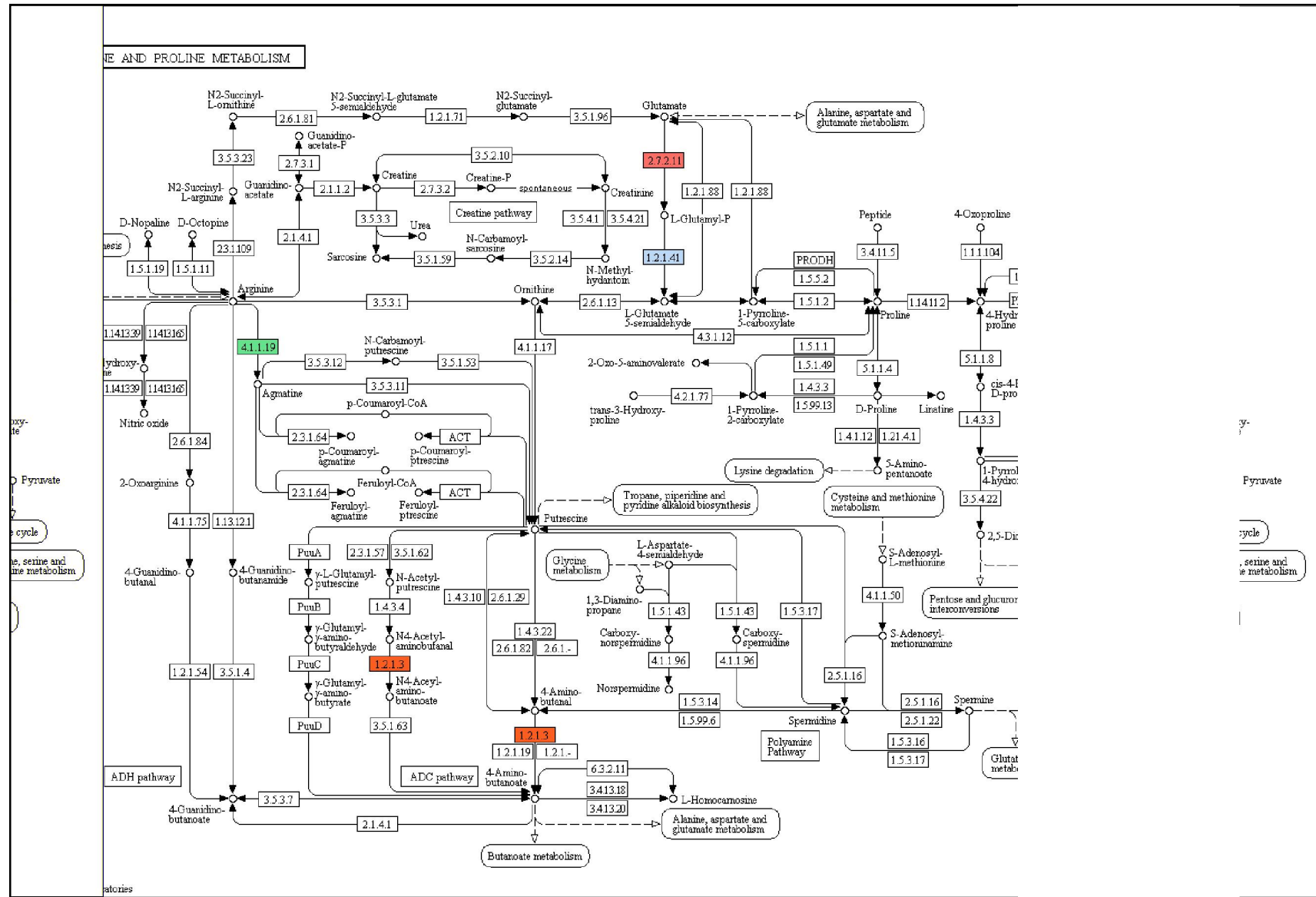


Figure 44. Métabolisme de la proline et l'arginine.





### 3. DISCUSSION

La salinité est l'un des stress abiotiques majeurs affectant la croissance et le développement des plantes (Munns & Tester, 2008). La tolérance des plantes aux stress salin fait intervenir plusieurs voies de signalisation cellulaire et de métabolisme. L'identification des gènes impliqués dans le contrôle et la régulation de ces voies semble d'une importance capitale pour envisager quelque voie d'amélioration génétique de la tolérance des plantes au stress salin (Ashraf & Akram, 2009).

L'orge est l'une des glycophytes tolérantes à la salinité. Du coup, les analyses génomiques, transcriptomiques et protéomiques de l'orge cultivée sous conditions de stress salin semblent très utiles pour l'identification et la caractérisation fonctionnelle des gènes de tolérance à la salinité. L'identification de ces gènes est d'une importance capitale dans l'élaboration des programmes d'amélioration génétique de la tolérance à la salinité non seulement de l'orge mais aussi des autres céréales d'hiver ayant un intérêt économique plus important comme les blés (Houde et al., 2006).

L'analyse des séquences EST associées aux stress abiotiques est l'une des approches efficaces pour la prédiction ou l'identification des gènes impliqués dans la tolérance des plantes aux stress abiotiques (Changming & Jie, 2011; Eswaran et al., 2012; Houde et al., 2006).

Dans la présente étude 2037 séquences EST associées à la réponse de l'orge au stress salin, disponibles sur la banque de données NCBI, ont été analysées dans le but d'identifier et de prédire *in-silico* les gènes/protéines impliqués dans la tolérance de l'orge à la salinité.

Dans ce qui suit, nous discutons l'importance potentielle des gènes identifiés dans la tolérance des plantes à la salinité.

#### 3.1. Gènes impliqués dans la signalisation cellulaire/la transcription et le contrôle de la croissance cellulaire.

Sur les 188 contigs-EST obtenus, 32 sont identifiés comme étant des gènes/protéines associés à la signalisation cellulaire, la transcription, le contrôle de la croissance ou division cellulaire (Tableau 2).

Les différents aspects de la croissance et du développement des plantes ainsi que les activités physiologiques sont connus pour être contrôlés et régulés à travers un réseau de signaux chimiques tels que les ions  $\text{Ca}^{2+}$ , les phytohormones, les MAP kinases,... (Mahajan et al., 2008).

L'adaptation des plantes à la salinité, comme tout autres stress abiotique, dépend en premier lieu de la perception du STRESS et la transduction des signaux intra- et intercellulaire pour aboutir à l'élaboration d'une réponse d'adaptation (Zhu, 2002).

Le signal de stress extracellulaire est d'abord perçu par les récepteurs membranaires qui vont par la suite activer une cascade complexe de signaux intracellulaires, dont les ions  $\text{Ca}^{2+}$  vont constituer les messagers secondaires (**Mahajan et al., 2008**).

La spécificité des signaux calciques peut être obtenue grâce à la multitude de récepteurs calciques ainsi que leurs différentes localisations intracellulaires (**Mahajan et al., 2008**). Suite à cette identification et reconnaissance de signaux, ces récepteurs transmettent l'information via une série de phosphorylation-déphosphorylation qui va mener à une régulation de l'expression de gènes d'adaptation au stress et aboutir enfin à une réponse phénotypique telle que l'inhibition de croissance ou l'apoptose cellulaire (**Mahajan et al., 2008**). Il existe trois familles de protéines réceptives et sensibles aux signaux calciques chez les végétaux (**Yang & Poovaiah, 2003**).

L'implication des signaux calciques dans la réponse aux stress ioniques et osmotiques est un phénomène bien connu (**Knight & Knight, 2001**). En condition de concentration externe élevée de sodium, celui-ci pénètre au niveau des cellules racinaires à travers des canaux et transporteurs d'ions non spécifiques, provoquant ainsi une dépolarisation électrique au niveau des membranes ainsi qu'une réduction de la turgescence des cellules et un décollement de la membrane plasmique de la paroi, ce qui engendre une activation des canaux calciques  $\text{Ca}^{2+}$  (**Sanders et al. 1999**) et, par conséquent, une modification de la concentration en  $\text{Ca}^{2+}$  cytoplasmique jouant ainsi le rôle de premier signal de stress (**Knight & Knight, 2001**). L'importance de ce flux de calcium dans la signalisation du stress a été mise en évidence chez des plantes d'*Arabidopsis* sur-exprimant un antiport vacuolaire  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$  et dont les niveaux de calcium intracellulaire ont été altérés, rendant ainsi les plantes hypersensibles au stress salin (**Hirschi, 1999**).

Les protéines sérine/thréonine kinases sont des protéines impliquées dans la réponse des plantes aux différents types de stress et maladies par l'intermédiaire d'une cascade de signalisation vraisemblablement conservé dans le monde végétal (**Zhang et al., 2001**).

Les MAPs sont également impliquées dans la différenciation cellulaire, la division et la réponse au stress (**Robinson & Cobb, 1997**). Dans de nombreuses études il a été démontré que les MAPK signalent les stress biotiques et abiotiques, y compris le froid et la sécheresse (**Jonak et al., 1996**) blessant (**Zhang & Klessig, 1998**), l'action des hormones (**Ligterink & Hirt, 2001**) et l'attaque des agents pathogènes des plantes.

En accord avec ce qui vient d'être dit, nous avons identifiées plusieurs gènes impliqués dans la signalisation cellulaire tels est l'exemple des gènes codant pour la Calcium-dependent kinase (Contig42) et un récepteur histidine-kinase (Contig16), etc.

Sept (07) gènes étaient identifiés comme étant des gènes qui codent pour des facteurs de transcription ou des protéines/enzymes impliquées dans la transcription. Trois autres gènes sont impliqués dans le trafic cellulaire. Parmi les gènes identifiés nous citons la protéine TBP (TATA-box-binding protein-contig44), qui est l'élément clé du complexe de facteur de base qui se forme sur la plupart des promoteurs de gènes.

En effet, de nombreuses familles de facteurs de transcription (FTs) notamment ; les protéines MYB, 'Leucine Zipper', doigt de zinc (Zinc Finger) et WRKY semblent être impliquées dans la régulation de la transcription de beaucoup de gènes en réponse aux stress abiotiques.

MYB est l'une des plus importantes familles de FTs impliqués dans la réponse des plantes au stress salin - voie dépendante de ABA - (Dubos et al., 2010). La transcription des MYB s'est révélée pour être induite pas la déshydratation et que cette sur-expression reste de mise jusqu'à la réhydratation (Urao et al., 1993).

Les protéines 'Leucine Zipper' (contig71) jouent un rôle pivotant dans la réponse des plantes aux stress abiotiques, la régulation de la croissance des plantes en réponse au signaux environnementaux (Ariel et al., 2007).

Les protéines doigt de zinc 'Zinc finger' sont nécessaires pour de nombreuses fonctions clés, comme la régulation transcriptionnelle du développement et la défense contre les pathogènes et les stress abiotiques (Ciftci-Yilmaz & Mittler, 2008).

Les protéines contenant le domaine CHCH (CHCH domain containing protein-contig22, semblent aussi jouer un rôle important dans la régulation des processus impliquant les hormones végétales en réponse aux stress abiotiques (Bhaskar et al., 2015).

Dans cette même ligne de pensée, les protéines contenant le domaine TIFY 10A (contig43), semblent jouer un rôle important dans la régulation des processus impliquant l'acide jasmonique et en réponse aux stress abiotiques (Ye et al., 2009).

Plusieurs gènes impliqués dans la synthèse et la signalisation des phytohormones ont été identifiés, notamment ceux de l'ABA (contigs 9 et 26), l'acide jasmonique (contigs 49, 53 et 125), auxin (contig108) et les cytokinines (contig149).

L'ABA est une hormone végétale, sesquiterpène (C15) lipophile, qui joue un rôle important dans plusieurs aspects de la croissance et du développement des plantes, en commençant par la germination jusqu'à la fructification, mais également, elle intervient dans l'adaptation aux stress abiotiques (Pardo, 2010). Elle est également impliquée dans la signalisation à longue distance du stress des racines aux feuilles (Rock et al. 2010). La réduction de la turgescence des cellules suite

au stress osmotique conduit à une synthèse et accumulation d'ABA qui va activé les mécanismes de réponse et d'adaptation au stress (**Xiong & Zhu, 2002**).

La signalisation auxinique joue également un rôle clé dans la régulation de nombreux processus de développement depuis l'embryogenèse jusqu'à la sénescence. La voie de l'auxine semble être une partie intégrante des mécanismes de tolérance aux stress biotiques et abiotiques (**Zhang et al., 2012**).

D'autre part, la modification de la composition des structures cellulaires/nucléaires semble aussi être importante pour la tolérance des stress abiotiques. En effet, de nombreux gènes impliqués dans ces processus ont été identifiés, à l'exemple du facteur de dépolymérisation de l'actine (contig151), la tubuline (contig164), la cellulose synthétase (Contig54), Histone (Contig133), etc.

Les actines et les tubulines sont des protéines impliquées dans de nombreux processus de bases incluant la détermination de la polarité cellulaire, la division cellulaire, le dépôt des constituants des parois cellulaire et l'élongation cellulaire (**Mascarenhas, 1993**).

### **3.2. Gènes impliqués dans le métabolisme primaire et énergétique**

Trente cinq gènes ont été identifiés pour être impliqués dans le métabolisme primaire et la production de l'énergie. Parmi ces gènes, 11 gènes (contigs 2, 7, 12, 29, 34, 52, 99, 105, 122, 155) sont impliqués dans le métabolisme des acides aminés/azote, 5 gènes (contigs 30, 82, 136, 148, 156) impliqués dans le métabolisme des glucides et 4 gènes (contigs 38, 172, 176, 181) dans celui des lipides. D'autre part, 10 gènes sont impliqués dans la production de l'énergie, notamment la photosynthèse (contigs 58, 141, 143, 72, 158), la glycolyse (contigs 86, 138, 169).

La réponse des plantes aux stress abiotiques est souvent associée avec ou résulte de l'ajustement de diverses voies métaboliques. Les gènes de cette classe sont impliqués dans différentes voies métaboliques notamment celles des acides aminés, des glucides et des lipides.

Nombre de gènes impliqués dans le métabolisme des glucides tels que l'aldéhyde déshydrogénase (ADH), la Glycéraldéhyde-3 Phosphate Déshydrogénase (GAPDH), la Malate déshydrogénase (MDH), etc., semblent jouer un rôle important dans la réponse des plantes aux stress.

L'activité de l'enzyme ADH est souvent utilisée comme bio-indicateur pour le stress hydrique dans les légumes (**El-Enany et al., 2014**). L'ADH est cruciale pour la régénération du NADH et ainsi la continuité de la voie glycolytique (**Johnson et al., 1994**).

La Glycéraldéhyde-3 Phosphate Déshydrogénase (GAPDH-contig138) est une enzyme dont l'activité change constamment en fonction des exigences de la croissance et le développement ainsi qu'en réponse aux conditions de l'environnement (**Yang et al., 1993**).

La plupart de ces enzymes sont connues pour changer leur expression en réponse aux stress (**Laxalt et al., 1996**), car elles sont impliquées dans le maintien du pool métabolique pour aider les voies métaboliques à contourner les stress, notamment en ce qui concerne la dépense énergétique.

Parmi les gènes identifiés dans cette catégorie, la Delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthétase (contig2) et la Glutamate décarboxylase (contig29) et l'Arginine décarboxylase (contig52, 99), sont impliquées dans la synthèse de la PROLINE (Fig. 44).

Les teneurs en proline s'accroissent rapidement chez de nombreuses plantes soumises à un stress salin (**Silva-Ortega et al. 2007**). Cette augmentation de la concentration de proline cytoplasmique est consécutive à la stimulation de sa synthèse, résultant d'une élévation des quantités des messagers codant pour l'enzyme qui convertit le glutamate semi-aldéhyde en proline. Il existe deux voies de biosynthèse de la proline chez les plantes, celle de l'ornithine et celle du glutamate. Cette dernière semble être prédominante sous conditions de stress (**Silva-Ortega et al. 2007**). Il semble que la stimulation de la synthèse de proline soit parallèle à une activation globale d'une voie métabolique partant du glutamate semi-aldéhyde et conduisant à la proline, mais aussi aux polyamines, via l'ornithine et l'arginine (**Bartels & Sunkar, 2005**).

La proline agit en tant que composé soluble compatible dans l'ajustement osmotique pouvant atteindre de fortes concentrations sans exercer d'effet toxique comme le cas des ions (**Silva-Ortega et al., 2007**). En plus du rôle osmotique attribué à la proline, celle-ci intervient dans la détoxification des formes actives d'oxygène (**Kocsy et al., 2005**) et la stabilisation des protéines (**Ashraf & Foolad, 2007**), protégerait l'intégrité de la membrane plasmique (**Mansour, 1998**) et constituerait une source de carbone et d'azote (**Sairam & Tyagi, 2004**).

Trois enzymes identifiées dans cette étude semblent être impliquées dans le métabolisme de l'alanine bêtaïne (contig12, contig52, contig128). Les bêtaïnes, qui ont la particularité d'être méthylées, sont issues soit de la proline, soit d'autres acides aminés (**Rathinasapabathi, 2000**). Elles interviennent au niveau de l'ajustement osmotique, de l'osmoprotection et de la protection des enzymes (**Gorham, 1992**). En cas de stress salin, on considère que l'intensification du métabolisme de la choline (précurseur de la glycine bêtaïne) peut participer au maintien des flux transmembranaires, par un renouvellement plus intense de la phosphatidylcholine, choline phosphorylée qui est la composante majeure des membranes cellulaires (**Levigneron et al., 1995**). L'application exogène des bêtaïnes a permis d'améliorer la tolérance et le comportement de

certaines plantes (tabac, blé, avoine, riz, soja, tomate et haricot) vis-à-vis des stress hydrique (WeiBing & Rajashekar, 1999) et salin (Lutts, 2000).

L'Arginine décarboxylase (ADC, EC 4.1.1.19, contig52 et 99) est la première enzyme de la biosynthèse des polyamines (PAs) à partir de l'arginine. L'implication des polyamines, tels que la putrescine, la spermidine et la spermine, dans la tolérance à la salinité a été récemment évoquée par Alcázar *et al.* (2006), Groppa & Benavides (2007) et Toumi *et al.* (2010), probablement via le contrôle de plusieurs fonctions cellulaires, notamment l'activité anti-oxydante, la biosynthèse des protéines et de l'éthylène, et la neutralisation des radicaux libres (Sairam & Tyagi, 2004). Étant de nature poly-cationique et chargés positivement à pH physiologique, les polyamines pourraient établir des liaisons avec les sites anioniques, tels que ceux associés aux acides nucléiques et aux phospholipides membranaires, et affecteraient par conséquent les systèmes physiologiques. Cependant, persistent des doutes concernant le rôle que celles-ci jouent dans la tolérance au stress, et certains points inconnus restent encore à élucider (Groppa & Benavides, 2007).

### 3.3 Gènes liés au stress abiotique et au détoxification

L'un des effets indirects de la salinité sur les plantes, l'induction d'un stress oxydatif. Le stress salin est considéré comme l'une des causes essentielles de la dégradation des membranes cellulaires et la mort cellulaire (Bartel, 2001). Les aldéhydes constituent la majeure portion des produits de la peroxydation des lipides et sont toxiques à cause de leur réactivité chimique.

L'augmentation de l'activité des aldéhydes déshydrogénases (contig50, 80 et 128) représente ainsi une voie potentielle pour l'amélioration de la tolérance des plantes au stress salin via la protection des constituants cellulaire contre l'action des aldéhydes toxiques et la réduction de la peroxydation des lipides.

L'activation des phospholipases est à l'origine de la production de molécules de signalisation importantes dans la défense, telles que les oxylipines et le jasmonate, ainsi que des messagers secondaires puissants (IP3). Il a été constaté que la phospholipase A (contig176) et phospholipase C jouent un rôle important dans le contrôle de la réponse de défense de la plante à l'attaque des envahisseurs pathogènes (Munnik *et al.*, 2009).

Afin de protéger ces membranes et ces macromolécules contre les effets du stress oxydatif, les plantes utilisent une large gamme d'enzymes antioxydantes ou impliquées dans la biosynthèse des molécules antioxydantes (Sairam & Tyagi, 2004).

Les formes actives d'oxygène, telles que le peroxyde d'oxygène ( $H_2O_2$ ), les radicaux superoxydes ( $O_2^-$ ) et hydroxyl (OH), sont produites au cours des processus cellulaires aérobie et de façon plus accrue suite aux stress abiotiques, notamment la salinité (Foyer & Noctor, 2000;

**Brosché et al., 2010**). Ces composés, lorsqu'ils sont accumulés en faible quantité, peuvent servir de signal pour induire l'expression de gènes de réponse et de défense cellulaires (**Parent et al., 2008**). Plus de 150 gènes ont été recensés chez *Arabidopsis* pour être impliqués dans le réseau complexe de détoxification (**Mittler et al., 2004**). La production excessive de ces composés provoque des dégâts oxydatifs, et ils deviennent toxiques pour la cellule (**Mahajan et al., 2008**). Le radical hydroxyl, par exemple, risque d'endommager les structures chlorophylliennes, protéiques, nucléiques et lipidiques, et par conséquent entraver le métabolisme cellulaire, la physiologie de la plante et finalement la croissance et le rendement (**Imlay & Linn, 1988**). Par conséquent, la plante doit constamment déployer ses mécanismes de défense pour pallier ces dommages. De ce fait, et afin d'éliminer ces ROS, les plantes possèdent des antioxydants (de nature non enzymatique) de faible masse moléculaire, tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes, et l'acide ascorbique (**Ashraf, 2008**), mais aussi, elles emploient une vaste panoplie d'enzymes, telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), l'ascorbate peroxydase (APX), la glutathion S-transférase (GST) et la glutathion peroxydase (GPX) (**Blumwald et al., 2004; Sairam & Tyagi, 2004**).

La superoxyde dismutase (contig154) peut éliminer le radical superoxyde en catalysant la réaction de dismutation de  $O_2^-$  en  $H_2O_2$  qui, malgré tout, reste un intermédiaire toxique. La concentration de ce dernier peut être régulée par des enzymes, telles que l'APX (contig171), la CAT (contig83) ou bien la GPX (contig102) (**Parent et al., 2008**). Des plantes de riz transgéniques sur-exprimant la SOD de levure affichent une meilleure tolérance à la salinité (**Tanaka et al., 1999**). La sur-expression d'une peroxydase chez des plantes de tabac améliore leur capacité de germination sous stress osmotique (**Amaya et al., 1999**). De même, des tabacs transgéniques sur-exprimant la GST et la GPX présentent une amélioration de la germination et de la croissance sous stress salin (**Roxas et al., 2000**). En condition de stress salin, l'activité de ces deux dernières enzymes est plus intense chez la tomate sauvage (*Lycopersicon pennellii* (Correll) D'arcy) tolérante que chez la tomate cultivée (*Lycopersicon esculentum* L.) sensible (**Mittova et al., 2003**). Selon les études de transcriptomique effectuées par **Cramer et al. (2006)**, le stress salin induit l'expression des précurseurs de la biosynthèse du glutathion chez la vigne, ainsi que des enzymes associées au cycle du glyoxylate qui est important pour l'oxydation des acides gras (fourniture d'énergie) et pour la photorespiration.

Des concentrations élevées de glutathion confèreraient une meilleure protection anti-oxydative, et cela permet d'attribuer à ce composé un rôle central dans la réponse aux stress environnementaux (**Tausz et al., 2004**). Cependant, lorsque les mécanismes d'exclusion et (ou) de compartimentation vacuolaire de sodium sont particulièrement efficaces, tel le cas des plantes transgéniques de *Brassica napus* L. sur-exprimant l'antiport NHX, les plantes n'ont pas manifesté

cette forme de réponse anti-oxydative (**Ruiz & Blumwald, 2002**). Par ailleurs, les travaux de **Miller et al. (2007)** sur des mutants APX simples et (ou) doubles d'Arabidopsis (chloroplastique *tylapx* et cytoplasmique *apx1*) exhibant une tolérance à la salinité, laissent planer quelques incertitudes et soupçons quant à l'efficacité de manipulation d'un seul gène qui soit lié au système enzymatique anti-oxydatif pour acquérir la tolérance à la salinité. D'autres voies de signalisation semblent intervenir chez ces mutants, traduisant ainsi la densité et la flexibilité du réseau anti-oxydant enzymatique (**Türkan & Demiral, 2009**).

L'acide ascorbique (Fig. 45) est l'antioxydant le plus abondant dans la nature et probablement le plus puissant composé de détoxication des formes actives d'oxygène (**Ashraf, 2008**). En accord, plusieurs gènes impliqués dans la biosynthèse de l'acide ascorbique sont identifiés dans cette étude (contigs 41, 50 et 171).

Le glutathion (Fig. 46) est un tripeptide abondamment présent dans les tissus végétaux et pratiquement ubiquitaire dans tous les compartiments cellulaires ; sous sa forme réduite, il est capable de réaliser la détoxication des formes actives d'oxygène et de contrôler le système redox cellulaire (**Ashraf, 2008**). En accord, plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme du glutathion sont identifiés dans cette étude (contigs 73, 102, 147, 171 et 182).

#### **4. CONCLUSION**

Cette étude a été réalisée dans le but de prédire et de caractériser fonctionnellement des gènes de réponse au stress salin chez l'orge en analysant des séquences EST obtenues de la banque de données NCBI (21/03/2015).

L'analyse des 2037 séquences-EST nous a permis d'identifier un nombre assez important de contigs-EST (188) comme étant des gènes potentiellement impliqués dans la tolérance de l'orge à la salinité. Sur ces 188 contigs-EST, nous avons identifié 154 gènes, parmi lesquels 45 gènes ont été identifiés comme étant des gènes de défense contre les stress.

Pour le reste des gènes identifiés (116 gènes), l'analyse bibliographique a révélé qu'une partie assez importante (~80%) est déjà connue pour être impliquée dans la tolérance des glycophytes (non halophytes) à la salinité. En ce qui concerne les gènes identifiés mais dont on ignore les rôles joués dans la tolérance à la salinité, ceux-ci constituent de potentiels points de départ pour les futures recherches sur la caractérisation moléculaire de l'adaptation des plantes à la salinité.

Enfin, les quinze (15) contigs dont on n'a pas pu leur attribuer une structure/nature donnée par alignement, constituent également de potentiels gènes de stress et dont l'identification nécessite l'utilisation d'autres moyens d'analyse, par exemple par la recherche de motifs spécifiques.

Cette étude propose l'intervention possible de ces gènes dans les mécanismes de réponse au stress salin et peut être utile dans les programmes de recherche visant l'amélioration de la résistance au stress salin (**Jyotika Bhati et al., 2014**).

**Références bibliographiques**

1. Alam M.Z., Haider, S.A. and Paul N.K., 2007. Yield and Yield Components of Barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars in Relation to Nitrogen Fertilizer. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(10): 1022-1026, 2007.
2. Alcázar R, Marco F, Cuevas JC, Patron M, Ferrando A, Carrasco P, Tiburcio AF, Altabella T., 2006. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. *Biotechnol. Lett.* 28(23): 1867-1876
3. Amaya I, Botella MA, De La Calle M, Medina MI, Heredia A, Bressan RA, Hasegawa PM, Quesada MA, Valpuesta V., 1999. Improved germination under osmotic stress of tobacco plants overexpressing a cell wall peroxidase. *FEBS Lett.* 457(1): 80-84.
4. AMPROU Pierre-Yves, Laurent BARADUC, Patrick BODIE, Malik TSEBIA, Quentin MATHIEU, Thierry POUCH, Mars 2016. Mes Marchés, Note de conjoncture: Céréales & oléagineux. P2.
5. Ananchanok Tirajoh, Theingi S. T. Aung, Ashley Byun McKay and Aine L., 2004. Stress-responsive alpha-dioxygenase expression in tomato roots. 713-23.
6. Ariel F. D., Manavella P. A., Dezar C. A., & Chan R. L., 2007. The true story of the HD-Zip family. *Trends in plant science*, 12(9), 419-426.
7. Ashraf M, Foolad MR., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* 59(2): 206-216
8. Ashraf M., 2008. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnol. Adv.* 27(1): 84-93
9. Ashraf M. & Akram N. A. 2009. Improving salinity tolerance of plants through conventional breeding and genetic engineering: an analytical comparison. *Biotechnology advances*, 27(6), 744-752.
10. Bartel D., 2001. Targeting detoxification pathways: An efficient approach to obtain plant with multiple stress tolerance? *Trends Plant. Sci.* 6,284-286.
11. Bartels D., Sunkar R., 2005. Drought and salt tolerance in plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 24(1): 23-58 CrossRef, ISI.
12. Ben Naceur M., Rahmoune C., Sdiri H., Meddahi M.L. et Selmi M. 2001. Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grains de quelques variétés Maghrébines de blé. *Sécheresse (France)* 12, (3), 167-174.
13. Bhaskar RV, Mohanty B, Verma V, Wijaya E, Kumar PP, 2015. A Hormone-Responsive C1-Domain-Containing Protein At5g17960 Mediates Stress Response in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE* 10(1): e0115418.

14. Bhati J, Chaduvula KP, Rai A, Gaikwad K and Soma Marla S., 2016. *In- Silico* Prediction and Functional Analysis of Salt Stress Responsive Genes in Rice (*Oryza sativa*). J Rice Res 4:164.
15. Bhati J, Chaduvula PK, Rani R, Kumar S and Rai A., 2014. In-silico prediction and functional analysis of salt stress responsive genes in Maize (*Zea mays*). European J MolBiolBiochem 1:151-157.
16. Blumwald E, Aharon GS and Apse M.P., 2000. Sodium transport in plant cells. Biochim Biophys Acta 2000, 1465:140-15
17. Blumwald E., 2000. Sodium transport and salt tolerance in plants. Curr. Opin. Cell Biol. 12(4): 431-434 CrossRef, Medline, ISI.
18. Blumwald E., Grover A. et Good A.G., 2004. Breeding for abiotic stress resistance: challenges and opportunities: New directions for a diverse planet, Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, 26 September –1 October 2004, Brisbane, Australia. [CDROM]. Web site [www.cropscience.org.au](http://www.cropscience.org.au)
19. Bolser D., Staines D.M., Pritchard E. & Kersey P., 2016. EnsemblPlants: Integrating Tools for Visualizing, Mining, and Analyzing Plant Genomics Data. Plant Bioinformatics: Methods and Protocols, 115-140.
20. Boufenar F. et Zaghouane O., 2006. Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). ITGC d'Alger, 1ère Ed, 152p.
21. Bouzerzour H., A. Djekoun, A. Benmahammed, KL. Hassous, 1998. Contribution de la biomasse aérienne, de l'indice de récolte et de la précocité à l'épiaison au rendement grain de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) en zone d'altitude. Cahiers de l'Agriculture, 8:133-137
22. Brosché M., Overmyer K., Wrzaczek M., Kangasjärvi J. et Kangasjärvi S., 2010. Stress signaling III: Reactive oxygen Species (ROS). Chap. 5. Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, molecular and genomic foundation. Sous la direction de Pareek A., S.K. Sopory, H.J. Bohnert et Govindjee. p. 91–102.
23. Chadefaud M. et Emberger L., 1960. Traité de botanique. Systématique. Les végétaux vasculaires par L. Emberger. Fasciculé Masson et Cie. Tome II, 753p.
24. Chamekh Zoubeir, 2010. Analyse de la réponse de quelques génotypes de blé dur (*Triticum turgidum* ssp *durum*) à la contrainte saline dans trois Gouvernorats du centre de la Tunisie.
25. Changming D. & Jie Z., 2011. Analysis on maize EST database under the co-stress of drought, salt and alkali. Agricultural Science & Technology-Hunan, 12(7), 1082-1084.
26. Cheverry C. et Robert M., 1993. Salure des sols Maghrébins. Influence sur les propriétés physiques et physico-chimiques des sols. Rapport final du projet CEE TS2-0108 F, 41 p
27. Chinnusamy V, Jagendorf A, Zhu JK., 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. Crop Science 45: 437–448.

28. Chinnusamy, V., et Zhu, J.K. 2003. Plant responses to abiotic stress. Topics in current genetics. Vol. 4. Sous la direction de H. Hirt et K. Shinozaki. Springer-Verlag, Berlin. p. 242–271.
29. Ciftci-Yilmaz S. & Mittler R., 2008. The zinc finger network of plants. Cellular and Molecular Life Sciences, 65(7-8), 1150-1160.
30. Clausen T., 1996. The Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> pump in skeletal muscle: quantification, regulation, and functional significance. Acta Physiol. Scand. 156, 227-235
31. Clément J.M., 1981. Dictionnaire Larousse Agricole. Librairie Larousse. ISBN 2-03-514301-2. 1207p.
32. Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale, C. Beroud. Bases de données et outils bioinformatiques utiles en génétique 2011.
33. Courtois B, Ahmadi N, Khowaja F, Price A, Rami JF, Frouin J, et al., 2009. Rice Root Genetic Architecture: Meta-analysis from a Drought QTL Database. 2009. 2: 115-128.)
34. Cramer GR, Ergül A, Grimplet J, Tillett RL, Tattersall EAR, Bohlman MC, Vincent D, Sonderegger J, Evans J, Osborne C, Quilici D, Schlauch KA, Schooley DA, Cushman JC. 2006. Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. Funct. Integr. Genomics 7(2): 111-134
35. Crystel l'Herbier, Réunion technique orge, février 2014. P5.
36. Demiral, T., Türkan, I., 2004. Does exogenous glycinebetaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? J. Plant Physiol. 161, 1089–1100.
37. Denis Tagu et Christian Moussard, 2003. Principes des techniques de biologie moléculaire: 2e édition, Editions Quae, p. 62-63.
38. Dubos C., Stracke R., Grotewold E., Weisshaar B., Martin C. & Lepiniec L. 2010. MYB transcription factors in Arabidopsis. Trends in plant science, 15(10), 573-581.
39. Dudley L.M. and Shani U., 2003. Modeling Plant Response to Drought and Salt Stress: Reformulation of the Root-Sink Term. Vadose Zone Journal 2:751–758.
40. El-Enany A.E, Morsy F. and Dief N., 2014. Impact of water stress on growth criteria and alcohol dehydrogenase activity of three legume plants. Minia Science Bulletin Volume 25 (1), pp. 29-51.
41. El-Sayed A. and Khodier M., 2000. Field screening of some hull-less barley (*Hordeum vulgare* L.) against soil salinity in Egypt. Options méditerranéennes. Série A, Séminaires Méditerranéens.157-161.
42. Epstein E. & Lauchli A., 1989. Na-Ca interactions in barley seedlings: relationship to ion transport and growth. -Plant Cell Environ. 12: 551-558
43. Espartero JI, Pintor-Toro JA, Pardo JM., 1994. Differential accumulation of S-adenosylmethionine synthetase transcripts in response to salt stress. 217-27.

44. Eswaran N., Parameswaran S., Anantharaman B., Raja Krishna Kumar G., Sathram B. & Sudhakar Johnson T., 2012. Generation of an expressed sequence tag (EST) library from salt-stressed roots of *Jatropha curcas* for identification of abiotic stress-responsive genes. *Plant Biology*, 14(3), 428-437.
45. Evans L.T. and Fischer R.A., 1999. Yield Potential: Its Definition, Measurement and Significance *Crop Sci.* 39:1544–1551.
46. Foyer CH, Noctor G., 2000. Oxygen processing in photosynthesis: a molecular approach. *New Phytol.* 146: 359-388
47. Gallais A., Bannerot H., 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection. Ed : INRA, 768p.
48. Ghislaine Cleret de Langavant, 2001. Bioéthique : méthode et complexité, pp. 241-242, PUQ. 309 p. (ISBN 2-7605-1106-5).
49. Gooding M.J., Pinyosinwat A. and Ellis. R.H., 2002. Responses of wheat grain yield and quality to seed rate. *J. Agric. Sci.* 138:317–331.
50. Gorham J., 1992. Salt tolerance of plants. *Sci. Prog.* 76: 273-285.
51. Gorham J., Wyn Jones R.G. and Bristol A., 1990. Partial characterization of the trait for enhanced K<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup> discrimination in the D genome of wheat. *Planta* 180:590-97.
52. Greenway H., Munns R., 1982. Interactions between growth, uptake of Cl<sup>-</sup> and Na<sup>+</sup>, and water relations, of plants in saline environments. I I. Highly-vacuolated cells. *Plant Cell Environ* (submitted)
53. Grillot, 1959. La classification des orges cultivées. *Au. Am. Plantes*, 4:446-486
54. Groppa MP, Benavides MD. 2007. Polyamines and abiotic stress: recent advances. *Amino Acids* 34 (1): 35-45 CrossRef, Medline, ISI.
55. Gueta-Dahan Y., Yaniv Z., Zilinkas B.A. and Ben-Hayyim G., 1997. Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in citrus.-*Planta* 203: 460–469.
56. Guiga Wafa, 2006. Identification des inhibiteurs de la germination de l'orge et mise au point d'un traitement des eaux de trompe en malterie en vue de leur recyclage.
57. Hamdy N., Katerji J.W., Van Hoorn C., Fares M., Mastrorilli T. and Oweis, 2005. Salinity effect on grain quality of two durum wheat varieties differing in salt tolerance *Agricultural Water Management*.85–91.
58. Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu JK and Bohnert HJ, 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 51, 463–499.
59. Hazmoune T., 2006. Le semis profond comme palliatif à la sécheresse. Rôle du coléoptile dans la levée et conséquences sur les composantes du rendement. Thèse docteur d'état. Univ Constantine ; 168p.

60. Hindawi Publishing Corporation; International Journal of Plant Genomics; Volume 2008, Article ID 619832, page 2.
61. Hirschi K.D., 1999. Expression of Arabidopsis CAX1 in tobacco: altered calcium homeostasis and increased stress sensitivity. *Plant Cell*, 2113–2122.
62. Horie T, Schroeder JI., 2004. Sodium transporters in plants: diverse genes and physiological functions. *Plant Physiol* 136:2457–2462
63. Houde M., Belcaid M., Ouellet F., Danyluk J., Monroy A.F., Dryanova A. & MacCarthy L. 2006. Wheat EST resources for functional genomics of abiotic stress. *BMC genomics*, 7(1), 1.
64. Imlay JA, Linn S. 1988. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* 240(4857): 1302-1309
65. Ishitani M1, Nakamura T, Han SY and Takabe T., 1995. Expression of the betaine aldehyde dehydrogenase gene in barley in response to osmotic stress and abscisic acid. 307-15.
66. Jithesh M.N., Prashanth S.R., Sivaprakash K.R., Ajay Parida, 2006. Monitoring expression profiles of antioxidant genes to salinity, iron, oxidative, light and hyperosmotic stresses in the highly salt tolerant grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. by mRNA analysis. P873.
67. Johnson J.R., Cobb B.G., & Drew M. C., 1994. Hypoxic induction of anoxia tolerance in roots of *Adh1* null *Zea mays* L. *Plant Physiology*, 105(1), 61-67.
68. Jonak C., Kiegerl S., Ligterink W., Barker P. J., Huskisson N. S., & Hirt H., 1996. Stress signaling in plants: a mitogen-activated protein kinase pathway is activated by cold and drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(20), 11274-11279.
69. Jyotika Bhati, Pavan Kumar Chaduvula, Ruchi Rani, Sanjeev Kumar and Anil Rai, 2014. IN-SILICO PREDICTION AND FUNCTIONAL ANALYSIS OF SALT STRESS RESPONSIVE GENES IN MAIZE (*Zea mays*).p1.
70. Kafkai U., 1991. Root growth under stress. In: Waisel Y., Eshel A. & Kafkafi U., eds. *Plant roots: the hidden half* New York, USA: Marcel Dekker, 375-391
71. Knight H. and Knight M.R., 2001. Abiotic stress signalling pathways: Specificity and cross-talk. *Trends Plant Sci.* 6(6) : 262–267.
72. Kocsy G, Laurie R, Szalai G, Szilagyí V, Simon-Sarkadi L, Galiba G and Ronde JA., 2005. Genetic manipulation of proline levels affects antioxidants in soybean subjected to simultaneous drought and heat stresses. *Physiol. Plant.* 124(2): 227-235
73. Kovda V.A., 1980. Problem of combatting salinization of irrigated soils. UNEP. NAIROBI.
74. Krishnamurthy R, Bagwat KA (1989) Polyamines as modulators of salt tolerance in rice cultivars. *Plant Physiol* 91: 500–504.

75. Laxalt A. M., Ter Riet B., Verdonk J. C., Parigi L., Tameling W. I., Vossen J. & Munnik T., 2001. Characterization of five tomato phospholipase D cDNAs: rapid and specific expression of LePLD $\beta$ 1 on elicitation with xylanase. *The Plant Journal*, 26(3), 237-247.
76. Levigneron A., Lopez F., Vansuyt G., Berthomcen P., Fourcroy P. et Casse-Delbart F., 1995. Les plantes face au stress salin, *Cahiers de l'Agriculture*, 4: 263-273
77. Li MS., Luo YP. et Su ZY., 2007. Heavy metal concentrations in soils and plant accumulation in a restored manganese mineland in Guangxi, South China. *Environ.Pollut.*147: 168-175
78. Ligterink W. & Hirt H., 2001. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways in plants: versatile signaling tools. *International review of cytology*,201, 209-275.
79. Lin H, Yang Y, Quan R, Mendoza I, Wu Y, Du W, Zhao S, Schumaker KS, Pardo JM & Guo Y., 2009. Phosphorylation of SOS3-LIKE CALCIUM BINDING PROTEIN8 by SOS2 Protein Kinase Stabilizes Their Protein Complex and Regulates Salt Tolerance in Arabidopsis [W]. *The Plant Cell*, 21, 1607-1619.
80. Lutts S., 2000. Exogenous glycine betaine reduces sodium accumulation in salt-stressed rice plants. *Int. Rice Res. Notes* 25: 39-40.
81. Mahajan S, Pandey GK, Tuteja N., 2008. Calcium- and salt-stress signaling in plants: Seedling light on SOS pathway. *Arch. Biochem. Biophys.* 471(2): 146-158
82. Mansour MMF., 1998. Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycinebetaine and proline against NaCl stress. *Plant Physiol. Biochem.* 36(10): 767-772
83. Mascarenhas J.P., 1993. Molecular mechanisms of pollen tube growth and differentiation. *The Plant Cell*, 5(10), 1303.
84. Maser P., Gierth M., Schroeder J.I., 2002. Molecular mechanisms of potassium and sodium uptake in plants.*Plant Soil* 247, 43–54
85. Mélanie Gauthier, 2010. Le déséquilibre de liaison chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.) une fenêtre d'observation sur les effets de la sélection ; page 4
86. Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci.* 9(10): 490-498
87. Mittova V, Theodoulou FL, Kiddle G, Gomez L, Volokita M, Tal M, Foyer CH, Guy M. 2003. Coordinate induction of glutathione biosynthesis and glutathione-metabolizing enzymes is correlated with salt tolerance in tomato. *FEBS Lett.* 554(3): 417-421
88. Moez Hanin, Faiçal Brini, Chantal Ebel, Yosuke Toda, Shin Takeda, and Khaled Masmoudi, 2011. Plant dehydrins and stress tolerance. 1503–1509.
89. Munns R, 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 25, 239–250.
90. Munns R, 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol* 167:645–663

91. Munns R, Rawson HM, 1999. Effect of salinity on salt accumulation and reproductive development in the apical meristem of wheat and barley. *Aust J Physiol* 26:459–464
92. Munns R. and Greenway, 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31 (1980) 149-190.
93. Munns R., Tester M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review Plant Biology* 59, 651-681
94. Muñoz-Amatriain M., Lonardi S., Luo M., Madishetty K., Svensson J. T., Moscou M. J. & Wise R. P., 2015. Sequencing of 15 622 gene-bearing BACs clarifies the gene-dense regions of the barley genome. *The Plant Journal*, 84(1), 216-227.
95. Orcutt DM, Nilsen ET, 2000. Salinity stress. In: *Physiology of plants under stress. Soil and biotic factors.* Wiley, New York, pp 177–235
96. Pardo JM., 2010. Biotechnology of water and salinity stress tolerance. *Curr. Opin. Biotechnol.* 21(2): 185-196
97. Parent C, Capelli N and Dat J., 2008. Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes. *C. R. Biol.* 331(4): 255-261
98. Pilot F. Gaymard, K. Mouline, I. Chérel and H. Sentenac, 2003. Regulated expression of *Arabidopsis* shaker K<sup>+</sup> channel genes involved in K<sup>+</sup> uptake and distribution in the plant.
99. Rasmusson DC, 1992. Barley breeding at present and in the future. In Munck L (ed.): *Barley Genetics VI*, vol. II. Munksgaard Int. Publ. Ltd., Copenhagen. 865-877.
100. Rathinsabapathi B, 2000. Metabolic engineering for stress tolerance: Installing osmoprotectant synthesis pathways. *Ann. Bot. (Lond.)*, 86: 709–716.
101. Robinson, M. J., & Cobb, M. H. (1997). Mitogen-activated protein kinase pathways. *Current opinion in cell biology*, 9(2), 180-186.
102. Rock C.D., Sakata Y. and Quatrano R.S., 2010. Stress signaling I: The role of abscisic acid (ABA). *Char 3. in Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, molecular and genomic foundation.* Sous la direction de A. Pareek, S.K. Sopory, H.J. Bohnert et Govindjee. p. 33–73.
103. Roxas VP, Lodhi SA, Garret DK, Mahan JR and Allen RD, 2000. Stress tolerance in transgenic tobacco seedlings that overexpress glutathione S-transferase/glutathione peroxidase. *Plant Cell Rep.* 41: 1229-1234.
104. Ruiz JM, Blumwald E. 2002. Salinity-induced glutathione synthesis in *Brassica napus*. *Planta*214(6): 965-969
105. Sairam RK, Tyagi A. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Curr. Sci.* 86: 407-421
106. Sanders D., Brownlee C., and Harper J.F. 1999. Communicating with calcium. *Plant Cell*, 11(4) : 691–706.

107. Shi H., Ishitani M., Kim C. and Zhu J.K. 2000. The Arabidopsis thaliana salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 6896–6901
108. Silva-Ortega CO., Ochoa-Alfaro AE, Reyes-Aguero JA, Aguado-Santacruz GA, Jimenez-Bremont JF. 2007. Salt stress increases the expression of p5cs gene and induces proline accumulation in cactus pear. Plant Physiol. Biochem. 46(1): 82-92
109. Slama F. 2004. La salinité et la production végétale. Ed .Centre de publication universitaire Tunis. 163p
110. Soltani A, Hajji M, Grignon C, 1989. Nécessité d'un anion exogène en cas de nutrition ammoniacale. Agronomie 9, 777-784
111. Soltner D., 1990. Phytotechnie spéciale, Les grandes productions végétales. Céréales, plantes sarclées, prairies. Sciences et Technique Agricoles éd.
112. Soltner D., 2005. Les grandes productions végétales. 20ème Edition. Collection science et techniques agricoles. 472p.
113. Souilah Nabila, 2009. Diversité de 13 génotypes d'orge (*Hordeum vulgare* L.) et de 13 génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum* L.): Etude des caractères de production et d'adaptation p27.
114. Sudhakar C., Lakshmi A. and Giridarakumar S., 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. Plant Sci 141:613-619
115. Tanaka Y, Hibin T, Hayashi Y, et al. 1999. Salt tolerance of transgenic rice overexpressing yeast mitochondrial Mn-SOD in chloroplasts. Plant Sci. 148(2): 131-138
116. Tausz M, Sircelj H, Grill D, 2004. The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: is a stress-response concept valid? J. Exp. Bot. 55(404): 1955-1962 CrossRef, Medline, ISI.
117. Tezara W., Mitchell V.J., Driscoll S.D. and Lawlor D.W., 1999. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. Nature, 401, 914–917.
118. Toumi I, Moschou PN, Paschalidis KA, Bouamama B, Ben Salem-fnayou A, Ghorbel AW, Mliki A and Roubelakis-Angelakis KA., 2010. Abscisic acid signals reorientation of polyamine metabolism to orchestrate stress responses via the polyamine exodus pathway in grapevine. J. Plant Physiol.167(7): 519-525
119. Türkan I, Demiral T., 2009. Recent developments in understanding salinity tolerance. Environ. Exp. Bot. 67(1): 2-9.
120. Urao T., Yamaguchi-Shinozaki K., Urao S. & Shinozaki K., 1993. An Arabidopsis MYB homolog is induced by dehydration stress and its gene product binds to the conserved MYB recognition sequence. The Plant Cell,5(11), 1529-1539.

121. WeiBing X and Rajashekar CB., 1999. Alleviation of water stress in beans by exogenous glycine betaine. *Plant Sci.* 148(2): 185-192 .
122. Wen-Wei Hu, Haibiao Gong, and Eng Chong Pua, 2005. The Pivotal Roles of the Plant S-Adenosylmethionine Decarboxylase 5' Untranslated Leader Sequence in Regulation of Gene Expression at the Transcriptional and Posttranscriptional Levels: 276-286.
123. Willadino L, Camara T, Boget N, Claparols I, Santos M, Torne JM (1996). Polyamine and free amino acid variations in NaCl-treated embryogenic maize callus from sensitive and resistant cultivars. *J Plant Physiol* 149: 179–185
124. Xiong L. and Zhu J.K., 2002. Salt tolerance. Dans *The Arabidopsis book*. Sous la direction de C.R. Somerville and E.M. Meyerowitz. American Society of Plant Biologists, Rockville, Maryland, p. 1–21.10.1199/tab.0048
125. Yang T. and Poovaiah B.W. 2003. Calcium/Calmodulin-mediated signal network in plants. *Trends Plant Sci.* 8(10): 505–512.
126. Yang Y., Kwon H.B., Peng H.P. & Shih M.C. 1993. Stress responses and metabolic regulation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 101(1), 209-216.
127. Ye H., Du H., Tang N., Li X. & Xiong L. 2009. Identification and expression profiling analysis of TIFY family genes involved in stress and phytohormone responses in rice. *Plant molecular biology*, 71(3), 291-305.
128. Yokoi S., Quintero F.J., Bressan R.A., Pardo J.M. and Hasegawa P.M. 2001. Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporters in the salt stress response.
129. Yoshimura K1, Miyao K, Gaber A, Takeda T, Kanaboshi H, Miyasaka H, Shigeoka S., 2004. Enhancement of stress tolerance in transgenic tobacco plants overexpressing *Chlamydomonas* glutathione peroxidase in chloroplasts or cytosol. 21-33.
130. Zhang HX, Blumwald E., 2001. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nat. Biotechnol.* 19(8): 765-768
131. Zhang Q., Li J., Zhang W., 2012. The putative auxin efflux carrier OsPIN3t is involved in the drought stress response and drought tolerance. *Plant Journal* 72: 805–816.
132. Zhang XS., Klessig D.F., 1998. The tobacco wounding-activated mitogen-activated protein kinase is encoded by SIMK. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 95, 7225–7230.
133. Zhang XS, Choi JH, 2001. Molecular evolution of calmodulin-like domain protein kinases (CDPKs) in plants and protists. *J Mol Evol* 53: 214–224.
134. Zhu J.K., 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual review of plant biology*, 53, 247.

135. Zhu JK, 2001. Plant salt tolerance, Trends Plant Sci6-66–71.

**Références web**

1. Blast2GO <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/21/18/3674/F1.expansion> consulté le 07/05/2016
2. EnsemblGenomes <http://ensemblgenomes.org/info/about/gramene> consulté 10/05/2016
3. <http://www.gembloux.ulg.ac.be/pt/pic/Stades.pdf>
4. Manuel en ligne d'EGassembler: [http://www.genome.jp/tools-bin/eassembler4.cgi?pmode=help&i\\_param=tutorial](http://www.genome.jp/tools-bin/eassembler4.cgi?pmode=help&i_param=tutorial) consulté le 10/05/2016.
5. UniProt <http://www.uniprot.org/uniprot/P31414> consulté le 23/05/2016.