

**BURKINA FASO  
UNITE-PROGRES-JUSTICE**

**MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE ET  
SUPERIEUR**

**UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO**

-----  
**INSTITUT DE DEVELOPPEMENT RURAL**



**MEMOIRE DE DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES (D.E.A) DE GENETIQUE ET  
REPRODUCTION**

**APPLICATION DU POLYMORPHISME DES  
MARQUEURS MICROSATELLITES POUR L'ETUDE DE  
LA DIVERSITE GENETIQUE DES ZEBUS DU NIGER**

Présenté par YAYE ABDOU Hassane

Soutenu le 1<sup>er</sup> octobre 2011 à 15h devant le jury composé de :

BOLY Hamidou. Professeur Titulaire Agrégé à l'UPB      Directeur du mémoire, Président

DE MEEUS Thierry. Professeur, Chercheur au CIRDES      Membre

DAYO Guiguigbaza-Kossigan. Docteur, Chercheur au CIRDES      Maître de stage, Membre

## TABLE DE MATIERES

Liste des abréviations .....	v
Liste des tableaux .....	vi
Liste des figures.....	vi
Liste des photos.....	vii
Liste des annexes.....	vii
Résumé.....	viii
Abstract.....	ix
Introduction.....	1
<b>PREMIERE PARTIE :     SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>3</b>
<b>CHAPITRE I : Situation de l'élevage au Niger .....</b>	<b>4</b>
I. Effectif et systèmes d'élevage au Niger.....	5
II. Généralités sur le zébu du Niger .....	6
II.1. Zébu Azawak .....	6
II.2. Zébu Bororo .....	7
II.3. Zébu Goudali.....	8
II.4. Zébu Peul nigérien ou zébu Djéli .....	10
II.5. Taurin Kouri.....	10
III. Les tentatives d'amélioration du zébu Azawak .....	12
<b>CHAPITRE II Différentes méthodes de caractérisation des populations animales .....</b>	<b>14</b>
I. Méthodes morphobiométriques .....	14
II. Méthodes immunogénétiques .....	15
II.1. Nature et polymorphisme des groupages sanguins .....	15
II.2. Variants électrophorétiques des protéines du sang et du lait .....	16
II.3. Hémoglobine.....	16
II.4. Transferrines .....	17
II.5. Albumines .....	17
II.6. Caséines du lait.....	18
III. Caractérisation cytogénétique ou caryotypique .....	19
IV. Méthodes moléculaires .....	20
<b>CHAPITRE III. Marqueurs microsatellites et caractérisation des populations animales.....</b>	<b>21</b>
I. Rappels sur le matériel génétique : ADN.....	21
I.1. Composition chimique de l'ADN.....	21
I.2. Structures de l'ADN .....	22
II. Organisation des séquences du matériel génétique .....	24
II.1. Les gènes uniques, familles de gènes et pseudogènes.....	24
II.2. Séquences répétées fonctionnelles non codantes .....	25
II.3. Séquences répétées et dispersées (SINEs et LINEs).....	26
II.4. Séquences répétées en tandem .....	26
<b>DEUXIEME PARTIE :     ETUDE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>32</b>
<b>CHAPITRE I : Matériel et methodes .....</b>	<b>33</b>
I. Matériel .....	33
I.1. Matériel animal.....	33
I.2. Matériel de laboratoire.....	34

II. Méthodes.....	35
II.1. Extraction de l'ADN.....	35
II.2. Contrôle des ADN extraits.....	35
II.3. Génotypage.....	35
III. TRAITEMENT DES DONNEES DE GENOTYPAGE.....	42
III.1. Test de conformité à l'équilibre de Hardy-Weinberg.....	43
III.2. Variabilité génétique intra population.....	43
III.3. Variabilité inter-populations.....	45
CHAPITRE II : Résultats et discussion.....	47
I. RESULTATS.....	47
I.1. Variabilité génétique intra population.....	47
I.2. Variabilité génétique inter-populations.....	58
II. DISCUSSION.....	61
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	63
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	65
ANNEXE.....	I

## REMERCIEMENTS

Je tiens à adresser ma plus vive reconnaissance au Professeur Hamidou BOLY pour son soutien constant, ses conseils et ses encouragements. Nous connaissons en vous un amour profond du travail bien fait, une disponibilité et des qualités humaines qui vous honorent. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

Je remercie le Docteur DAYO Guiguigbaza-Kossigan pour m'avoir encadré tout au long de mon stage. Vos conseils et votre disponibilité constants nous ont permis de parfaire ce travail. Veuillez trouver ici mes sincères remerciements.

Je voudrais remercier du fond de mon cœur, mon grand professeur Thierry DE MEEUS de génétique des populations chercheur au Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Subhumide pour ses innombrables services qu'il m'a toujours rendus, ainsi que pour sa gentillesse et sa haute valeur humaine et scientifique. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude et ma haute considération.

Je remercie le personnel de l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso particulièrement nos enseignants de l'Institut de Développement Rural.

Je remercie tout le personnel du CIRDES particulièrement :

- Le Professeur Abdoulaye Soumana GOURO, Directeur Général du CIRDES pour m'avoir accueilli dans ce centre ;
- Le Docteur BENGALY Zakaria Directeur scientifique du CIRDES ;
- Le Docteur Augustin Z. BANCE chargé de la formation au CIRDES ;
- Les techniciens de l'Unité de Recherche sur les bases Biologiques de la lutte intégrée (URBIO) à savoir Messieurs KONKOMBO Maurice, SYLLA Souleymane et ZOUNGRANA Adrien ;
- SAWADOGO Laurent Technicien de maintenance.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements au Professeur Hamani MARICHATOU pour son soutien constant, ses encouragements et ses conseils tout au long mon cursus universitaire.

Je remercie très sincèrement la Banque Islamique de Développement (BID) qui m'a accordé une bourse d'étude sans laquelle cette étude n'aurait été possible.

Qu'ALLAH vous bénisse...

Un grand merci à mes parents pour leur soutien, leurs encouragements et leur patience tout au long de mes études, je leur dédie ce mémoire.

## **Liste des abréviations**

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**BET** : Bromure d'éthidium

**CIRDES** : Centre International de Recherche Développement sur l'Elevage en zone Subhumide

**EDTA** : Ethylène Diamine Tétra-Acétique

**FAO**: Food and Agriculture Organization

**Kg** : Kilogramme

**m** : Mètre

**µl** : Microlitre

**mM** : Millimolaire

**LINE** : Long Interspersed Elements

**Ln** : Logarithme Népérien

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**RFLP** :Restriction Fragment Length Polymorphism

**SINE** : Short Interspersed Elements

**SNP** : Single Nucleotide Polymorphism

**SSET** : Station Sahélienne Expérimentale de Toukounous

**TBE** : Tris Borate EDTA

**TE** : Tris EDTA

**UV** : Ultra Violet

**VNTR** : Variable Number Tandem Repeat

## Liste des tableaux

Tableau I : Répartition du cheptel nigérien selon les régions et les espèces

Tableau II : Caractères morphobiométriques des bovins nigériens

Tableau III : Aptitudes bouchères et laitières des bovins nigériens

Tableau IV : Fréquences des principaux types de microsatellites chez les mammifères

Tableau V : Informations sur les populations animales

Tableau VI : Marqueurs microsatellites et les séquences des amorces.

Tableau VII : Composition du Mix de la PCR froide

Tableau VIII : Composition du Mix de la PCR Li-Cor

Tableau IX : Nombre d'allèles par locus par population, nombre moyen d'allèles par locus, richesse allélique par locus et richesse allélique moyenne par population sur l'ensemble des loci

Tableau X : Valeurs des hétérozygoties par locus et par population

Tableau XI : Valeurs des  $F_{IS}$  par locus et par populations

Tableau XII : Valeurs des  $F_{ST}$  entre les différentes populations

Tableau XIII : Contribution des trois axes factoriels à l'inertie totale en AFC

## Liste des figures

Figure 1 : Carte de localisation du Niger et de l'Afrique

Figure 2 : Structure squelettique d'une molécule d'ADN

Figure 3 : Structures de l'ADN

Figure 4 : Différentes étapes des cycles de la PCR

Figure 5 : Nombre total d'allèles par locus sur l'ensemble des populations

Figure 6 : Distribution des fréquences alléliques par population aux différents loci

Figure 7 : Analyse factoriel de correspondance AFC

Figure 8 : Variations des différentes valeurs de K

Figure 9 : Regroupement génétique des 6 populations par la méthode Bayésienne

## **Liste des photos**

Photo 1 : Taureau élite Azawak de la SSET

Photo 2 : Vache élite avec veau issu de l'insémination artificielle à la SSET

Photo 3 : Taureau de race zébu Bororo

Photo 4 : Taureau de race zébu Goudali

Photo 5 : Vache et taureau de race zébu Goudali

Photo 6 : Vache Djéli

Photo 7 : Mâle Kouri

Photo 8 : Un Rack

Photo 9 : Aspiration capillaire sur un peigne membrane

Photo 10 : Ordinateur connecté au séquenceur

Photo 11 : Image d'un gel après migration des allèles

## **Liste des annexes**

Annexe 1 : Protocole d'extraction d'ADN avec le kit Promega à partir du sang conservé plus 5 mois

Annexe 2 : Protocole d'extraction d'ADN avec le kit Qiagen à partir du sang conservé plus 5 mois

Annexe 3 : Fiche de la PCR Li-Cor

Annexe 4 : Préparation du gel d'agarose 1%.

Annexe 5 : Préparation de la solution d'acrylamide 6,5%

## RESUME

La variabilité génétique intra-race et inter-races des zébus du Niger et les relations génétiques qui existent entre elles sont appréciées à l'aide de douze marqueurs microsatellites pour génotyper 206 zébus du Niger (Azawak, Goudali, Djéli et Bororo) et 20 zébus Peuls du Burkina Faso.

Les résultats montrent une forte variabilité génétique dans les différentes populations se traduisant par une importante diversité allélique au niveau des loci microsatellites (entre 6 allèles pour INRA063 et 18 allèles pour MM12) et une diversité génétique ( $H_s$ , variant entre 0,72 l'Azawak de Toukounous à 0,78 pour Djéli). Un déficit en hétérozygotie a été observé dans les populations étudiées ( $F_{IS}$  compris entre 0,03 chez les Azawak de Toukounous et 0,25 chez les zébus Djéli) indiquant un écart de l'équilibre de Hardy-Weinberg sauf pour le zébu Azawak de Toukounous. Les valeurs de  $F_{ST}$  obtenues montrent qu'il y a une différenciation génétique faible à modérée entre les différentes populations de zébus étudiées (0,02 entre Djéli et Goudali à 0,12 entre le zébu Peul du Burkina Faso et Bororo d'une part et entre le zébu Peul du Burkina Faso et le zébu Azawak de Warkéré). Les résultats de  $F_{ST}$  sont corroborés par ceux des valeurs des distances génétiques obtenues entre les différentes populations. Les résultats de l'analyse factorielle des correspondances et ceux de la méthode Bayésienne de structuration ont permis de classer les zébus du Niger en 3 clusters.

Ces résultats préliminaires, ont permis de suivre la diversité génétique des populations de zébu du Niger.

**Mots clés** : Variabilité génétique – marqueurs microsatellites – zébus du Niger

## ABSTRACT

The genetic variability within breed and between breeds of zebu cattle in Niger and genetic relationships between them are assessed by twelve microsatellite markers that were used to genotype 206 zebus from Niger (Azawak Goudali, Djeli and Bororo) and 20 Fulani Zebu cattle from Burkina Faso. Results showed a high genetic variability within populations, with a significant allelic diversity at microsatellite loci (ranging from 6 for INRA063 to 18 alleles for MM12) and gene diversity ( $H_s$ , ranging from 0.72 for Azawak of Toukounous population to 0.78 for Djeli). Heterozygote deficiency was observed in the populations studied ( $F_{IS}$  between 0.03 for Azawak of Toukounous and 0.25 for Djéli) indicating a deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium except for the Azawak from Toukounous.  $F_{ST}$  values observed indicated that there is weak or moderate differentiation between the different zebu populations studied (ranging from 0.02 between Djeli and Goudali to 0.12 between the Fulani of Burkina Faso and Bororo in one hand and between the Fulani Burkina Faso and the Azawak of Warkere ranch in the other hand). The results of  $F_{ST}$  are corroborated by genetic distances obtained between populations. The results of factorial correspondence analysis and Bayesian clustering method separated zebu populations of Niger into 3 clusters.

Those preliminary results allow following the genetic diversity in zebu population from Niger.

**Keywords:** Genetic variability - microsatellite markers - zebu cattle from Niger

# INTRODUCTION

Les marqueurs génétiques suscitent un intérêt grandissant dans la caractérisation des espèces animales (QUEVAL et al., 1998; NAVES, 2003; FAO., 2008; 2009). Au Niger, sous l'influence des facteurs environnementaux et des actions de l'homme, plusieurs types génétiques (races) ont développé des aptitudes à survivre dans un environnement contraignant (stress thermique, restrictions alimentaires et hydriques, maladies animales enzootiques et épizootiques) et à fournir à l'homme des aliments, du fumier et la force de travail.

Parmi les ressources génétiques animales du Niger, les zébus (Azawak, Djéli, Bororo et Goudali) occupent une place importante. Ils présentent des performances zootechniques intéressantes et sont adaptés aux conditions environnementales sahéliennes, en élevage traditionnel ou en intensif. Ils se distinguent par des performances laitières, bouchères et une force au travail très appréciées (MARICHATOU et al., 2005).

Les différentes études sur les zébus se basent essentiellement sur des critères morphologiques ou descriptifs (IBRAHIMA, 1986). Le phénotype des animaux est souvent assez voisin et ce qui peut entraîner des confusions à l'origine d'erreurs d'interprétations. Il est en effet difficile de bien distinguer sur le terrain un zébu Azawak (courte corne et pie noire ou rouge) d'un Djéli également pie à courte corne et pie noire ou rouge.

Ces différentes races ont pourtant des aptitudes biologiques et zoologiques différentes. Au sein d'une même race nommée, il existe des nombreuses différences de performances liées certainement à un support génétique différent. La caractérisation d'une race ne peut se faire que par un ensemble de paramètres génétiques communs.

La composante génétique, notamment la caractérisation génétique n'est pas généralement abordée alors qu'une bonne caractérisation est indispensable pour définir des stratégies efficaces d'amélioration génétique et d'analyser les menaces qui pèsent sur une population animale. Une caractérisation à l'aide de marqueurs moléculaires permettrait de mieux connaître ces races, de déterminer leur position génétique par rapport autres populations bovines avec lesquelles elles partagent un même environnement et les valoriser à long terme.

Ainsi, les objectifs de notre travail visent à:

- ✦ étudier la variabilité génétique intra-race de ces différentes races du Niger;

- ✚ étudier la variabilité génétique inter-races des zébus Azawak, Djéli, Goudali et Bororo du Niger ;
- ✚ estimer les relations phylogéniques entre ces races.

Pour présenter ce travail, nous adopterons un plan en deux parties :

- Une première partie consacrée à la synthèse bibliographique sur la situation de l'élevage au Niger, les méthodes de caractérisation des populations animales domestiques et notamment l'utilisation des marqueurs microsatellites ;
- Une deuxième partie, expose l'étude expérimentale, notamment le matériel et les méthodes utilisés, les résultats obtenus, la discussion et enfin les recommandations et perspectives.

**PREMIERE PARTIE :**

**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## CHAPITRE I : SITUATION DE L'ÉLEVAGE AU NIGER

Le Niger est un pays continental au relief relativement plat. Il est situé dans la zone intertropicale septentrionale entre le 11°37' et 23°33' de latitude Nord et le 0°06' et 16° de longitude Est. Le climat y est de type tropical semi-aride bien marqué, avec une longue saison sèche qui s'étend généralement d'octobre à mai et une courte saison pluvieuse qui s'étend généralement de juin à septembre. La pluviométrie est irrégulièrement répartie dans l'espace et le temps et oscille entre 0 et 800 mm par an.

Le Niger est un pays à longue tradition pastorale. L'élevage y représente le sous-secteur le plus dynamique du secteur primaire et porteur de croissance pour l'économie nationale. Cet élevage revêt ainsi une importance socio-économique car il occupe environ 80% de la population dont environ 20% en vivent exclusivement (MARICHATOU et al., 2005). Il contribue pour 12 à 17% à la formation du PIB et pour 25,5% aux recettes d'exportations (BOUREIMA, 2005).



Figure 1 : Carte de localisation du Niger et de l'Afrique

## I. EFFECTIF ET SYSTEMES D'ELEVAGE AU NIGER

Le cheptel national du Niger comprend 7 336 088 bovins, 20 430 285 de petits ruminants (ovins et caprins), 1 565 420 camélins, 230 174 équins, 1 477 073 asins (MDA et MRA, 2007) et 12 196 000 sujets de volailles (IDI et IDE, 2009).

Tableau I : Répartition du cheptel nigérien selon les régions et les espèces.

Régions	Bovins	Ovins	Caprins	Camelin	Equins	Asins	Total	%
Agadez	52 354	524 457	616 480	135 197	2 505	89 007	1 419 999	4,57
Diffa	799 816	715 535	1 009 021	367 294	45 023	138 640	3 075 329	9,91
Dosso	704 135	660 169	840 045	27 829	11 599	124 407	2 368 185	7,63
Maradi	1 132 896	1 520 745	1 989 890	249 894	16 366	182 508	5 092 300	16,41
Tahoua	1 437 368	1 978 176	2 089 578	480 803	28 946	377 948	6 392 819	20,60
Tillabéry	1 550 129	1 292 889	1 452 351	85 268	18 287	278 187	4 677 111	15,07
Zinder	1 622 814	2 361 283	3 165 603	219 093	107 174	283 905	7 759 872	25
Niamey	36 577	138 762	75 300	42	274	2 470	253 425	0,82
<b>Total</b>	<b>7 336 088</b>	<b>9 192 017</b>	<b>11 238 268</b>	<b>1 565 420</b>	<b>230 174</b>	<b>1 477 073</b>	<b>3 1039 041</b>	<b>100</b>
<b>%</b>	<b>23,64</b>	<b>29,61</b>	<b>36,21</b>	<b>5,04</b>	<b>0,76</b>	<b>4,76</b>	<b>100</b>	

Source : MDA et MRA, 2007

Au Niger, il existe trois systèmes d'élevage qui sont par ordre d'importance :

- ✓ le système d'élevage sédentaire avec 20 394 141 animaux soit 66% de l'effectif total ;
- ✓ le système d'élevage nomade avec 5 657 247 têtes de bétail représentant 18% de l'effectif national ;
- ✓ et le système d'élevage transhumant avec 4 987 652 individus soit 16% de l'effectif total (MDA et MRA, 2007).

Les effectifs en 2007 représentent un capital bétail de près de 2000 milliards de francs CFA avec une production annuelle de 288 milliards CFA et une valeur ajoutée de 240 milliards, faisant du Niger un grand pays d'élevage en Afrique occidentale.

Le cheptel bovin est composé de plusieurs races dont les races de zébus (Azawak, Bororo, Goudali et Djéli), la race taurine (Kouri) et les populations bovines métisses issues de divers croisements.

## **II. GENERALITES SUR LE ZEBU DU NIGER**

Le type zébu ou *Bos indicus*, tirerait son nom du mot Tibétain « Zéba » qui signifie bosse. Il aurait été introduit dans l'Ouest Africain lors de l'invasion Sémite venue de l'Est. En Afrique, le type zébu s'oppose morphologiquement au type taurin ou bovin sans bosse cervico-thoracique ou *Bos taurus*.

On trouve en Afrique de l'ouest trois types de zébus :

- ✓ Les zébus à courtes cornes : zébu Arabe, zébu Maure et zébu Azawak ;
- ✓ Les zébus Peul à cornes en lyre moyenne : Zébu Peul soudanais, le zébu Peul nigérien (le Djéli), le zébu Peul sénégalais (le Gobra) ;
- ✓ Les zébus à longues cornes : zébu Bororo à corne en lyre haute.

### **II.1. Zébu Azawak**

Le zébu Azawak (Photos 1 et 2) est un animal médioligne et eumétrique voir plus bas).

La couleur de la robe couramment rencontrée est la couleur fauve. Les robes acajou, pie et froment sont également rencontrées. Par souci d'esthétique et d'uniformité, la sélection du zébu Azawak porte à la Station Sahélienne Expérimentale de Toukounous sur des animaux à robe fauve avec des extrémités et des muqueuses noires. Le zébu Azawak est physiologiquement et morphologiquement adapté à une vie semi-nomade imposée par son milieu naturel. C'est un animal qui valorise bien les maigres pâturages des hauts plateaux désertiques de l'Afrique de l'Ouest (BOLY et al., 2000).

La vache Azawak est élevée le plus souvent pour ses qualités laitières excellentes.

Ce sont des animaux calmes, dociles, endurants et qui se dressent facilement. A la Station Sahélienne Expérimentale de Toukounous, la traite des vaches se passe le plus souvent sans difficulté une fois qu'elles ont été dressées. Il en est de même pour les taureaux géniteurs lors de la collecte du sperme au vagin artificiel (YAYE, 2009).

Au Niger, le zébu Azawak constitue à la fois un symbole, une ressource et un patrimoine pour ses éleveurs. On le retrouve également au Mali, au Nigeria et au Burkina Faso (MARICHATOU et al., 2005).

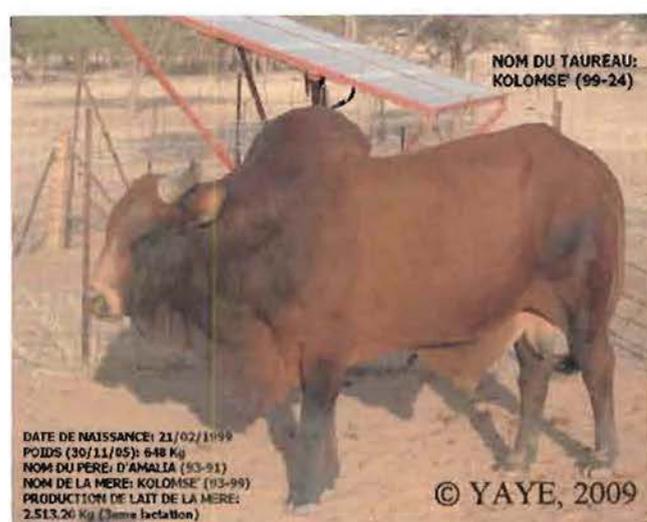


Photo 1 : Taureau élite Azawak de la SSET



Photo 2 : Vache élite avec veau issu de l'insémination artificielle à la SSET

## II.2. Zébu Bororo

Encore appelé zébu M'Bororo Red Fulani ou encore Red Longhorn, le zébu Bororo (Photo 3) est retrouvé dans tout le Niger (d'où il est originaire) jusqu'au Tchad, au nord du Nigeria, au Benin, au Cameroun et en République Centrafricaine (RCA). C'est un animal rustique, capable de s'adapter à des conditions climatiques diverses. Les zébus Bororo sont réputés farouches et difficiles à dresser. La production principale est le bœuf de boucherie de plus de 4 ans. Le lait est exploité bien que produit en petite quantité : 2 litres/ jour au maximum (IBRAHIMA, 1986; MARICHATOU et al., 2005).

La robe est uniformément noire, brune ou acajou ou foncée.



Photo 3 : Taureau de race zébu Bororo (source : <http://syfia-photos.info/picture.php?/821-708/category/52-centrafrique>)

### II.3. Zébu Goudali

Le zébu Goudali (Photo 4) ou encore appelé Sokoto-Goudali vit dans le nord du Bénin, au Niger, au Cameroun, en RCA et à l'est du Nigeria (Sokoto) d'où il est originaire. Il coexiste avec le zébu Bororo élevé par d'autres rameaux de l'ethnie Peul.

C'est un animal de taille moyenne (1 m 30 au garrot) pesant plus de 500 kg chez le taureau et plus de 300 kg chez la vache. La couleur de la robe est généralement blanche sale avec des renforcements de couleur gris sombre au-dessus de la tête, du cou, des épaules et de la queue. Le corps est bien proportionné, épais et compact.

C'est un animal à triple usage : la vache est bonne laitière avec une production moyenne de lait de 1 000 à 1 100 kg en 230 jours de lactation (GANDAH, 1989). La femelle Goudali pourrait même fournir 2 047 à 2 275 litres de lait pendant une période de lactation de 246 à 300 jours (IBRAHIMA, 1986).

Il peut être engraisé sur les pâturages et est docile pour la traction et la traite du lait.

Le zébu Goudali supporte bien la chaleur et est surtout connu pour sa résistance aux dermatophytoses et nombreuses maladies des régions intertropicales africaines.



Photo 4 : Taureau de race zébu Goudali (source : <http://www.abcburkina.net/fr/nos-dossiers/vu-au-sud-vu-du-sud/745-369-goudali-le-bon-choix>)



Photo 5 : Vache et taureau de race zébu Goudali (BOLY et LEROY., 2000)  
source : <http://www.ivt.ulg.ac.be/burkina.htm>

#### II.4. Zébu Peul nigérien ou zébu Djéli

Le zébu Djéli ou zébu Peul nigérien (Photo 6) se retrouve également au Burkina Faso, au Tchad, au Cameroun, en RCA et dans les régions voisines du Nigeria. Elevé généralement en bordure du fleuve Niger et dans les dallois<sup>1</sup>, le zébu Djéli est un animal à robe blanche sale. Il y a aussi des individus de robe pie.

Le bœuf est utilisé pour la traction animale et la culture attelée. C'est un bon animal de boucherie qui s'engraisse rapidement. L'aptitude à la production laitière est très faible : 400 à 450 litres pour une durée de lactation de 160 à 200 jours.



Photo 6 : Vache Djéli (ABDOU, 2009)

#### II.5. Taurin Kouri

Le bovin Kouri (Photo 7) est une race taurine (*Bos taurus*) dont le berceau est localisé dans les îles et les rives du lac Tchad. On le rencontre ainsi au Niger, au Tchad, au Cameroun et au Nigéria. Célèbre pour la forme de ses cornes grosses et bulbeuses (souvent assimilées à des flotteurs), le taurin Kouri est un animal lourd, massif, de haute taille et à la robe généralement blanche. Le taurin Kouri a une certaine sensibilité au soleil, ce qui l'a rendu inadapté à la traction ; mais il est parfaitement adapté à l'écologie du lac Tchad.

<sup>1</sup> dallols= Anciens affluents du fleuve Niger



Photo 7 : Taureau Kouri (source : [http://www.sidym2006.com/imagenes/pdf/ponencias/21\\_se.pdf](http://www.sidym2006.com/imagenes/pdf/ponencias/21_se.pdf))

Le tableau II donne les caractéristiques morphobiométriques des bovins nigériens à savoir le zébu Azawak, le zébu Bororo, le zébu Goudali, le zébu Djéli et le taurin Kouri et le tableau III présente leurs aptitudes bouchères et laitières.

Tableau II : Caractères morphobiométriques des bovins nigériens (FAO., 2007)

Caractéristiques		Zébu Azawak	Zébu Bororo	Zébu Djéli	Zébu Sokoto-Goudali	Taurin Kouri
Taille au garrot (m)	Mâle	1,30	1,50 – 1,60	1,30	1,40	1,45
	Femelle	1,25	1,40 – 1,45	1,20	1,30	1,35
Poids (kg)	Mâle	350 – 500	350 – 500	300 – 350	500 – 550	650
	Femelle	250 – 300	350 – 450	250 – 300	300 – 350	400
Profil		Rectiligne	Convexiligne	Rectiligne	Convexiligne	Rectiligne
Proportion du corps		Médioligne	Longiligne	Bréviligne	Médioligne	Longiligne
Format		Eumétrique	Hypermétrique	Eumétrique	Eumétrique	Hypermétrique
<b>Phanères :</b>						
	<b>Cornes</b>	Courtes	Très longues	Courtes	Courtes	Globuleuses
	<b>Fanon</b>	Assez développé	Très développé	Développé	Très développé	Peu développé
	<b>Robe</b>	Fauve	Acajou	Bariolée	Blanche	Blanche Isabelle

Tableau III : Aptitudes bouchères et laitières des bovins nigériens (BOUREIMA, 2005)

		<b>Azawak</b>	<b>Bororo</b>	<b>Djéli</b>	<b>Goudali</b>	<b>Kouri</b>
	<b>Aptitude</b>	Bonne	Moyenne	Bonne	Bonne	Très bonne
<b>Viande</b>	<b>Qualité</b>	Bonne	Fibreuse	Bonne	Bonne	Bonne Persillée
	<b>Rendement (%)</b>	48-52	40-42	50	50	50
	<b>Aptitude</b>	Très bonne	Mauvaise	Moyenne	Très bonne	Bonne
<b>Lait</b>	<b>Production (Kg)</b>	800-1100	180-300	400-450	1000-1100	600-700
	<b>Lactation (j)</b>	270-300	180-200	160-200	230	200-250
	<b>Aptitude au travail</b>	Bonne	Moyenne	Moyenne	Bonne	Moyenne

Remarque:

**Le profil** est apprécié surtout au niveau de la tête et particulièrement dans la région frontale. Il peut être rectiligne, concave ou convexe. Il est normalement rectiligne quand le front et le chanfrein sont dans le prolongement l'un de l'autre.

**La proportion** : elle découle de l'harmonie qui existe entre les éléments de longueur et ceux d'épaisseur. Lorsque les proportions sont harmonieuses, on parle d'un animal médioligne, lorsque la longueur domine, l'animal est longiligne et inversement avec une largeur dominante, bréviligne.

**Le format** : il précise la taille et le poids des animaux. Le format normal est eumétrique, c'est-à-dire le poids est en harmonie avec la taille. Un format hypermétrique indique un poids supérieur à la normale. Inversement dans le cas d'un format elliptométrique.

**Le phanéroptique** : il décrit les variations de la peau et de ses dépendances : pelage, poils, laine, cornes, sabots et ongles.

### III. LES TENTATIVES D'AMELIORATION DU ZEBU AZAWAK

Deux méthodes sont fréquemment utilisées pour améliorer la productivité des animaux locaux : le croisement et la sélection. Les facteurs indispensables à ces méthodes d'amélioration génétique sont une bonne alimentation et la maîtrise des maladies.

L'amélioration des performances des races bovines locales se fait soit entre les différentes races locales ou à travers l'introduction d'animaux sur pied ou de semences des races améliorées européennes ou américaines. Les croisements ou les sélections (dits maîtrisés) se

font par l'introduction d'un mâle performant dans le troupeau ou tout simplement par l'utilisation de la semence d'un mâle élite en insémination artificielle. Toutefois, l'utilisation des races exotiques sur le continent africain s'est régulièrement heurtée aux problèmes sanitaires et alimentaires, raison pour laquelle la plupart de ces programmes ont connu des échecs.

Au Niger, les croisements sont le plus souvent effectués avec des semences (la Holstein et la Piémontaise).

La sélection des zébus Azawak a commencé en 1954 à la Station Sahélienne Expérimentale de Toukounous. A l'instar de plusieurs pays africains, le Niger n'a mis en place des programmes de sélection des populations locales après que les croisements avec les races exotiques eurent échoué pour cause de maladies tropicales diverses et de mauvaises conditions alimentaires. Les principaux objectifs de ces programmes étaient l'amélioration des races animales pour les différentes productions mais aussi la conservation de certaines races en vue de garder la pureté de celles-ci. Tel est par exemple, le cas de la Station Sahélienne Expérimentale de Toukounous au Niger pour le zébu Azawak.

Il faut noter qu'il existe au Niger, en dehors de la Station Sahélienne Expérimentale de Toukounous, d'autres centres de multiplication pour l'amélioration et la préservation des races bovines du Niger : Sayam, Ibéceten, Bathé et Fako.

### **Conclusion partielle**

Une meilleure valorisation et une gestion durable de la diversité génétique animale locale peuvent constituer une stratégie importante d'exploitation des animaux et également de contrôle de nombreuses maladies animales comme les trypanosomoses animales africaines.

La valorisation et la gestion durable des races locales ne sont possibles que lorsque les populations sont bien inventoriées et surtout bien caractérisées. Ainsi, dans le chapitre suivant, nous présenterons succinctement les principales méthodes utilisées pour la caractérisation des populations animales domestiques.

## **CHAPITRE II : DIFFERENTES METHODES DE CARACTERISATION DES POPULATIONS ANIMALES**

### **I. METHODES MORPHOBIOMETRIQUES**

Les méthodes morphobiométriques utilisent les caractères phénotypiques, notamment ceux concernant la présence ou l'absence de la bosse cervico-thoracique chez les bovins, la morphologie de la tête et du corps, la couleur de la tête, des pattes ou de la robe en général etc... mais également la détermination des indices biométriques. C'est ainsi que, par exemple, BOURZAT et al. (1993) calculent certains indices comme la hauteur au garrot, l'indice de gracilité sous sternal et l'indice auriculaire pour caractériser et comparer des chèvres du Nord Cameroun et du Tchad. En dehors de ces indices, il en existe d'autres comme, entre autres, le périmètre thoracique, la longueur scapulo-ischiale, la hauteur au passage des sangles, la largeur aux hanches, la longueur du corps, des cornes, des oreilles, la largeur de la tête, la circonférence à la base de la corne, l'espace intercorné...

Si cette méthode de caractérisation permet de distinguer certaines races les unes des autres, il n'en est pas de même lorsqu'il s'agit de faire la distinction entre populations animales génétiquement proches.

L'inconvénient de ces méthodes de caractérisation morphobiométriques réside ainsi dans le fait que les caractères phénotypiques utilisés pour décrire les races animales ne peuvent donner que des indications assez vagues sur le patrimoine génétique de ces races. En effet, le mode de transmission héréditaire des caractères morphobiométriques est en général complexe et souvent mal élucidé et ces caractères, ou tout au moins certains d'entre eux, peuvent être affectés par des facteurs environnementaux. La caractérisation phénotypique fournit alors une estimation brute de la moyenne des variants fonctionnels des gènes d'un individu ou d'une espèce donnée.

Il est donc important de dépasser la simple description phénotypique du polymorphisme et d'en rechercher l'origine en déterminant le plus exactement possible la variabilité au niveau du génome.

## II. METHODES IMMUNOGENETIQUES

Les méthodes immunogénétiques utilisent les marqueurs comme les groupes sanguins et les variants électrophorétiques des protéines à travers divers techniques basées sur l'immunologie et sur l'électrophorèse (FRERE et GERDAY, 1981; PASTEUR et al., 1987). Les caractères immunologiques (antigènes de groupes sanguins) et biochimiques (variants électrophorétiques d'une protéine du sang) dont l'expression échappe totalement à l'influence des facteurs externes (au moins dans les conditions normales), ont un mode de transmission héréditaire assez simple et conforme aux lois de la génétique mendélienne (NGUYEN, 1979). Pour cette raison, la détermination des groupes sanguins et l'étude du polymorphisme des protéines du sang et du lait permettent de caractériser, d'une manière plus précise que les études basées sur les caractères morphologiques, le patrimoine héréditaire des races.

### II.1. Nature et polymorphisme des groupages sanguins

Les groupes sanguins ont été longtemps utilisés dans les contrôles de filiation. Ils sont impliqués dans la caractérisation des races à partir des fréquences des facteurs antigéniques (QUEVAL et al., 1998; BELEMSAGA, 2000). En effet, les groupes sanguins sont des substances chimiques du groupe des hydrates qui sont fixées à la surface des globules rouges. Ces substances sont antigéniques : lorsqu'elles sont introduites dans un organisme animal, elles induisent la synthèse d'anticorps avec lesquels elles réagissent spécifiquement. L'analyse des groupes sanguins au sens strict du terme consiste en l'étude du polymorphisme des antigènes de surface des hématies. Elle découle de la réaction antigène - anticorps et fait appel à diverses techniques :

- l'agglutination : les anticorps agglutinants forment des ponts entre les hématies qui présentent alors un aspect d'agrégats ;
- l'hémolyse : les anticorps hémolysants, après s'être liés à leurs antigènes, permettent la fixation du complément qui peut alors entraîner la lyse des érythrocytes.

Chez les animaux, les groupes sanguins sont très complexes et sont sous le contrôle d'au moins huit (8) loci dont certains sont très polymorphes et d'autres codent pour des complexes antigéniques appelés *phénogroupes*. Par exemple chez les bovins, 11 systèmes ont été reconnus (A, B, C, F, J, L, M, S, Z, R', et T') (BELEMSAGA, 2000). Une étude menée par MOAZAMI-GOUDARZI et al. (2001) a donné des résultats similaires et a également montré qu'il y a des variations dans les systèmes B et S. Ainsi, ces auteurs ont conclu que la somme

des fréquences comportant les antigènes de référence est nettement plus élevée chez les zébus que chez les taurins. Par contre, la fréquence de l'allèle U' du système S est nettement élevée chez les taurins que chez les zébus.

Plusieurs autres travaux ont également été faits dans ce domaine chez les petits ruminants (GROSCLAUDE, 1974; NGUYEN, 1975; MISSOHOU et al., 1999).

Cette complexité fait que les groupes sanguins sont plutôt utilisés pour individualiser les animaux et non pour des études populationnelles.

## **II.2. Variants électrophorétiques des protéines du sang et du lait**

LEWONTIN et HUBBY (1966) et HARRIS (1966) chez l'homme ont été les premiers à utiliser la technique de l'électrophorèse des protéines en gel d'amidon ou d'acrylamide (mise en œuvre depuis les années 1960) pour quantifier l'importance du polymorphisme au niveau même des produits des gènes. Une goutte d'extrait protéique, souvent obtenue par simple écrasement des tissus, est déposée sur une plaque de gel imbibée d'une solution d'électrolytes et dans laquelle on établit un champ électrique. Chaque protéine se déplace dans ce champ avec une vitesse qui est fonction de sa charge. Ces protéines prennent, après un temps défini, une position caractéristique par rapport au front de migration. Si on arrête alors la migration et qu'on met en contact avec le gel un produit pouvant servir de substrat à une réaction enzymatique et donnant un produit coloré, on observera une bande à l'endroit où se sont arrêtées les molécules de l'enzyme correspondante. Cette méthode a été l'une des plus utilisées pour révéler la variabilité génétique.

## **II.3. Hémoglobine**

L'hémoglobine est une protéine complexe riche en fer contenue dans les globules rouges et chargée de fixer l'oxygène pour son transport dans le sang.

Chez les bovins, deux allèles principaux A et B autosomaux codominants ont été établis et définissent trois phénotypes possibles AA, AB, BB. En Afrique de l'Ouest par exemple, les taurins (genre *Bos taurus*) se distinguent des zébus (genre *Bos indicus*) par une très forte fréquence de l'allèle A dans les populations taurines trypanotolérantes (PLANCHENAULT, 1988). Les résultats des travaux sur la race N'dama dans le ranch de Madina-Diassa (au Mali) ont poussé cet auteur à dire qu'il semblerait que l'allèle Hb B soit plutôt le marqueur du groupe « zébu » après analyse des fréquences alléliques. Ce constat a

été vérifié selon les études menées par BELEMSAGA (2000) sur des races taurines (Lagunaires du Bénin, Somba du Togo et du Bénin), une race métissée zébu x taurin (Borgou du Bénin) et deux races de zébu (zébu Peul soudanais du Burkina-Faso et celui du Bénin).

Le principal intérêt de ce marqueur sanguin réside dans la simplicité des déterminations qui permet une analyse de génétique des populations.

#### **II.4. Transferrines**

Les transferrines sont des protéines synthétisées principalement au niveau du foie et dont le rôle est le transport du fer dans le plasma (SEGER et LUCOTTE, 1981).

Le polymorphisme génétique des systèmes de transferrine a été utilisé chez les bovins, ovins et caprins (SOTIROV et al., 1999; BELEMSAGA, 2000; NAVES, 2003). Dans l'espèce ovine par exemple, une vingtaine de variants génétiques de la transferrine sérique ont été identifiés. Dans l'espèce caprine, les résultats obtenus par plusieurs auteurs ont permis de mettre en évidence deux à quatre variants de la transferrine (A, B, C et D).

Chez les bovins, les études de BELEMSAGA (2000) sur six races bovines (taurins et zébus) ont révélé l'existence de neuf phénotypes de transferrine.

#### **II.5. Albumines**

Les albumines sont des holoprotéines sanguines synthétisées par le foie et dont le rôle est de transporter certaines substances biologiques dans le plasma (cations, anions, colorants et drogues) (SEGER et LUCOTTE, 1981). Des études réalisées sur ces molécules ont révélé leur polymorphisme qui se caractérise chez les bovins par la présence de deux allèles autosomaux codominants : Alb F (F pour *fast*) et Alb S (S pour *slow*) (ASHTON, 1964; BRAEND et EFREMOV, 1965). L'allèle F est présent dans toutes les espèces bovines tandis que l'allèle S n'est que sporadique dans les populations de l'Europe occidentale mais augmente en fréquence dans les populations bovines de l'Europe du Sud et de l'Afrique. Ainsi, QUEVAL et al. (1984), qui ont travaillé sur les taurins Baoulé et le zébu Peul soudanais, ont montré que l'allèle Alb F a une forte fréquence dans les populations taurines tandis que l'allèle Alb S domine chez les zébus. Ce résultat a été également observé par BELEMSAGA (2000). D'autres allèles ont été trouvés par différents auteurs et ainsi huit variants sont connus chez les bovins (QUEVAL et BAMBARA, 1984).

Dans le cadre de la caractérisation des bovins, le polymorphisme des albumines est souvent associé à celui des hémoglobines et parfois celui des groupes sanguins. C'est ainsi que l'association Hb A / Alb F, l'absence de l'antigène Z' et / ou la présence du facteur AH du système A des groupes sanguins peut être retenue comme marqueur génétique des races taurines ouest-africaines (BELEMSAGA, 2000).

## II.6. Caséines du lait

La caséine est la principale protéine du lait. Les travaux les plus complets de la biochimie et de la génétique du lait ont été effectués dans l'espèce bovine. Les résultats acquis dans cette espèce ont servi de référence aux recherches entreprises dans les autres espèces de ruminants (BOULANGER et GROSCLAUD, 1984).

Chez les bovins, il a été établi qu'il existe quatre espèces de caséines différentes : les caséines  $\alpha$ S1,  $\alpha$ S2,  $\beta$  et  $\kappa$ . Ainsi, l'haplotype<sup>2</sup>  $\alpha$ S1-Cn<sup>B</sup>,  $\beta$ -Cn<sup>A1</sup>,  $\kappa$ -Cn<sup>B</sup> caractérise les taurins africains par opposition à l'haplotype  $\alpha$ S1-Cn<sup>C</sup>,  $\beta$ -Cn<sup>A2</sup>,  $\kappa$ -Cn<sup>A</sup> chez les zébus (MOAZAMI-GOUDARZI et al., 2001). L'électrophorèse en gel d'échantillons de caséines entières provenant du lait de vache révèle un polymorphisme au niveau de chacune des quatre espèces de caséines. Cette hétérozygotie selon GROSCLAUD et al (1974) est la résultante d'une hétérozygotie intrinsèque des caséines et de la variation liée à l'existence des loci  $\alpha$ S1-Cn,  $\alpha$ S2-Cn,  $\beta$ -C et  $\kappa$ -Cn. Ces différentes espèces de caséines ont une influence sur la qualité du lait. C'est ainsi qu'il a été montré que la caséine  $\kappa$  a des effets sur les propriétés technologiques et fromagères des laits (GROSCLAUD, 1988). L'identification des deux allèles de cette caséine par la technique de RFLP (*Restriction Fragment length polymorphism*) a été utilisée pour déterminer le génotype des taureaux d'insémination artificielle (GROSCLAUD et al., 1996) Les études du polymorphisme de la caséine  $\alpha$ S1 caprine ont montré que ce polymorphisme est déterminé par un minimum de sept allèles associés à quatre niveaux de synthèse différents : trois allèles sont associés à un taux de caséine  $\alpha$ S1 «fort », un allèle à un taux «moyen», deux allèles à un taux «faible» et un allèle « nul ». Ces particularités confèreraient au polymorphisme de la caséine  $\alpha$ S1 un intérêt scientifique doublé d'un réel intérêt pratique car par exemple la prédominance, dans deux races laitières françaises Alpines et Saanen, des allèles à taux réduit serait responsable de la faiblesse des taux protéiques et de certaines difficultés de fabrication (GROSCLAUD et al., 1996).

---

<sup>2</sup> Un haplotype est une combinaison des allèles des différents marqueurs

D'autres travaux ont également montré l'effet des mutations du gène de la caséine  $\alpha S1$  sur le taux butyreux et plus encore sur la morphologie de la cellule épithéliale mammaire. Le polymorphisme de la caséine  $\alpha S1$  a ainsi des effets sur le taux protéique et sur les propriétés physico-chimiques et technologiques des laits ainsi que sur le rendement fromager et sur certaines qualités fromagères, fermeté du caillé (GROSCLAUDE et al., 1996).

### III. CARACTERISATION CYTOGENETIQUE OU CARYOTYPIQUE

Elle utilise l'analyse du caryotype des animaux, le caryotype d'un individu étant le résultat de l'observation microscopique et de l'identification de chacun des chromosomes d'une cellule. Ainsi, le nombre de chromosomes, très variable entre espèces, est en général constant pour une espèce donnée. Par exemple :

Homme :  $2n = 46$  ; Bovins :  $2n = 60$  ; Equins :  $2n = 64$  ; Ovins :  $2n = 54$  ; Porcins :  $2n = 38$  ;  
Poule :  $2n = 78$  ; Lapin :  $2n = 44$ .

Parmi les animaux domestiques, c'est essentiellement chez les bovins que les études cytogénétiques se sont développées. Ces études ont permis de constater que le caryotype normal du bovin est constitué d'autosomes (au nombre de 58) et de gonosomes ou chromosomes sexuels ou encore hétérosomes (au nombre de 2 : XX pour la femelle et XY pour le mâle). Par ailleurs, leur caractéristique morphologique permet de les distinguer clairement (BADO, 1984). Ainsi, les autosomes sont acrocentriques (centromère en position terminale) tandis que le chromosome Y est submétacentrique (centromère en position submédiane) chez les taurins et acrocentrique (le plus petit de tous les chromosomes) chez les zébus (KIEFFER et CARTWRIGHT, 1968; BELEMSAGA, 2000). Quelques exceptions ont été montrées dans certaines races de zébus en Afrique du Sud qui possèdent des chromosomes Y submétacentriques comme les taurins ouest-africain. Il s'agit de la race Africander (HALNAN, 1976), des races Bonsmara, Drakensberger, Nguni et Pedi (MEYER et al., 1980). Dans certaines populations bovines, certains remaniements chromosomiques (pathologiques) se maintiennent à des fréquences élevées et par conséquent peuvent être considérés comme des polymorphismes (SCHIBLER et al., 2000). C'est ainsi que chez les animaux d'élevage, certaines translocations robertsoniennes (1/29 chez les bovins, 15/12 et 16/14 chez les porcs) sont considérées comme un polymorphisme chromosomique caractérisant ces espèces. La translocation robertsonienne 1/29 a été retrouvée dans certaines races bovines africaines

comme le zébu Peul soudanais et le taurin Somba (CRIBU et al., 1991; BELEMSAGA, 2000).

#### **IV. METHODES MOLECULAIRES**

Il s'agit dans ce cas d'utiliser les marqueurs génétiques pour caractériser une population donnée. Un marqueur génétique est par définition un fragment d'ADN qui sert de repère pour suivre la transmission d'un segment de chromosome d'une génération à l'autre (BOICHARD et al., 1998). Il en existe plusieurs types ; entre autres les RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), les SNP (Single Nucleotid Polymorphism), les ADN satellites, les minisatellites et les microsatellites. Ces derniers sont ceux que nous avons choisis pour notre étude.

##### **Conclusion partielle**

Ce chapitre nous a permis de passer en revue les méthodes couramment utilisées pour caractériser les populations animales domestiques. Ces méthodes (exceptées celles basées sur les marqueurs moléculaires) bien que variées ne permettent pas une caractérisation génétique précise (ou fine) d'une population animale.

Ainsi, les marqueurs moléculaires notamment les microsatellites ont été choisis pour la caractérisation génétique des bovins de cette étude.

Dans le chapitre suivant, nous verrons l'organisation des séquences du matériel génétique dans le génome et l'utilisation des marqueurs microsatellites dans la caractérisation et la gestion des populations animales.

# CHAPITRE III. MARQUEURS MICROSATELLITES ET CARACTERISATION DES POPULATIONS ANIMALES

## I. RAPPELS SUR LE MATERIEL GENETIQUE : ADN

L'acide désoxyribonucléique (ADN) est la molécule présente dans toutes les cellules vivantes et qui renferme l'ensemble des informations nécessaires au développement et au fonctionnement d'un organisme.

C'est le support de l'hérédité car il est transmis lors de la reproduction, de manière intégrale ou non.

Il porte donc l'information génétique et constitue le génome des êtres vivants.

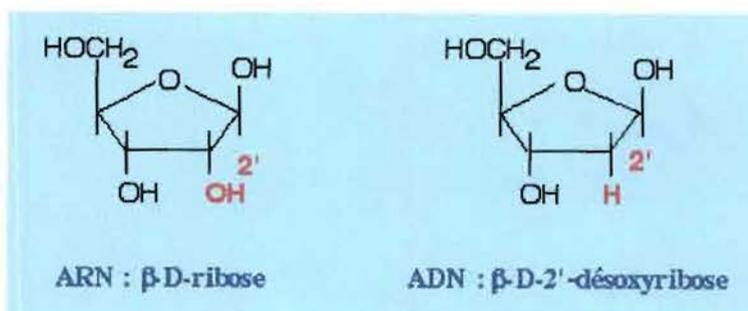
Chez les eucaryotes, l'ADN est présent dans le noyau cellulaire en quantité égale dans toutes les cellules somatiques d'une même espèce principalement mais aussi dans les matrices des mitochondries (chez les vertébrés la transmission de l'ADN mitochondrial se fait par la voie maternelle).

Chez les procaryotes, l'ADN est libre dans le cytoplasme.

### I.1. Composition chimique de l'ADN

L'hydrolyse enzymatique de l'ADN a permis de montrer qu'il est composé de :

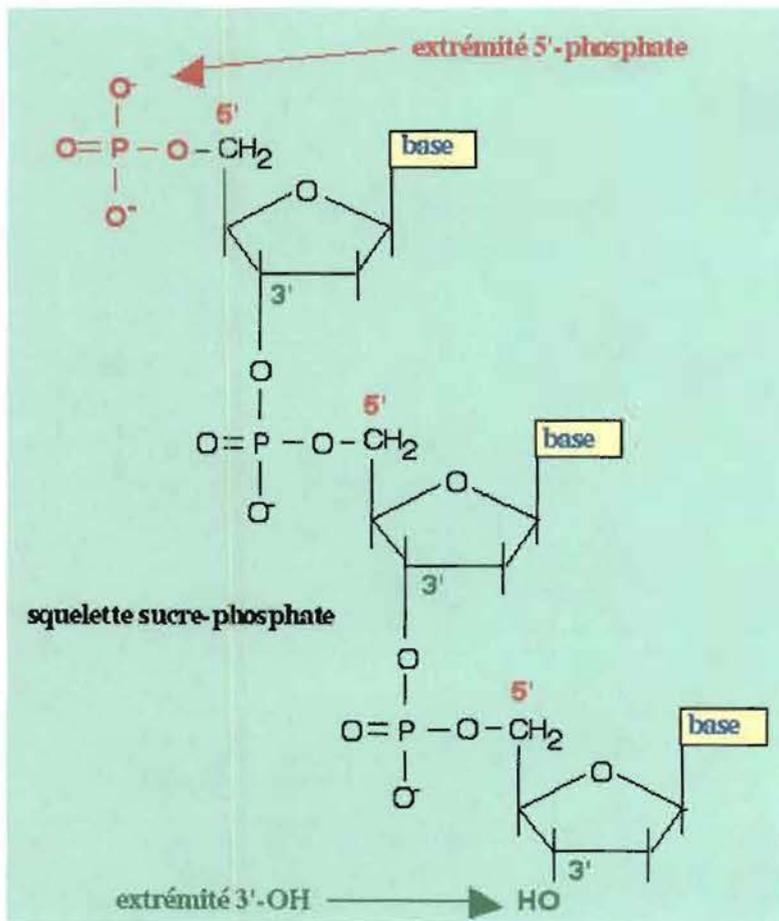
- un groupe phosphate constitué d'un atome de phosphate relié à quatre atomes d'oxygènes ;
- le désoxyribose : un sucre à cinq atomes de carbone semblable au ribose, mais avec un groupe hydroxyle en moins sur le carbone 2' qui donne son nom à la molécule ;



- quatre bases organiques azotées :

- ✓ Bases puriques dérivant du noyau purine : adénine (A) et guanine (G) ;
- ✓ Bases pyrimidiques dérivant du noyau pyrimidine : cytosine (C) et thymine (T).

L'association entre l'acide phosphorique, le désoxyribose et une base azotée forme l'élément de base de l'ADN appelé *nucléotide*. L'ADN est ainsi un polynucléotide. L'existence de quatre bases azotées différentes fait qu'il existe quatre types différents de nucléotides selon la base azotée qui est associée à l'acide phosphorique et au désoxyribose. Par ailleurs, ce sont ces bases qui se combinent pour constituer *le code génétique* et constituent les déterminants de la variabilité génétique.



**Figure 2: Structure squelettique d'une molécule d'ADN**

## I.2. Structures de l'ADN

### I.2.1. Structure primaire de l'ADN

L'ADN est constitué par l'enchaînement linéaire « d'unités moléculaires » de nucléotides (plusieurs dizaines de milliers) qui forment un filament non ramifié. Ces nucléotides sont réunis entre eux par des liaisons covalentes établies entre l'acide phosphorique d'un nucléotide et le désoxyribose du nucléotide suivant.

L'enchaînement ordonné des quatre nucléotides différents le long de la chaîne constitue la structure primaire de l'ADN. Le polymorphisme de l'ADN entraîne la variabilité des individus au sein d'une même espèce. Lorsqu'une séquence de nucléotides, c'est-à-dire l'ordre défini dans lequel s'enchaînent les nucléotides d'un brin d'ADN, est responsable d'une fonction cellulaire particulière, elle constitue une unité génétique appelée *gène*, qui en moyenne compte environ 1000 nucléotides (INRAP et DAUVISIS, 1991).

### **I.2.2. Structure secondaire de l'ADN**

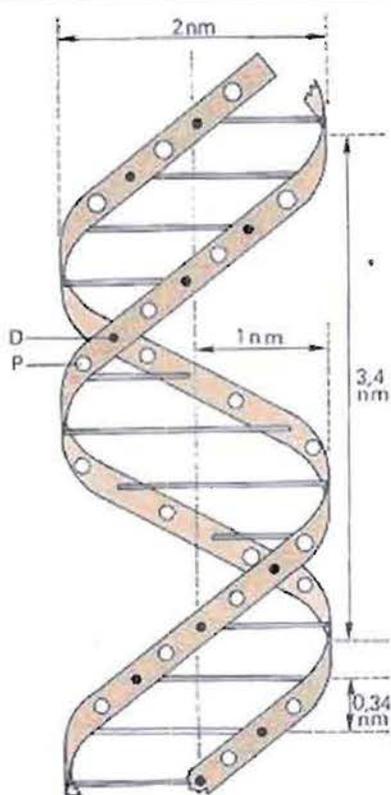
La structure secondaire de l'ADN est la double hélice, modèle de WATSON et CRICK (1953).

Dans cette structure, l'ADN est constitué de deux chaînes nucléotidiques appelés brins. Ces deux chaînes de nucléotides sont unies entre elles par des liaisons hydrogènes au niveau des bases azotées (double entre A et T et triple entre C et G) pour former un hybride en forme de double hélice. Chacune des deux chaînes suit une allure hélicoïdale, produisant la double hélice enroulée vers la droite. Les deux chaînes associées par des liaisons transversales sont antiparallèles (polarités opposées : l'un est constitué d'un enchaînement commençant à gauche et se poursuivant vers la droite (sens 5'→3'), l'autre commençant à droite et se poursuivant vers la gauche (sens 3'→5')) et complémentaire en terme de séquence par appariement des bases complémentaires.

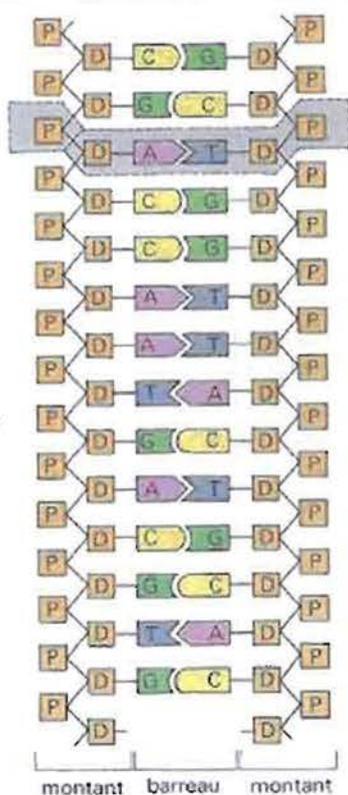
L'association AT et GC constitue la base de la loi de CHARGAFF qui stipule que, dans l'ADN d'une espèce donnée,  $A/T=C/G=1$ .

L'existence de ces liaisons à faible énergie (liaisons H) explique la grande plasticité de la molécule d'ADN permettant son ouverture lors de la réplication ou de la transcription. Ce sont également ces liaisons hydrogènes qui permettent la dénaturation de la molécule par chauffage entre 94 et 95°C et sa renaturation autour de 50°C dans le mécanisme de l'hybridation. Le diamètre de la double hélice est de 20 Å (ou 2 nm). Les plans des paires de bases sont espacés de 3,4 Å (ou 0,34 nm). Le pas d'hélice (tour d'hélice) très régulier est de 34 Å (ou 3,4 nm) et contient environ 10 paires de bases par tour (Figure 3).

A - Un fragment de molécule d'ADN.



B - Structure du fragment de molécule d'ADN



Un nucléotide

D désoxyribose

P acide phosphorique

bases organiques azotées

G guanine

C cytosine

T thymine

A adénine

- Distance entre les barreaux : 0,34 nanomètres ( $0,34 \times 10^{-9} \text{ m}$ )
- Largeur d'un barreau : 2 nanomètres
- Chaque tour de l'hélice correspond à 10 barreaux.

**Très important :**

- L'adénine ne peut se lier qu'avec la thymine ;
- La guanine ne peut se lier qu'avec la cytosine.

Figure 3: Structures de l'ADN

[http://www.medarus.org/Medecins/MedecinsTextes/watson\\_james\\_dewey.htm](http://www.medarus.org/Medecins/MedecinsTextes/watson_james_dewey.htm)

## II. ORGANISATION DES SEQUENCES DU MATERIEL GENETIQUE

Le matériel génétique est organisé en gènes uniques, familles de gènes et pseudogènes, en séquences répétées fonctionnelles non codantes, en séquences répétées et dispersées (SINEs et LINEs), en séquences non répétées non codantes et en séquences répétées en tandem.

### II.1. Les gènes uniques, familles de gènes et pseudogènes

Le gène ou unité fonctionnelle du génome est une séquence nucléotidique codant pour une protéine donnée. La répartition des gènes et la densité des gènes le long des chromosomes ne sont pas homogènes (MOUCHIROUD et al., 1991; SACCONI et al., 1992); BERNARDI, 1995). La plupart des gènes et pseudogènes sont situés dans l'euchromatine<sup>3</sup> de

<sup>3</sup> Euchromatique: partie de chromatine, décondensée, active au niveau transcriptionnel. Elle est très déspiralisée et constitue 10 % de l'ADN nucléaire.

tous les chromosomes. Toutefois l'hétérochromatine<sup>4</sup> n'en est pas totalement dépourvue. La densité des gènes varie aussi entre chromosomes et ceci est mieux connu chez l'homme que chez les autres mammifères. En effet, SARCCONE et al (1992) ont montré que certains chromosomes humains, comme le chromosome 19, sont extrêmement riches en gènes et d'autres, comme le chromosome 13, en sont extrêmement pauvres. Pour les espèces de mammifères autres que l'homme, les cartes génétiques sont à ce jour moins développées pour donner une image globale et significative mais la répartition et la densité des gènes le long des chromosomes ont très probablement les mêmes caractéristiques chez toutes les espèces. Cette hypothèse était soutenue, entre autres, par les expériences de peinture chromosomique hétérologue (technique d'hybridation qui permet d'identifier les segments chromosomiques conservés entre espèces) (GELLIN, 2000) qui ont révélé l'existence de grands segments chromosomiques conservés entre génomes d'espèces différentes, la distribution de ces segments au sein des caryotypes étant spécifique d'espèce (WEINBERG et STANYON, 1997).

A côté des gènes, il existe des séquences structurellement proches de certains gènes mais qui en fait ne sont ni transcrites en ARNm ni traduites en protéines, ce sont les *pseudogènes*. Les pseudogènes sont constitués par une succession d'introns et d'exons mais ils sont rendus inactifs à la suite d'anomalies structurales diverses notamment des mutations ponctuelles, des délétions ou des insertions de codons « stop ».

## **II.2. Séquences répétées fonctionnelles non codantes**

Elles sont situées aux deux extrémités de chacun des chromosomes de toutes les espèces eucaryotes étudiées, de la levure à l'homme (PRYDE et al., 1997). Elles consistent en un alignement de répétitions en tandem qui ne spécifient aucune protéine ou ARNm, mais qui ont un rôle essentiel qui serait la protection de l'extrémité des chromosomes (télomères) de la dégradation. Il a été montré que la taille de ces séquences télomériques diminue avec le vieillissement cellulaire, c'est-à-dire au fur et à mesure des divisions cellulaires (GREIDER, 1996).

---

<sup>4</sup> Hétérochromatine: correspond à de la chromatine à l'état condensé, elle est la partie de chromatine inactive au niveau transcriptionnel. Toutefois, on y trouve quelques régions transcrites.

### **II.3. Séquences répétées et dispersées (SINEs et LINEs)**

Ce sont des séquences de nucléotides éparpillées à travers le génome et non groupées en tandem comme les précédentes. Elles sont hautement répétées et dispersées chez les vertébrés (SINGER, 1982) et possèdent une structure de transposons c'est-à-dire des éléments d'ADN instables et capables de migrer vers différentes régions du génome par rétro transposition (leurs transcrits ARN peuvent être convertis dans la cellule en ADN complémentaire, ré insérables au sein de l'ADN génomique). Ce sont vraisemblablement des parasites du génome. Il s'agit des LINEs (Long InterSpersed Repeat Elements) et des SINEs (Short InterSpersed Repeat Elements). Les LINEs ont des séquences de 6 à 7 kilobases alors que les SINEs mesurent environ 300 à 500 paires de bases dont les séquences Alu sont répétées des milliers de fois et distribuées non aléatoirement.

### **II.4. Séquences répétées en tandem**

Les séquences répétées en tandem (ou VNTR pour Variable Number of Tandem Repeat) sont des séquences constituées de répétitions en tandem d'un motif unitaire de taille également variable. Selon la taille du motif et le nombre de la répétition, on distingue les satellites (CSINK et HENIKOFF, 1998), les minisatellites (JARMAN et WELLS, 1989) et les microsatellites (KARLIN et BURGE, 1995).

#### **II.4.1. ADN satellites**

Ce sont de longues séries de répétitions d'ADN plus ou moins complexes et non transcrites. Le motif répété en tandem est constitué de 2 à 100 nucléotides. Il existe plusieurs types d'ADN satellites. Chez les primates par exemple, les satellites II contiennent une répétition en tandem du motif AATTCC, alors que l'ADN satellite  $\alpha$ , constituant principal de l'hétérochromatine centromérique, est caractérisé par une répétition d'une unité de 171 paires de bases (JARMAN et WELLS, 1989).

#### **II.4.2. ADN minisatellites**

Les minisatellites sont particulièrement caractérisés par une grande variabilité du nombre de répétitions en tandem d'un individu à l'autre (0,5 à 30 kb en moyenne). Ainsi, ils permettent l'identification d'empreintes génétiques très spécifiques de chaque individu. Ils sont très polymorphes, tant du point de vue du nombre de répétitions que de la taille des unités répétées (de 10 à 30 bases). Un motif central (ou core) des minisatellites hypervariables

GGGCAGGANG est cependant partagé par les unités. Ce motif présente une homologie avec la séquence *chi*, séquence signal de recombinaison chez *Escherichia coli* et serait de ce fait susceptible de favoriser les recombinaisons et donc le polymorphisme des minisatellites. Ils sont assez mal répartis sur le génome et surtout difficilement interprétables car les bandes révélées correspondent à l'observation simultanée d'un nombre variable et élevé de loci.

En dehors des minisatellites hypervariables, il existe également les minisatellites télomériques (motif: TTAGGG) qui protégeraient l'extrémité des chromosomes de la dégradation et permettent la réplication.

### II.4.3. ADN microsatellites

Les microsatellites sont de petites séquences d'ADN non codant de 1 à 5 paires de bases, répétées en tandem. Ils présentent un polymorphisme de longueur, dû à la variation du nombre de répétition [ par exemple (TG)<sub>n</sub> avec 10 < n < 30 ] et un taux de mutation de l'ordre de 2.10<sup>-3</sup> à 2.10<sup>-4</sup> par locus et par génération (ELLEGREN, 2000; BALLOUX et LUGON-MOULIN, 2002; ELLEGREN, 2004).

Egalement appelées Simple Sequence Repeat (SSR) ou Short Tandem Repeat (STR), les microsatellites sont présents sur l'ensemble du génome, mais également entre les gènes. Les dinucléotides (CA)<sub>n</sub> sont les plus nombreux dans le génome (SCHIBLER et al., 2000). Les microsatellites, de par leur amplification aisée et répétable, leur codominance et leur fort polymorphisme, sont parmi les marqueurs moléculaires les plus utilisés dans les études de diversité génétique.

Tableau IV : Fréquences des principaux types de microsatellites chez les mammifères.

Source : (SCHIBLER et al., 2000)

Taille du motif	Séquence du motif	Fréquence dans le génome	Remarque
Mononucléotide	(A) <sub>n</sub>	Un tous les 5-10 kb	0,3 % du génome
Dinucléotide	(CA) <sub>n</sub> (TC) <sub>n</sub>	Un tous les 25-100 kb Un tous les 50 kb	0,5% du génome 0,2 % du génome
Trinucléotide	(TTA) <sub>n</sub> (AGC) <sub>n</sub>	Un tous les 300-500 kb	
Tétranucléotide	(AATC) <sub>n</sub> ,(AATG) <sub>n</sub> , (ACAG) <sub>n</sub> ,(AAAT) <sub>n</sub> , (AAAG) <sub>n</sub>		Dérive des séquences poly (A) des familles Alu

#### II.4.3.1. Propriétés des marqueurs microsatellites

Les propriétés majeures des marqueurs microsatellites sont les suivantes :

- ✓ Leur fort polymorphisme : c'est-à-dire variable entre individus ;
- ✓ Leur codominance : l'on peut distinguer toutes les classes d'hétérozygotes par rapport aux homozygotes
- ✓ Leur fréquence dans le génome : ce qui permet d'évaluer le polymorphisme en de multiples endroits du génome ;
- ✓ Leur neutralité (par rapport à la sélection) : le fait que les microsatellites ne sont pas codants fait qu'ils ne reflètent en principe que les composantes démographiques des populations;
- ✓ Leur facile accessibilité (disponibilité) : les marqueurs microsatellites peuvent être synthétisés facilement et sont manipulables à grande échelle par la technique PCR ;
- ✓ Leur reproductibilité d'une expérience à une autre.

#### **II.4.3.2. Utilisation des marqueurs microsatellites dans la caractérisation et la gestion des populations animales**

Les microsatellites sont devenus des marqueurs de choix dans divers domaines de génétique avec le développement des techniques de biologie moléculaire notamment la PCR.

##### **a. PCR**

La Polymérase Chain Reaction ou PCR (ou Amplification en Chaîne par la Polymérase en français) mise au point par KARY MULLIS en 1985 (SAIKI et al., 1985) est une réaction d'amplification *in vitro* qui permet d'obtenir une quantité abondante d'ADN spécifique à partir d'un échantillon peu abondant.

Elle permet de passer d'un échantillon de l'ordre du picogramme à du matériel utilisable de l'ordre du microgramme sans avoir recours au clonage.

Le nombre de molécules d'ADN (amplicons) obtenu après  $n$  cycles est de  $2^n$ .

Le principe de la PCR suit le phénomène de la réplication de l'ADN.

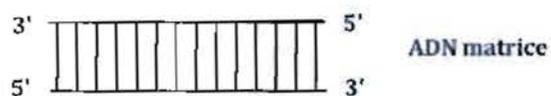
La réaction PCR consiste en une série de cycles (cycling). Chaque cycle comprend trois phases successives majeures (Figure 4) qui sont :

- Une dénaturation des deux brins d'ADN à température élevée (environ 94°C) afin d'obtenir des molécules d'ADN monocaténares,

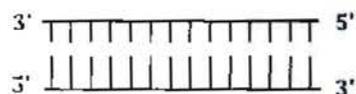
- Une hybridation (annealing) des amorces ou primers complémentaires d'une séquence de l'ADN monocaténaire cible. La température d'hybridation comprise entre 40°C et 65°C dépend de la composition de la séquence de l'amorce.
- Une extension (ou élongation) par une ADN polymérase thermostable (la Taq polymérase) à partir des oligonucléotides. L'extension est réalisée à la température optimale de 72°C (TAGU, 1999).

La PCR est réalisée dans un thermocycleur dans lequel on place un tube ou une plaque contenant un mélange réactionnel constitué de :

- L'ADN dans lequel se trouve la séquence à amplifier ;
- Un couple d'amorces. Les amorces sont constituées d'une courte séquence de 20 à 30 oligonucléotides complémentaires des extrémités du fragment à amplifier. Ces 2 amorces ont leur extrémité 3-prime (3') dirigée l'une vers l'autre encadrant ainsi la séquence à amplifier. Elles sont indispensables à l'accrochage de la polymérase ;
- La Taq polymérase, une enzyme issue d'une bactérie thermophile nommée *Thermophilus aquaticus* isolée en 1965 dans les sources chaudes du parc de Yellowstone. Celle-ci ne travaille qu'à partir d'une double hélice en ajoutant des désoxynucléotides à l'extrémité 3-prime (3') en croissance ;
- Des désoxynucléotides (dNTP) : dATP, dCTP, dGTP et dTTP. Ils doivent être à des concentrations identiques pour minimiser les erreurs d'incorporation ;
- Du MgCl<sub>2</sub> qui donne un pH et une concentration saline optimale au bon fonctionnement des amorces et de la Taq polymérase.



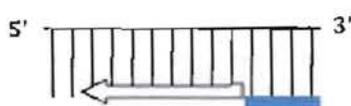
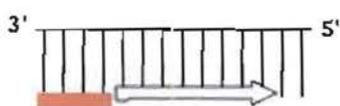
1. Dénaturation



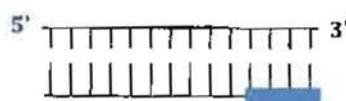
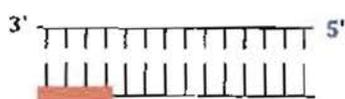
2. Fixation des amorces



3. Elongation



1.



2.



3.

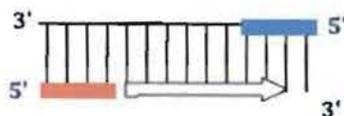
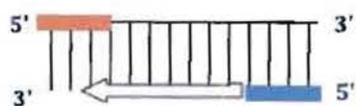


Figure 4: Différentes étapes des cycles de la PCR

## **b. Application des marqueurs microsatellites en génétique des populations**

C'est dans cette application des marqueurs microsatellites que s'inscrit notre travail sur les populations bovines du Niger.

Les marqueurs microsatellites, de part leur polymorphisme élevé, leur codominance, leur neutralité, leur abondance dans le génome et leur relative facile manipulation grâce à la PCR, sont considérés comme des outils de choix, sinon les meilleurs, pour les études de génétique de populations.

### **Conclusion partielle :**

Le matériel génétique, de par sa composition et sa structure, est organisé en plusieurs séquences parmi lesquelles nous avons les séquences répétées en tandem. Le développement des techniques de biologie moléculaire surtout la technique de la PCR a permis une meilleure étude du génome. Les marqueurs génétiques notamment les microsatellites (pour leurs propriétés) sont des bons marqueurs qui sont appliqués dans la caractérisation et l'amélioration génétique des populations animales.

**DEUXIEME PARTIE :      ETUDE**  
**EXPERIMENTALE**

# CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

## I. MATERIEL

### I.1. Matériel animal

L'étude a été conduite sur des bovins du Niger notamment ceux du Ranch de Warkéré, de la Station expérimentale de Toukounous et des zébus du Burkina Faso à titre de comparaison. Le Ranch de Warkéré est un GIE (Groupement d'Intérêt Economique) situé à une cinquantaine de kilomètres de Niamey au Niger avec un objectif orienté vers la production laitière en utilisant les races bovines locales soumises à une sélection ou à un programme d'insémination artificielle. Le tableau V récapitule les populations bovines utilisées, leur nombre et leur origine.

Tableau V : Informations sur les populations animales

Population	Nombre	Origine
Azawak de Warkéré	68	villages de Toukounous ou nés dans le Ranch
Zébus Goudali	53	Sokoto (Nigéria) ou nés dans le Ranch de Warkéré
Zébus Bororo	13	Balléyara et Manganzéi
Zébus Djéli	47	Balléyara et Manganzéi
Azawak de Toukounous	25	Toukounous
Zébus Peuls du Burkina Faso	20	Burkina Faso

Pour ces animaux, le sang a été prélevé au niveau de la veine jugulaire dans des tubes avec anticoagulant EDTA. Toutes les analyses sur les échantillons ont été effectuées sur les locaux du CIRDES au Burkina Faso.

## I.2. Matériel de laboratoire

Les équipements, matériel, solutions et réactifs suivants ont été utilisés :

### ➤ Equipements et matériel

- ↳ Pipettes P10, P20, P200, P1000,
- ↳ Thermocycleurs PTC 100<sup>TM</sup> (Programmable thermal controller, N°: 18019), BIOMETRA<sup>®</sup> (T-Gradient thermoblock, N°: 1912460), EPPENDORF AG (Mastercycler gradient, N° : 5331 52185)
- ↳ Séquenceur Li-Cor 4300 DNA Analyzer
- ↳ Hotte à flux laminaire,
- ↳ Centrifugeuses à tubes et à plaques,
- ↳ Cuve électrophorèse horizontale,
- ↳ Réfrigérateur,
- ↳ Congélateur,
- ↳ Plaque UV muni d'un appareil photo avec moniteur,
- ↳ Four micro-onde,
- ↳ Balance,
- ↳ Erlenmeyer,
- ↳ Agitateur (vortex),
- ↳ Marqueurs pour écrire.

### ➤ Les solutions, réactifs et consommables

- ↳ Cônes à filtres type ART de 10, 20, 100, 200 et 1000,
- ↳ Agarose,
- ↳ Eau distillée,
- ↳ TBE 1X,
- ↳ BEt,
- ↳ Amorces des marqueurs microsatellites (10mM),
- ↳ Tampon 10X,
- ↳ dNTP 10 mM,
- ↳ Taq polymérase (5u/μl),
- ↳ Papier sopalin et papier aluminium,
- ↳ Film adhésif,
- ↳ Bleu de formaldéhyde,
- ↳ Urée,

- ✚ Marqueur de taille M4,
- ✚ Papier photo,
- ✚ Parafilm,
- ✚ Gants,
- ✚ Extrait d'ADN.

## **II. METHODES**

### **II.1. Extraction de l'ADN**

Deux kits commerciaux (kit Qiagen® DNeasy Blood and Tissue kit, et le kit de purification Wizard Promega®) ont été utilisés pour réaliser les extractions des ADN des différents individus à partir du sang. Le choix de l'un ou de l'autre des deux kits a été fait en fonction de la disponibilité des stocks.

Les protocoles d'extraction à partir de ces kits sont présentés en annexes 1 et 2.

Les ADN extraits dans des tubes 1,5 ml sont dans un premier temps stockés et rangés dans des boîtes et conservées dans des congélateurs (- 20°C) lorsqu'ils ne sont pas utilisés dans l'immédiat.

### **II.2. Contrôle des ADN extraits**

Pour vérifier la qualité des extractions, les ADN ont été migré sur un gel d'agarose 1% pendant 10 à 20 minutes à 80 volts. Le gel est ensuite photographié grâce à une plaque UV et un moniteur.

### **II.3. Génotypage**

#### **II.3.1. Amplification des marqueurs microsatellites par PCR**

##### **II.3.1.1. Choix des amorces**

Douze (12) marqueurs microsatellites ont été utilisés pour le génotypage des animaux. Parmi ces marqueurs microsatellites, onze ont été choisis dans le panel des marqueurs microsatellites établi et recommandé par le Groupe Consultatif sur la diversité génétique des animaux de l'ISAG-FAO<sup>5</sup> ([www.fao.org/dad-is/](http://www.fao.org/dad-is/)) pour les études sur la biodiversité. Le marqueur microsatellite BM4440 localisé sur le chromosome bovin 2 a été

---

<sup>5</sup> ISAG : International Society for Animal Genetics

choisi car il a été identifié comme significatif dans une étude de détection de signature de sélection sur la trypanotolérance chez les taurins ouest-africains (DAYO et al., 2009).

Les caractéristiques de ces marqueurs sont présentées dans le tableau VI.

Tableau VI : Informations sur les marqueurs microsatellites utilisés

Marqueurs microsatellites	Nom des amorces	Séquences des amorces (5' - 3')	Motif Nucléotidique	N° du Chromosome	Ta <sup>6</sup> (°C)	Concentration du MgCl <sub>2</sub> (mM)	Taille théorique
ETH225	ETH225F	GATCACCTTGCCACTATTTCT	di	9	55	2,52	139-161 <sup>3</sup> 140-156 <sup>2</sup>
	ETH225R	ACATGACAGCCAGCTGCTACT					
	ETH225FM13	CACGACGTTGTAACGACGATCACCTTGCCACTATTTCT					
ILSTS005	ILSTS005F	GGAAGCAATGAAATCTATAGCC	di	10	55	3,125	181-193 <sup>2</sup>
	ILSTS005R	TGTTCTGTGAGTTTGTAAAGC					
	ILSTS005FM13	CACGACGTTGTAACGACGGAAGCAATGAAATCTATAGC C					
INRA063	INRA063F	ATTTGCACAAGCTAAATCTAACC	di	18	52	3,152	178-188 <sup>1</sup>
	INRA063R	AAACCACAGAAATGCTTGGAAG					
	INRA063FM13	CACGACGTTGTAACGACATTTGCACAAGCTAAATCTAA CC					
HEL9	HEL9F	CCCATTCAGTCTTCAGAGGT	di	8	60	3,125	143-167 <sup>1</sup> 149-171 <sup>3</sup>
	HEL9R	CACATCCATGTTCTCACCAC					
	HEL9FM13	CACGACGTTGTAACGACCCCATTCAGTCTTCAGAGGT					
HEL1	HEL1F	CAACAGCTATTTAACAAGGA	di	15		2,52	101-125 <sup>3</sup>
	HEL1R	AGGCTACAGTCCATGGGATT					
	HEL1FM13	CACGACGTTGTAACGACCAACAGCTATTTAACAAGGA					
MM12	MM12F	CAAGACAGGTGTTTCAATCT	di	9	55	2,52	105-145 <sup>1</sup>
	MM12R	ATCGACTCTGGGGATGATGT					
	MM12FM13	CACGACGTTGTAACGACCAAGACAGGTGTTTCAATCT					

<sup>6</sup> Ta : Température d'anéaling ou d'hybridation

<b>BM1824</b>	BM1824F	GAGCAAGGTGTTTTTCCAATC	di	1	50	2,52	180-199 <sup>3</sup>
	BM1824R	CATTCTCCAACCTGCTTCCTTG					
	BM1824FM13	CACGACGTTGTAAAACGACGAGCAAGGTGTTTTTCCAATC					
<b>TGLA122</b>	TGLA122F	CCCTCCTCCAGGTAAATCAGC	di	21	60	2,52	134-167 <sup>3</sup>
	TGLA122R	AATCACATGGCAAATAAGTACATAC					
	TGLA122FM13	CACGACGTTGTAAAACGACCCCTCCTCCAGGTAAATCAGC					
<b>TGLA53</b>	TGLA53F	GCTTTCAGAAATAGTTTGCATTCA	di	16	55	2,52	143-186 <sup>3</sup>
	TGLA53R	ATCTTCACATGATATTACAGCAGA					
	TGLA53FM13	CACGACGTTGTAAAACGACGCTTTCAGAAATAGTTTGCATTCA A					
<b>INRA37</b>	INRA37F	GATCCTGCTTATATTTAACCAC	di	11	50	3,125	112-148 <sup>1</sup> 100-140 <sup>3</sup>
	INRA37R	AAAATTCCATGGAGAGAGAAAC					
	INRA37FM13	CACGACGTTGTAAAACGACGATCCTGCTTATATTTAACCAC					
<b>BM4440</b>	BM4440F	CCCTGGCATTCAACAAGTGT	di		60	3,125	
	BM4440R	TAGATGCAAAACACACACACA					
	BM4440FM13	CACGACGTTGTAAAACGACCCCTGGCATTCAACAAGTGT					
<b>MNB-42</b>	MNB-42F	CTTTAGCTGTTTCAGCAGATGG	di	4	52	2,52	
	MNB-42R	TGATTCTCAGCTCTTTCTAGCC					
	MNB-42FM13	CACGACGTTGTAAAACGACCTTTAGCTGTTTCAGCAGATGG					

<sup>1</sup> (ARMSTRONG et al., 2006), <sup>2</sup> (MIRHOSEUNIE et al., 2005), <sup>3</sup> (OLUFUNMILAYO et al., 2003)

### II.3.1.2. Aliquotage des amorces

Les amorces synthétisées sous forme lyophilisée ont été reconstituées avec une solution de réhydratation de l'ADN (TE = Tris EDTA) pour avoir des solutions mères de 100  $\mu\text{M}$  puis des solutions de travail de 10  $\mu\text{M}$  ont été préparées pour les PCR.

### II.3.1.3. Détermination des conditions optimales d'amplification des marqueurs microsatellites

Les conditions optimales d'amplification des marqueurs microsatellites sont obtenues par la réalisation de plusieurs essais PCR en jouant sur les différents facteurs d'amplification à savoir la température d'hybridation, la concentration en chlorure de magnésium, les volumes des réactifs et le programme PCR (nombre de cycles, temps de chaque étape des cycles).

### II.3.1.4. Composition des solutions mix PCR

Pour la réalisation de génotypage sur le séquenceur Li-Cor, deux PCR sont nécessaires :

- ✓ une PCR dite froide ;
- ✓ une PCR Li-cor.

### II.3.1.5. PCR froide

Elle a été réalisée avec les couples d'amorces simples (Forward et Reverse) pour la détermination des conditions optimales d'amplification de chaque marqueur microsatellite. La composition du Mix pour cette PCR (pour 1 échantillon) est la suivante :

Tableau VII : Composition du Mix pour la PCR froide

Réactifs	Volume réactionnel pour 1 échantillon ( $\mu\text{l}$ )
Eau distillée	8,125
dNTP (20mM)	1,6
Tampon 10X	1,6
Mgcl2 (25mM)	1,6
Amorce Forward	0,4
Amorce Reverse	0,4
Taq polymérase	0,125
ADN	2
<b>Volume réactionnel</b>	<b>13</b>

Les volumes du MgCl<sub>2</sub> et de l'eau distillée dans la composition du mix sont variables en fonction des marqueurs microsatellites car des concentrations fortes de MgCl<sub>2</sub> (3,125) ont été nécessaires pour pouvoir amplifier certains microsatellites (Voir tableau VI). Les produits de la PCR ont été migrés sur un gel d'agarose 1,5% dans du tampon TBE 1X en utilisant un marqueur de taille afin de détecter la présence ou l'absence des bandes spécifiques. Une bande a été dite spécifique lorsqu'elle apparaît au niveau de la taille attendue.

La révélation des bandes d'ADN est rendue possible par le BEt (une molécule qui s'intercale entre les bases de la molécule d'ADN) ajouté au gel d'agarose et qui sous les rayons UV s'excite et fluoresce, ce qui va permettre de visualiser l'ADN dans le gel sous forme de bande.

### **II.3.1.6. PCR Li-Cor**

La PCR dont les produits sont migrés et lus sur le séquenceur Li-Cor est réalisée presque de la même manière qu'une PCR froide. Les seules différences résident au niveau de l'amorce Forward qui contient une queue M13 (une séquence nucléotidique de 19 bases clonée dans un phage M13) à son extrémité 5' et au niveau de la présence dans le milieu réactionnel d'un dye IR700 ou IR800 (séquence M13 marquée à un fluorophore absorbant à des longueurs d'onde de 700 ou 800 nanomètres). Les dyes se manipulent avec le moins de luminosité possible. Le dye va s'incorporer dans les produits PCR et permettre leur détection par des lasers lors de l'électrophorèse sur le séquenceur Li-Cor (NEN® model 4300 DNA Analyzer). Ce modèle de Li-Cor disponible au CIRDES est un séquenceur automatique à gel d'acrylamide qui permet de détecter, avec une bonne résolution, des fragments d'ADN de 50 à 700 pb amplifiés soit avec le dye IR700 ou le dye IR800. Ainsi, à la fin de la migration, nous obtenons deux images distinctes une avec des fragments amplifiés et lus à 700 nm et l'autre avec des fragments amplifiés et lus à 800 nm. Ces images électrophorétiques sont ensuite analysées à l'aide du logiciel SAGA<sup>GT</sup> Génération 2 conçu pour la lecture des profils microsatellites chez les organismes diploïdes.

Toutes les manipulations (de la PCR Li-Cor jusqu'au dépôt sur le gel acrylamide sur le séquenceur) utilisant ces dyes sont réalisées à l'abri de la lumière.

Tableau VIII: Composition du Mix de la PCR Li-Cor

Réactifs	Volume réactionnel pour 1 échantillon (µl)
Eau distillée	7,275
dNTP (20mM)	1,6
Tampon 10X	1,6
Mgcl <sub>2</sub> (25mM)	1,6
Primer FM13	0,2
Primer R	0,3
M13/700 ou 800 (Dye)	0,3
Taq (5u/µl)	0,125
<b>Total Mix</b>	<b>13</b>
ADN	2
<b>Volume réactionnel</b>	<b>15</b>

Les plaques contenant les produits PCR sont emballées dans du papier aluminium et conservées à -20°C jusqu'à leur migration sur le séquenceur.

### II.3.1.7. Ré-arrangement des plaques

Le ré-arrangement des plaques consiste à faire du multiplexage c'est-à-dire à mélanger deux microsattellites qui ont été amplifiés par PCR Li-Cor, les uns avec le dye IR700 et les autres avec le dye IR800 et de les migrés ensemble dans le même gel sur le séquenceur. Cela nécessite une mise au point qui permet d'équilibrer le milieu réactionnel de sorte que tous les allèles des différents marqueurs microsattellites mélangés puissent être distingués. Afin de faire une lecture plus précise de la taille des différents allèles microsattellites, nous avons ajouté sur les plaques de ré-arrangement des marqueurs de taille (variant de 71 à 367 bp).

### II.3.1.8. Migration des produits PCR sur le séquenceur Li-Cor

Les produits de la PCR Li-Cor multiplexés sont d'abord dénaturés sur une plaque chauffante 94°C pendant 3 minutes, distribués sur un Rack (Photo 8), aspirés par capillarité sur un peigne membrane (Photo 9) et déposés sur un gel d'acrylamide 6,5% préalablement monté sur le séquenceur Li-Cor. Les allèles sont ensuite séparés par électrophorèse verticale haut voltage (1500 volts pendant 1 heure 30 minutes) en fonction de leur taille. La détection des allèles se fait grâce aux deux lasers du séquenceur Li-Cor et la visualisation de la migration est possible sur un ordinateur connecté au séquenceur (Photo10). Les images des gels (Photo 11) stockées sur le séquenceur ont été exportées sur l'ordinateur pour leur analyse.

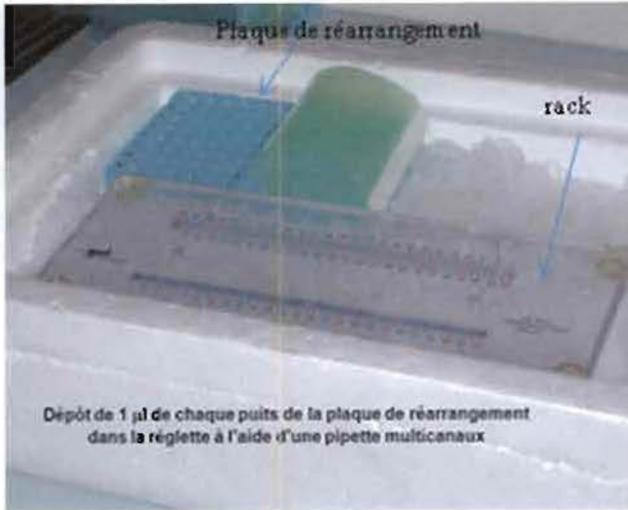


Photo 8: Un Rack

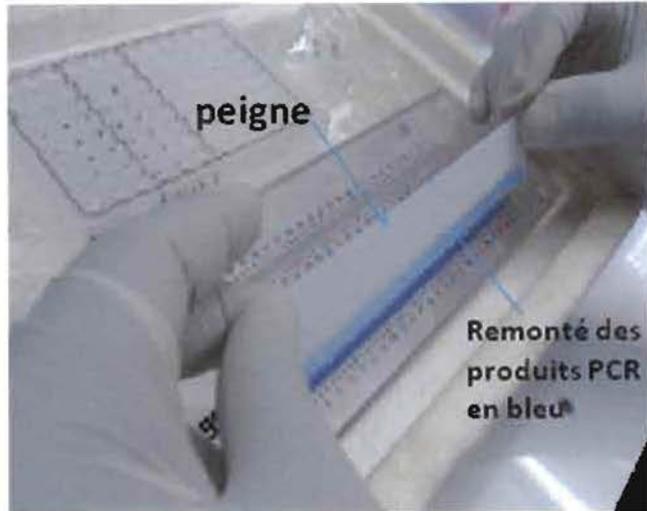


Photo 9: Aspiration par capillarité sur un peigne membrane



Photo 10 : Ordinateur connecté au séquenceur

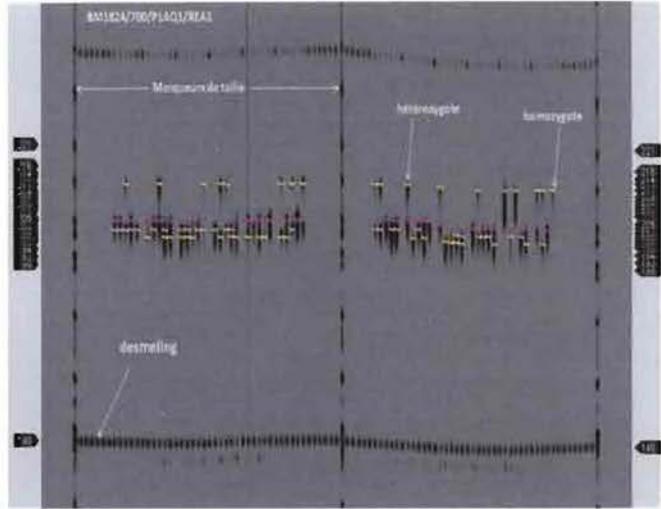


Photo 11: Image d'un gel après migration des allèles

### II.3.1.9. Analyses des profils de la migration et exportation des résultats

L'analyse des profils de migration a été effectuée grâce au logiciel SAGA<sup>GT</sup>. Il s'agit d'un programme Li-Cor qui est un outil développé pour la lecture des profils de microsatellites migrés sur le séquenceur Li-Cor chez les organismes diploïdes. Après confirmation et validation de la lecture des gels avec le programme SAGA<sup>GT</sup>, les résultats du génotypage sont exportés sous format Texte pour leur traitement.

## III. TRAITEMENT DES DONNEES DE GENOTYPAGE

La diversité génétique a été évaluée à deux niveaux :

- ✓ Variabilité génétique intra population,
- ✓ Variabilité génétique inter-populations.

### III.1. Test de conformité à l'équilibre de Hardy-Weinberg

#### Rappel sur la loi de Hardy – Weinberg (1908)

Il s'agit de la loi fondamentale sur laquelle sont basées les théories de génétique des populations. Par définition, une population théorique suit la loi de Hardy-Weinberg si elle répond aux critères ci-dessous :

- la population est panmictique, c'est-à-dire que les zygotes se forment par rencontre aléatoire des gamètes (panmixie) ;
- la population est de taille « infinie », et il n'y a donc pas de dérive génétique ;
- il n'y a ni sélection, ni mutation, ni migration, donc pas de perte ou de gain d'allèle ;
- les générations successives sont discrètes (pas de chevauchement de générations).

La loi de Hardy-Weinberg stipule que, dans une population qui suit les critères décrit ci-dessus, les fréquences alléliques  $p_i$  des différents allèles présents ne changent pas d'une génération à l'autre et la composition génotypique est de la forme  $p_i^2$  pour les homozygotes pour l'allèle  $i$  et  $2p_i(1-p_i)$  pour les hétérozygotes à cet allèle ou, pour deux allèles  $p^2$ ,  $2p(1-p)$  et  $(1-p)^2$ . On parle d'équilibre de Hardy-Weinberg..

#### III.2. Variabilité génétique intra population

L'ensemble des paramètres de la variabilité génétique intra-population ont été déterminés grâce aux logiciels GENETIX version 4.05 (BELKHIR et al., 2004) et FSTAT version 2.9.3.2. (GOUDET, 2001).

##### a. Estimation des fréquences alléliques

Soit un locus microsatellite biallélique A (codominant car on peut distinguer les hétérozygotes des homozygotes) chez un organisme diploïde avec les allèles  $A_1$  et  $A_2$ ,  $N$  individus génotypés pour ce locus. Parmi ces  $N$  individus  $N_{11}$  se sont révélés être de génotype  $A_1A_1$ ,  $N_{12}$  de génotype  $A_1A_2$  et  $N_{22}$  de génotype  $A_2A_2$ . Notez que  $N$  est nécessairement égal à  $N_{11}+N_{12}+N_{22}$ . Soient  $p_1$  et  $p_2$  les fréquences des allèles  $A_1$  et  $A_2$  respectivement dans l'échantillon de  $N$  individus. Il y a  $2N$  allèles en tout puisque nous sommes chez des diploïdes. Il y a  $2N_{11}$  et  $N_{12}$  allèles  $A_1$  chez les  $A_1A_1$  et  $A_1A_2$  et  $2N_{22}$  et  $N_{12}$  allèles  $A_2$  chez les  $A_2A_2$  et  $A_1A_2$  respectivement.

$$p_1 = \frac{2N_{11} + N_{12}}{2N} = \frac{N_{11} + \frac{1}{2}N_{12}}{N}$$

et

$$p_2 = \frac{2N_{22} + N_{12}}{2N} = \frac{N_{22} + \frac{1}{2}N_{12}}{N}$$

Pour cet exemple de système bi-allélique,  $p_1$  et  $p_2$  désignant la fréquence de chaque allèle, on a  $p_1 + p_2 = 1$ .

Ces fréquences  $p_1$  et  $p_2$  représentent également une estimation de la probabilité qu'un gamète mâle ou femelle porte l'allèle  $A_1$  ou l'allèle  $A_2$ .

#### **b. Taux de polymorphisme**

C'est la proportion des microsatellites polymorphes sur l'ensemble des microsatellites étudiés.

$P = \text{Nombre de loci polymorphes} / \text{Nombre total de loci étudiés}$ .

Un marqueur sera dit polymorphe pour un locus donné (pour un seuil de 5%), s'il a au moins deux allèles et que la fréquence de l'allèle le plus fréquent est inférieure à **0,95**.

#### **c. Nombre moyen d'allèles par locus et richesse allélique**

Le nombre moyen d'allèles par locus (et/ou par population) traduit le polymorphisme génétique d'un locus (et/ou d'une population). Il est calculé selon la formule suivante :

$$A = \frac{1}{k} \sum_k^1 n_i$$

avec  $n_i$  = nombre d'allèles au locus  $i$  et  $k$  = nombre de loci étudiés.

La richesse allélique est le nombre d'allèles présent à un locus. Ce paramètre de diversité génétique dépend énormément de la taille de l'échantillon. Par contre, il y a 2 méthodes qui permettent d'appliquer une correction sur la taille de l'échantillon : la méthode de raréfaction et la méthode d'extrapolation (EL MOUSADIK et PETIT, 1996). Dans notre étude, la richesse allélique a été déterminée grâce au logiciel FSTAT version 2.9.3.2 (GOUDET, 2001) avec la méthode de raréfaction.

#### **d. Hétérozygotie**

C'est la moyenne des fréquences des hétérozygotes observées à chacun des loci étudiés.

$$H_o = \frac{1}{N} \sum H_i$$

$N$  = nombre total de loci étudiés qu'ils soient monomorphes ou polymorphes.

$H_i$  = hétérozygotie au locus  $i$ .

#### **e. Diversité génétique locale**

Cette dernière correspond à la probabilité de tirer deux allèles différents à l'intérieur d'une sous-population. Sa valeur paramétrique est théoriquement égale à  $1 - \sum_i p_i^2$  mais est fortement biaisé dans les échantillons. Dans ce travail, nous avons utilisé l'estimateur non biaisé de la diversité génétique  $H_s$  de Nei (NEI et CHESSER, 1983).

### III.3. Variabilité inter-populations

#### ➤ *F*-statistiques

Ces paramètres ont été étudiés à trois niveaux : les individus (I), les sous-populations (S) qui sont ici les races animales définies *à priori* et la population totale (T).

Les deux paramètres de fixation ( $F_{IS}$  et  $F_{IT}$ ) et l'indice de fixation ( $F_{ST}$ ) constituent les *F*-statistiques de WRIGHT (1967) et traduisent les situations suivantes :

- $F_{IS}$  (IS : individu dans la sous-population) estime l'écart à la panmixie (croisement au hasard) dans une sous-population. Il exprime la consanguinité des individus par rapport à celle de la sous-population dont il est issu. Ses valeurs varient entre -1 à +1. Les valeurs négatives traduisent un excès d'hétérozygotes (clonalité, hétérogamie) alors que des valeurs positives traduisent des croisements consanguins. Sous l'hypothèse panmictique on attend  $F_{IS}=0$ .
- $F_{ST}$  (ST : sous-population dans la population totale) mesure la consanguinité des sous-populations par rapport à celle de la population totale. Cet indice étant directement dépendant de la subdivision il est de ce fait utilisé pour évaluer la différenciation génétique entre sous-populations. Sa valeur est toujours positive (0 à 1). En l'absence de subdivision  $F_{ST}=0$  alors que cette valeur augmente avec le degré d'isolement des sous-populations entre elles.
- Le  $F_{IT}$  mesure la consanguinité des individus relativement à celle de la population totale et résulte en fait des deux autres.

Ces paramètres ont été estimés par les estimateurs non biaisés de Weir et Cockerham (1984) à l'aide des logiciels GENETIX VERSION 4.05 (BELKHIR ET AL., 2004) et FSTAT version 2.9.3.2 (GOUDET, 2001).

La déviation par rapport à la valeur attendue 0 sous l'hypothèse nulle de ce estimateurs a été testée par des permutations (10000) des allèles entre individus pour le  $F_{IS}$  et des individus entre sous-échantillons pour la différenciation entre sous-populations. Dans le premier cas c'est l'estimateur du  $F_{IS}$  qui est directement utilisé et la valeur observée est comparée au 10000 valeurs obtenues par randomisation ( $H_0$ ) et la proportion de fois qu'une valeur aussi extrême ou plus extrême que l'observée a été obtenue sous  $H_0$  donne la *P*-value

exacte du test. Pour le test de différenciation, le principe de la procédure est la même sauf que la statistique utilisée est ici le logarithme népérien du maximum de vraisemblance (statistique  $G$ ) du tableau de contingence des fréquences alléliques qui est utilisé (GOUDET et al., 1996).

Quand le polymorphisme est trop élevé, comme c'est fréquemment le cas des microsatellites, les valeurs estimées pour  $F_{ST}$  ne reflètent plus seulement la divergence entre populations mais aussi le taux de mutation élevé (DE MEEÛS et al., 2007). On peut montrer que quel que soit le taux de mutation, l'absence de migration entre sous-populations conduit à l'équilibre à un  $F_{ST} \approx 1 - H_s$  et qu'une correction peut alors être apportée sous la forme  $F_{ST}' = F_{ST} / (1 - H_s)$  (DE MEEÛS et al., 2007).

### ➤ Etude de la structuration génétique des différentes populations par STRUCTURE

L'étude de la structuration génétique des différentes sous-populations et de la population globale a été réalisée à l'aide du logiciel 2.3.3 (PRITCHARD et al., 2000; FALUSH et al., 2007; HUBISZ et al., 2009). Le logiciel 2.3.3 estime la vraisemblance d'une structuration en sous-populations ou la vraisemblance que les individus soient originaires de plusieurs populations ancestrales mélangées, en inférant la proportion du génome de chaque animal issue de ces possibles populations ancestrales. Le nombre ( $K$ ) de populations est fixé *a priori*. Ici, nous avons testé les valeurs  $K = 2$  à  $10$  et nous avons estimé la vraisemblance de l'observation des génotypes selon  $K$ . GARNIER et al. (2004) suggèrent de choisir la valeur de  $K$  qui maximise le gain d'information, c'est-à-dire de choisir  $K$  au-delà duquel l'écart [ $\ln P(D)_K - \ln P(D)_{K-1}$ ] chute, avec  $P(D)_K$  la probabilité *a posteriori* des données pour  $K$ .

La distance génétique ( $D$ ) est la proportion d'éléments génétiques que deux populations ont en commun.  $D = 1$  si et seulement si les 2 populations n'ont pas d'éléments en communs (NEI, 1978). Ce paramètre a été estimé avec le logiciel genetix version 4.05 (BELKHIR et al., 2004).

L'Analyse Factorielle de Correspondance (AFC) qui permet la représentation simultanée des individus et des allèles a été effectuée par le logiciel GENETIX version 4.05 (BELKHIR et al., 2004).

## CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

### I. RESULTATS

#### I.1. Variabilité génétique intra population

##### I.1.1. Taux de polymorphisme

Un ensemble de 140 allèles ont été identifiés dans les 6 populations de zébus pour l'ensemble des 12 marqueurs microsatellites utilisés (Figure 5). Tous les marqueurs sont polymorphes. Le marqueur le plus polymorphe est le marqueur MM12 avec 18 allèles et le moins polymorphe est INRA063 avec 6 allèles. Le taux de polymorphisme est ainsi de 100%. Le nombre d'allèles par locus dans les différentes populations a varié de 3 pour les marqueurs INRA063 et BM1824 (zébus Peul du Burkina Faso) à 15 pour le marqueur MM12 dans les zébus Azawak du Ranch de Warkere.

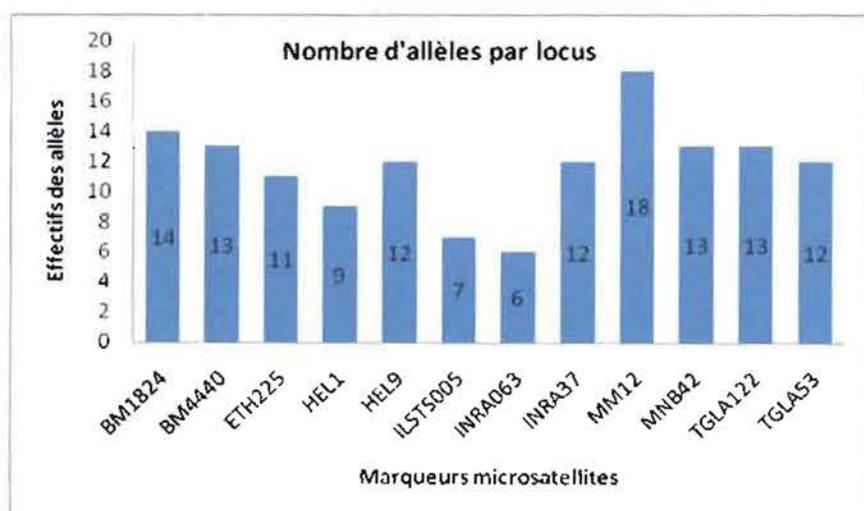
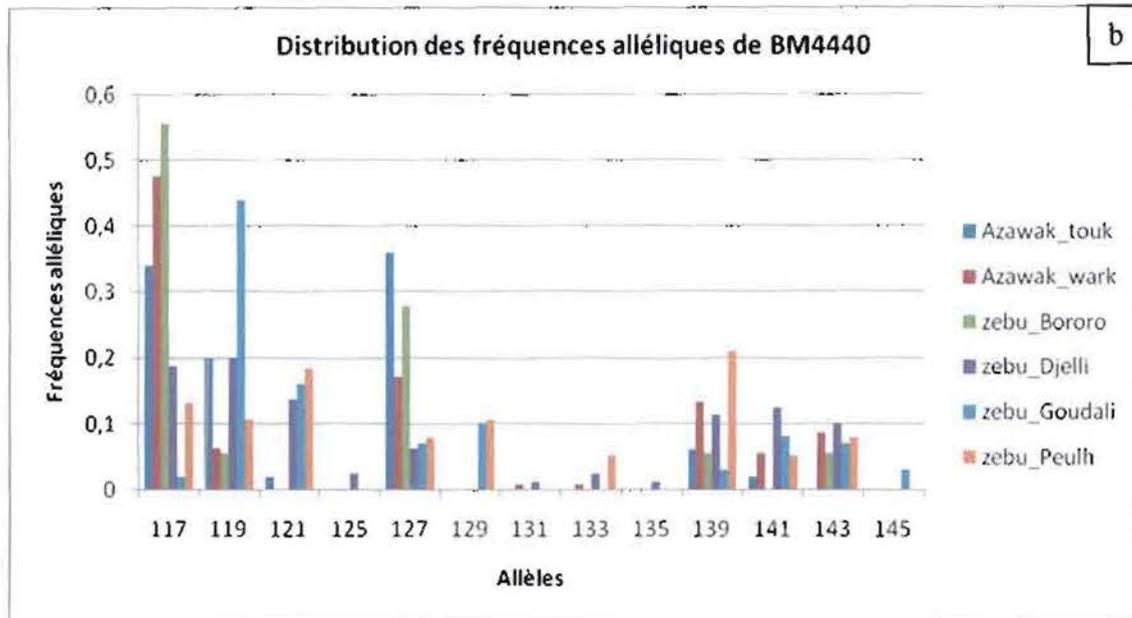
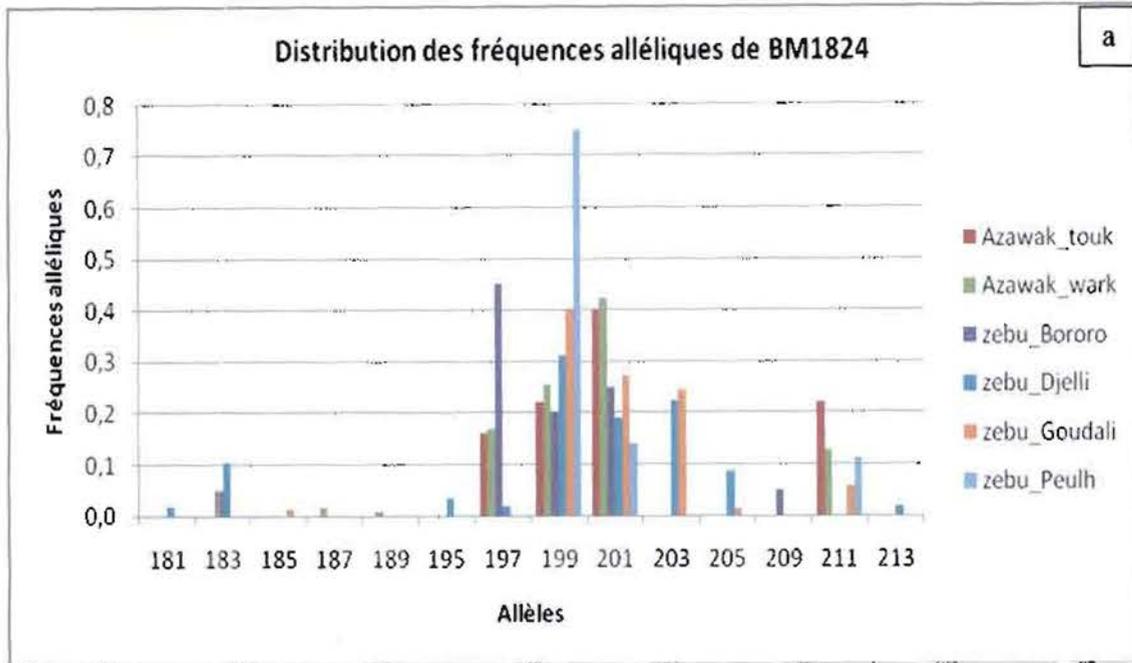


Figure 5 : Nombre total d'allèles par locus sur l'ensemble des populations

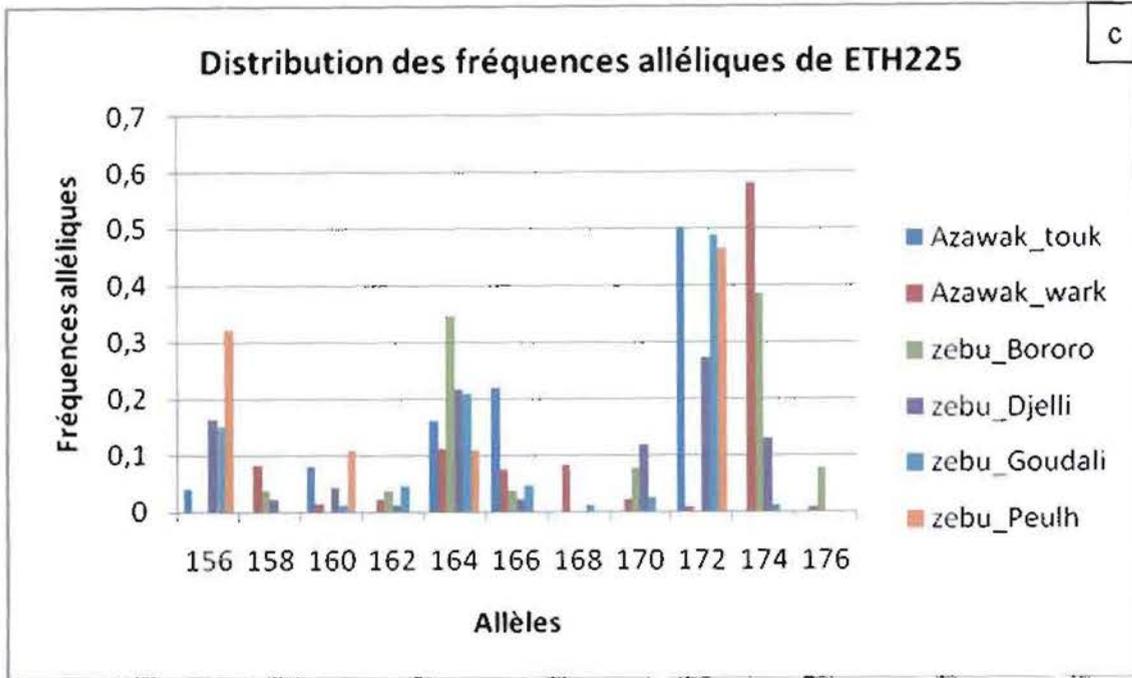
##### I.1.2. Fréquences alléliques

Sur les figures 6 a-l sont représentées la composition allélique et les distributions des fréquences alléliques observées pour chaque locus dans les six populations étudiées.

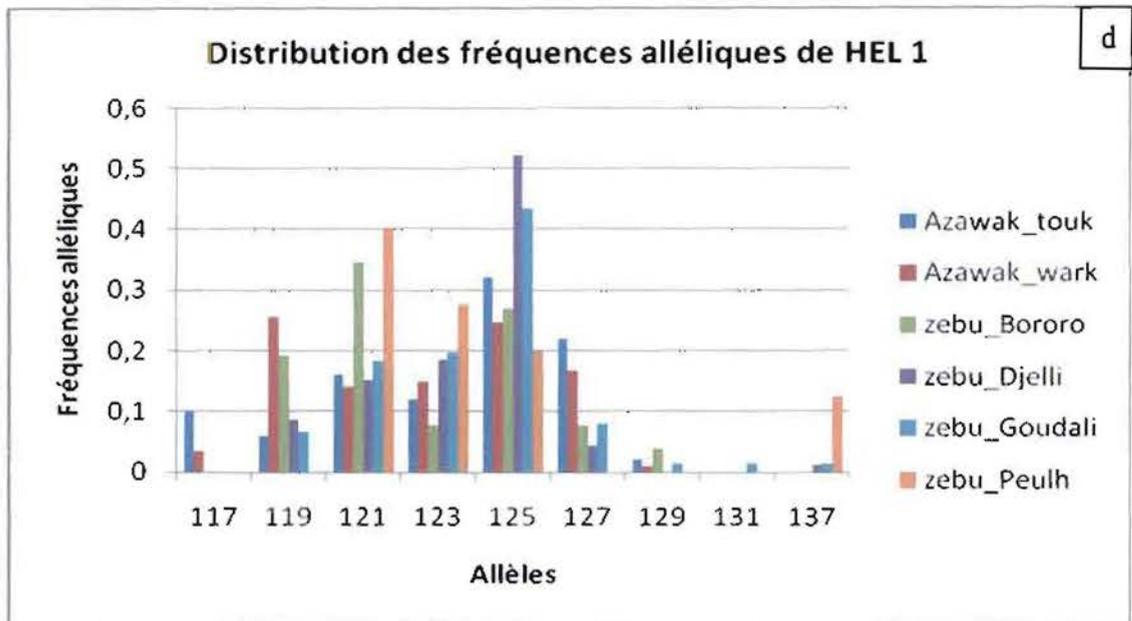


**Figure 6** : Distribution des fréquences alléliques par population aux loci BM1824 (a) et BM4440 (b). **Azawak\_wark** : Azawak du ranch de Warkéré, **Azawak\_touk** : Azawak de la station de Toukounous

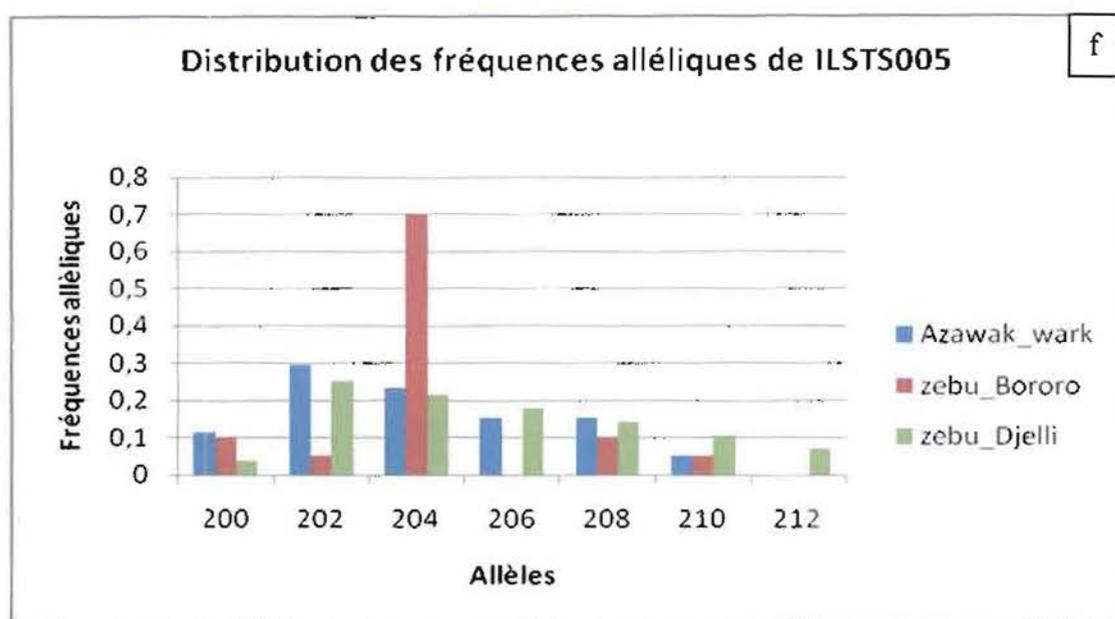
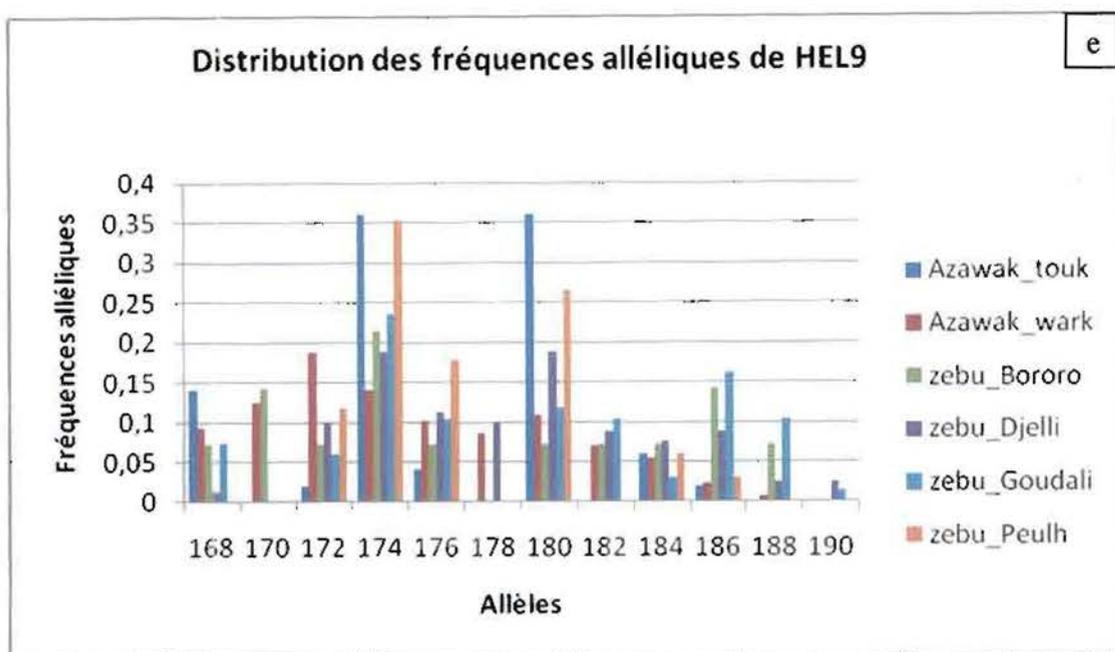
c



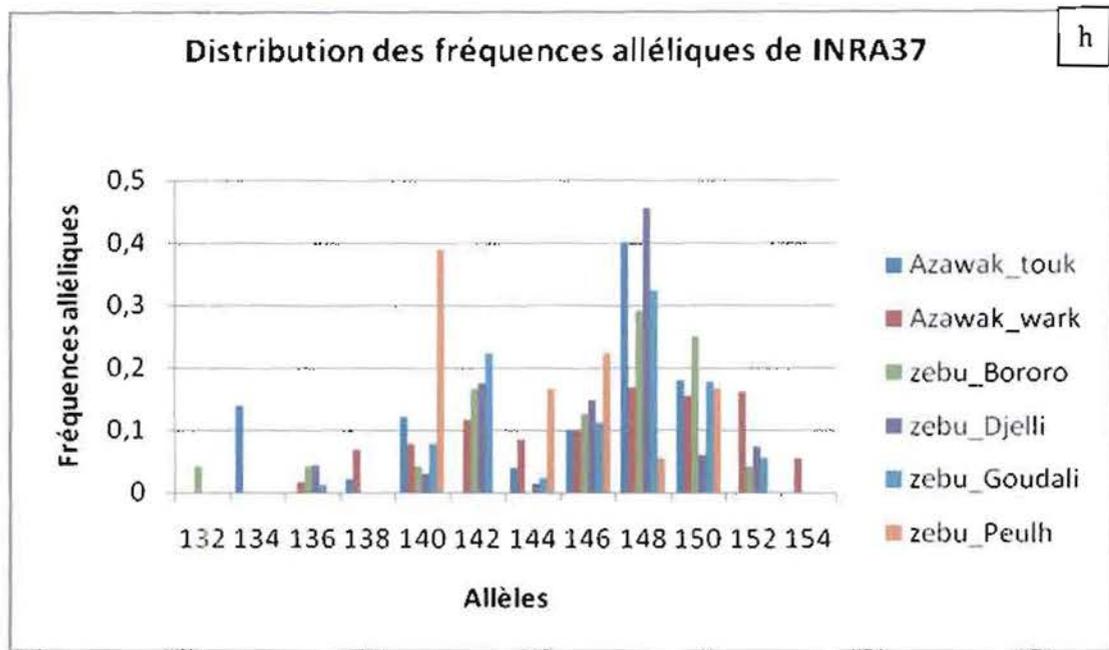
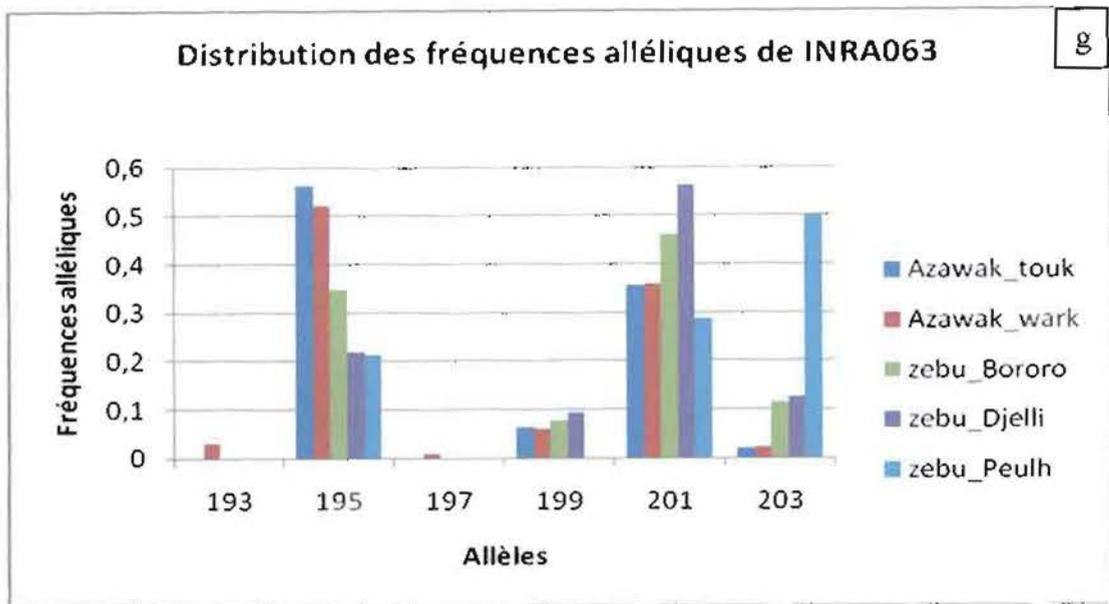
d



**Figure 6** : Distribution des fréquences alléliques par population aux loci ETH 225 (c) et HEL1 (d). **Azawak\_wark** : Azawak du ranch de Warkéré, **Azawak\_touk** : Azawak de la station de Toukounous



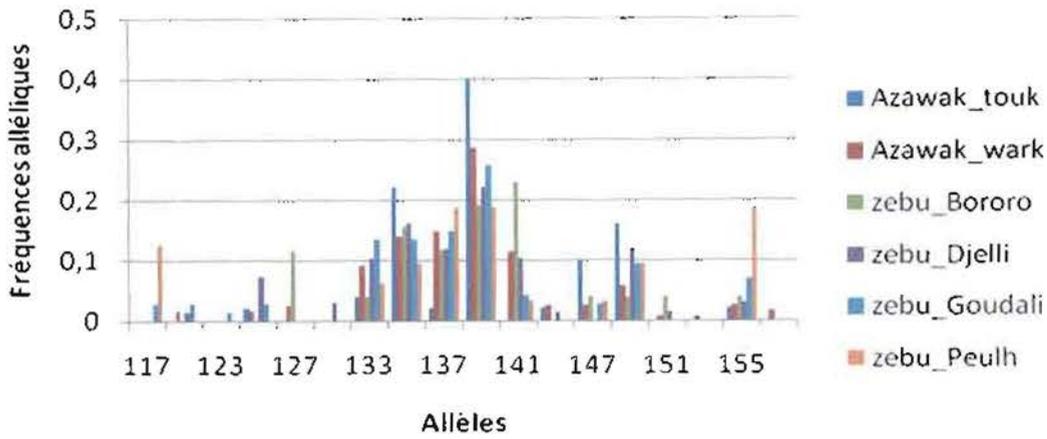
**Figure 6** : Distribution des fréquences alléliques par population aux loci HEL9 (e) et ILSTS005 (f). **Azawak\_wark** : Azawak du ranch de Warkéré, **Azawak\_touk** : Azawak de la station de Toukounous



**Figure 6** : Distribution des fréquences alléliques par population aux loci INRA063 (g) et INRA 37 (h). **Azawak\_wark** : Azawak du ranch de Warkéré, **Azawak\_touk** : Azawak de la station de Toukounous

i

Distribution des fréquences alléliques de MM12



j

Distribution des fréquences alléliques de MNB42

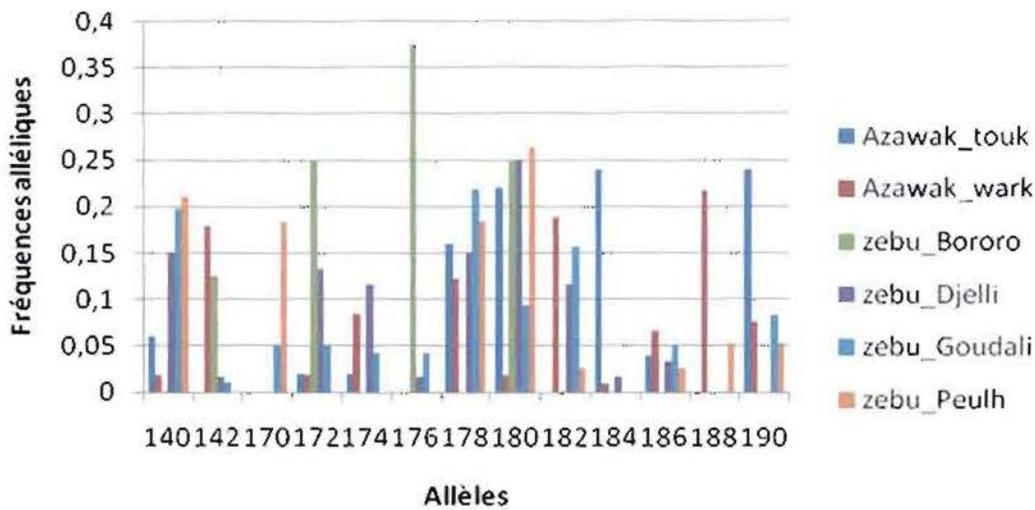
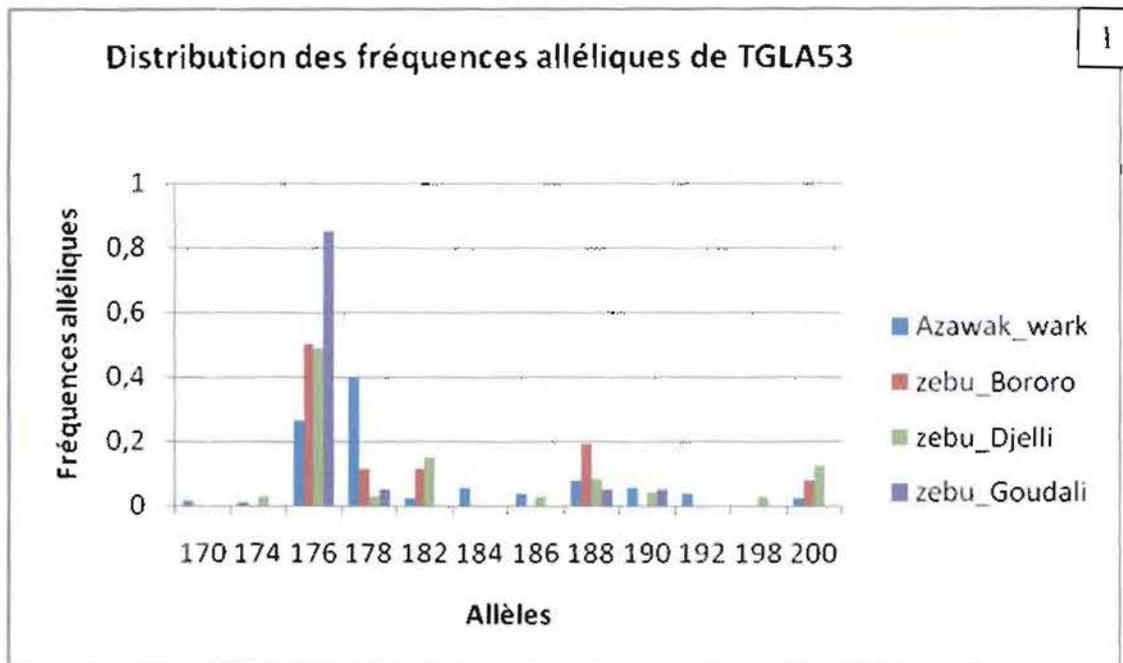
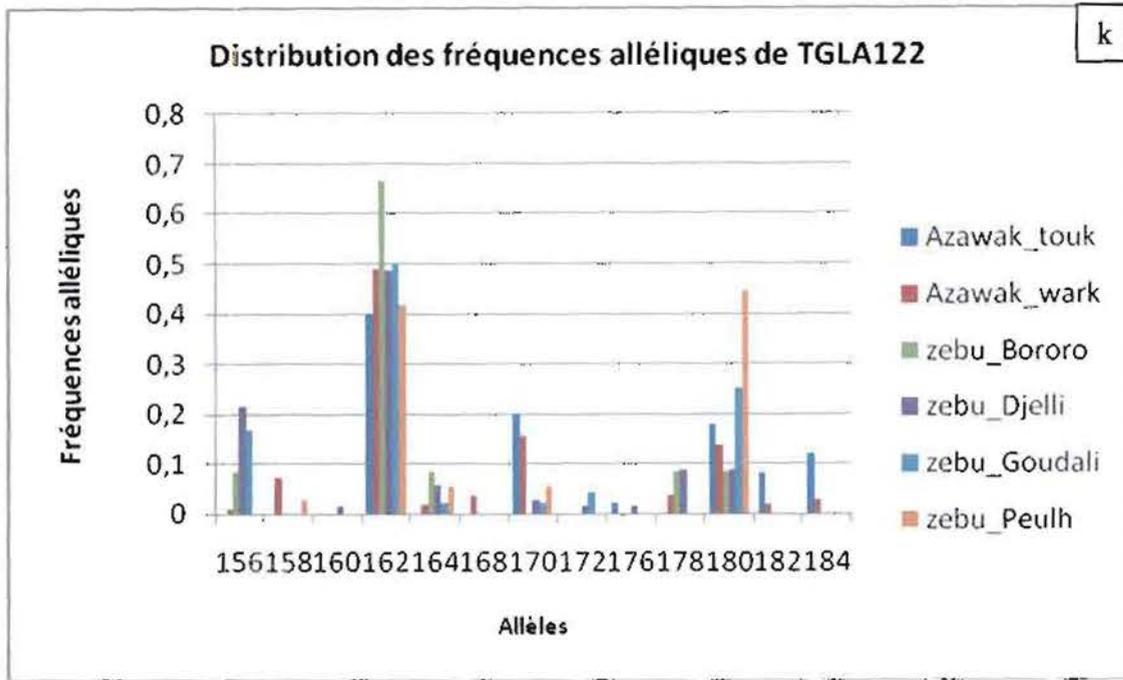


Figure 6 : Distribution des fréquences alléliques par population aux loci MM12 (i) et MNB-42 (j). Azawak\_wark : Azawak du ranch de Warkéré, Azawak\_touk : Azawak de la station de Toukounous



**Figure 6** : Distribution des fréquences alléliques par population aux loci TGLA122 (k) et TGLA53 (l). **Azawak\_wark** : Azawak du ranch de Warkéré, **Azawak\_touk** : Azawak de la station de Toukounous

### I.1.3. Nombre moyen d'allèles par locus et richesse allélique

Le tableau IX présente le nombre d'allèles par locus et par population, le nombre moyen d'allèles par locus sur l'ensemble des populations, la richesse allélique par locus et par population calculée par la méthode de raréfaction ainsi que sa valeur moyenne dans chaque population sur l'ensemble des loci.

Les nombres moyens d'allèles par locus par population sont compris entre 4,67 chez les zébus Peuls du Burkina Faso et 9,25 dans la population des Azawak de Warkéré. Le nombre moyen d'allèles pour toutes les populations est de 6,83.

La moyenne de la richesse allélique varie de 3,97 pour les zébus Peuls du Burkina et les Azawak de Toukounous à 4,66 pour les zébus Djéli.

**Tableau IX :** Nombre d'allèles par locus et par population (A), nombre moyen d'allèles par locus sur l'ensemble des populations, richesse allélique par locus et par population (RA) et richesse allélique moyenne par population sur l'ensemble des loci

Loci		Azawak_touk	Azawak_wark	zébu_Bororo	zébu_Djéli	zébu_Goudali	zébu_Peul du BF
BM1824	A	4	6	5	9	6	3
	RA	3,54	3,56	3,65	4,50	3,45	2,39
BM4440	A	6	8	5	11	9	9
	RA	3,55	3,91	3,30	5,28	4,35	5,49
ETH225	A	5	10	7	9	9	4
	RA	3,48	3,65	3,96	4,65	3,72	3,28
HEL1	A	7	7	6	6	8	4
	RA	4,47	4,37	4,17	3,49	3,91	3,49
HEL9	A	7	11	10	11	10	6
	RA	3,72	5,54	6,62	5,49	5,35	4,09
ILSTS005	A	NG	6	5	7	NG	NG
	RA	ND	ND	ND	ND	ND	ND
INRA063	A	4	6	4	4	NG	3
	RA	ND	ND	ND	ND	ND	ND
INRA37	A	7	10	8	8	8	5
	RA	4,27	5,45	4,79	4,08	4,40	3,90
MM12	A	9	15	10	12	12	9
	RA	4,19	5,20	5,50	5,44	5,31	5,39

**Tableau IX (suite):** Nombre d'allèles par locus et par population (A), nombre moyen d'allèles par locus sur l'ensemble des populations, richesse allélique par locus et par population (RA) et richesse allélique moyenne par population sur l'ensemble des loci

MNB-42	A	8	11	4	10	11	8
	RA	4,52	5,11	4,00	5,08	5,30	4,68
TGLA122	A	6	10	5	9	6	5
	RA	4,01	4,00	3,67	3,88	3,36	3,01
TGLA53	A	NG	11	5	9	4	NG
	RA	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Nombre moyen d'allèles par locus par population</b>		<b>5,25</b>	<b>9,25</b>	<b>6,17</b>	<b>8,75</b>	<b>6,92</b>	<b>4,67</b>
<b>Moyenne de la richesse allélique par population</b>		<b>3,97</b>	<b>4,53</b>	<b>4,41</b>	<b>4,66</b>	<b>4,35</b>	<b>3,97</b>

ND : Non Déterminé

NG : Non Génotypé

#### L1.4. Taux d'hétérozygotie et diversité génétique

Les taux d'hétérozygotie observée ( $H_o$ ), attendue sous panmixie ( $H_e$ ) et la diversité génétique locale ( $H_s$ ) par locus et par population ainsi que leurs moyennes par population sont présentés dans le tableau X.

Les hétérozygoties observées ( $H_o$ ) varient entre  $0,59 \pm 0,19$  (zébu Djéli) à  $0,69 \pm 0,36$  (Azawak Toukounous) tandis que la diversité génétique ( $H_s$ ) est comprise entre  $0,73 \pm 0,17$  (zébu Goudali et zébu Peul du Burkina) et  $0,79 \pm 0,09$  (zébu Djéli). Au niveau de toutes les populations, les hétérozygoties attendues sont supérieures aux hétérozygoties observées.

**Tableau X :** Valeurs des taux d'hétérozygoties par locus et par population

	Azawak_touk	Azawak_wark	zébu Bororo	zébu Djéli	zébu Goudali	zébu Peul du BF	Moyenne	Ecart type
<b>BM1824</b>								
(N)	25	59	10	29	35	18		
$H_e$	0,72	0,71	0,69	0,80	0,70	0,41	0,67	0,14
$H_s$	0,73	0,72	0,73	0,81	0,71	0,42	0,69	0,14
$H_o$	0,68	0,59	0,30	0,41	0,40	0,33	0,45	0,15
<b>BM4440</b>								
(N)	25	64	9	40	50	19		
$H_e$	0,71	0,71	0,61	0,86	0,75	0,86	0,75	0,10
$H_s$	0,73	0,72	0,64	0,87	0,76	0,89	0,77	0,10
$H_o$	0,64	0,58	0,44	0,80	0,68	0,84	0,66	0,15

**Tableau X (suite): Valeurs des taux d'hétérozygoties par population et par locus**

<b>ETH225</b>								
(N)	25	68	13	46	43	14		
$H_e$	0,67	0,63	0,72	0,82	0,69	0,66	0,70	0,07
$H_s$	0,68	0,64	0,75	0,82	0,70	0,68	0,71	0,07
$H_o$	0,76	0,66	0,69	0,72	0,56	0,57	0,66	0,08
<b>HELI</b>								
(N)	25	57	13	46	38	20		
$H_e$	0,80	0,80	0,76	0,66	0,73	0,71	0,74	0,05
$H_s$	0,81	0,81	0,79	0,67	0,74	0,73	<b>0,76</b>	<b>0,06</b>
$H_o$	0,80	0,81	0,92	0,70	0,63	0,75	<b>0,77</b>	<b>0,10</b>
<b>HEL9</b>								
(N)	25	64	7	40	34	17		
$H_e$	0,72	0,88	0,88	0,88	0,86	0,76	0,83	0,07
$H_s$	0,73	0,89	0,95	0,89	0,88	0,78	0,85	0,08
$H_o$	0,7600	0,78	0,86	0,78	0,71	0,71	0,76	0,06
<b>ILSTS005</b>								
(N)	0	66	10	14	0	0		
$H_e$	ND	0,80	0,49	0,82	ND	ND	0,70	0,19
$H_s$	ND	0,80	0,51	0,85	ND	ND	0,72	0,18
$H_o$	ND	0,73	0,40	0,72	ND	ND	<b>0,31</b>	<b>0,36</b>
<b>INRA063</b>								
(N)	24	67	13	16	0	7		
$H_e$	0,55	0,59	0,65	0,61	ND	0,62	0,61	0,04
$H_s$	0,57	0,60	0,67	0,63	ND	0,67	0,63	0,05
$H_o$	0,33	0,45	0,69	0,37	ND	0,43	0,38	0,19
<b>INRA37</b>								
(N)	25	65	12	34	45	18		
$H_e$	0,76	0,88	0,80	0,73	0,79	0,74	0,78	0,05
$H_s$	0,78	0,88	0,84	0,74	0,80	0,76	0,80	0,05
$H_o$	0,60	0,74	0,58	0,29	0,78	0,67	0,61	0,17
<b>MM12</b>								
(N)	25	61	13	34	37	16		
$H_e$	0,75	0,85	0,85	0,87	0,86	0,86	0,84	0,04
$H_s$	0,77	0,86	0,89	0,88	0,87	0,88	<b>0,86</b>	<b>0,05</b>
$H_{oS}$	0,84	0,64	0,92	0,82	0,70	0,75	<b>0,78</b>	<b>0,10</b>

**Tableau X (suite): Valeurs des taux d'hétérozygoties par locus et par population**

<b>MNB-42</b>								
(N)	25	53	4	30	48	19		
$H_e$	0,81	0,85	0,72	0,85	0,86	0,81	0,82	0,05
$H_s$	0,82	0,86	0,82	0,86	0,87	0,83	0,84	0,02
$H_o$	0,76	0,68	0,25	0,40	0,75	0,63	0,58	0,21
<b>TGLA122</b>								
(N)	25	55	6	35	24	18		
$H_e$	0,75	0,71	0,53	0,70	0,66	0,62	0,66	0,08
$H_s$	0,76	0,71	0,58	0,71	0,67	0,64	0,68	0,07
$H_o$	0,76	0,69	0,67	0,57	0,42	0,61	0,62	0,12
<b>TGLA53</b>								
(N)	0	64	13	36	10	0		
$H_e$	ND	0,75	0,68	0,71	0,27	ND	0,60	0,23
$H_s$	ND	0,76	0,71	0,72	0,28	ND	0,62	0,22
$H_o$	ND	0,48	0,46	0,44	0,30	ND	0,28	0,23
$H_e$	$0,72 \pm 0,24$	$0,76 \pm 0,10$	$0,70 \pm 0,12$	$0,78 \pm 0,09$	$0,72 \pm 0,29$	$0,71 \pm 0,27$		
moyenne								
$H_s$	$0,74 \pm 0,07$	$0,77 \pm 0,10$	$0,74 \pm 0,13$	$0,79 \pm 0,09$	$0,73 \pm 0,17$	$0,73 \pm 0,14$		
moyenne								
$H_o$	$0,69 \pm 0,36$	$0,65 \pm 0,11$	$0,60 \pm 0,23$	$0,59 \pm 0,19$	$0,59 \pm 0,33$	$0,63 \pm 0,33$		
moyenne								

### I.1.5 Les valeurs de $F_{IS}$

Les valeurs du  $F_{IS}$  calculées sur l'ensemble des loci et par population sont significativement supérieures à zéro dans toutes les populations ( $p < 0,001$ ) sauf dans la population des Azawak de Toukounous ( $p = 0,2$ ). Ces valeurs du  $F_{IS}$  sont comprises entre 0,03 (zébus Azawak de Toukounous) et 0,25 (zébus Djéli) (Tableau XI).

**Tableau XI : Valeurs des  $F_{IS}$  par locus et par population**

Locus	Azawak_ touk	Azawak_ wark	Zébu Bororo	Zébu Djéli	Zébu Goudali	Zébu Peul du BF
BM1824	0,07	0,17	0,60	0,49	0,44	0,21
BM4440	0,12	0,20	0,32	0,09	0,11	0,05
ETH225	-0,12	-0,04	0,07	0,13	0,20	0,17
HEL1	0,01	0,01	-0,18	-0,04	0,15	-0,03
HEL9	-0,04	0,12	0,10	0,13	0,20	0,10
INRA37	0,23	0,17	0,31	0,61	0,03	0,13
MM12	-0,10	0,25	-0,04	0,07	0,19	0,16
MNB-42	0,08	0,21	0,73	0,54	0,14	0,25
TGLA12	0,00	0,03	-0,18	0,20	0,38	0,05
Sur l'ensemble des loci	0,03	0,13	0,20	0,25	0,20	0,12
P-value	0,2	0,0009	0,0009	0,0009	0,0009	0,0009

## L2. Variabilité génétique inter-populations

### L2.1. $F_{ST}$

Les valeurs du  $F_{ST}'$  (corrigée pour l'excès de polymorphisme) entre paires de populations sont consignées dans le tableau XII.

La valeur du  $F_{ST}'$  la plus faible a été obtenue entre le zébu Djéli et le zébu Goudali ( $F_{ST}' = 0,08$ ) tandis que la valeur de  $F_{ST}$  la plus élevée a été obtenue entre le zébu Peul du Burkina Faso et le zébu Azawak de Warkéré ( $F_{ST}' = 0,48$ ).

**Tableau XII : Valeurs des  $F_{ST}'$  entre les paires de populations**

	zébu Azawak_ touk	zébu Azawak_ wark	zébu Bororo	zébu Djéli	zébu Goudali	zébu Peul du BF
zébu Azawak_ touk		0,29	0,27	0,26	0,23	0,38
zébu Azawak_ wark			0,16	0,32	0,44	0,48
zébu Bororo				0,17	0,30	0,45
zébu Djéli					0,08	0,29
zébu Goudali						0,19
zébu Peul du BF						

### I.2.3. Études multivariée et Bayésienne de la structuration génétique des populations

#### I.2.3.1. Analyse factorielle des correspondances (AFC)

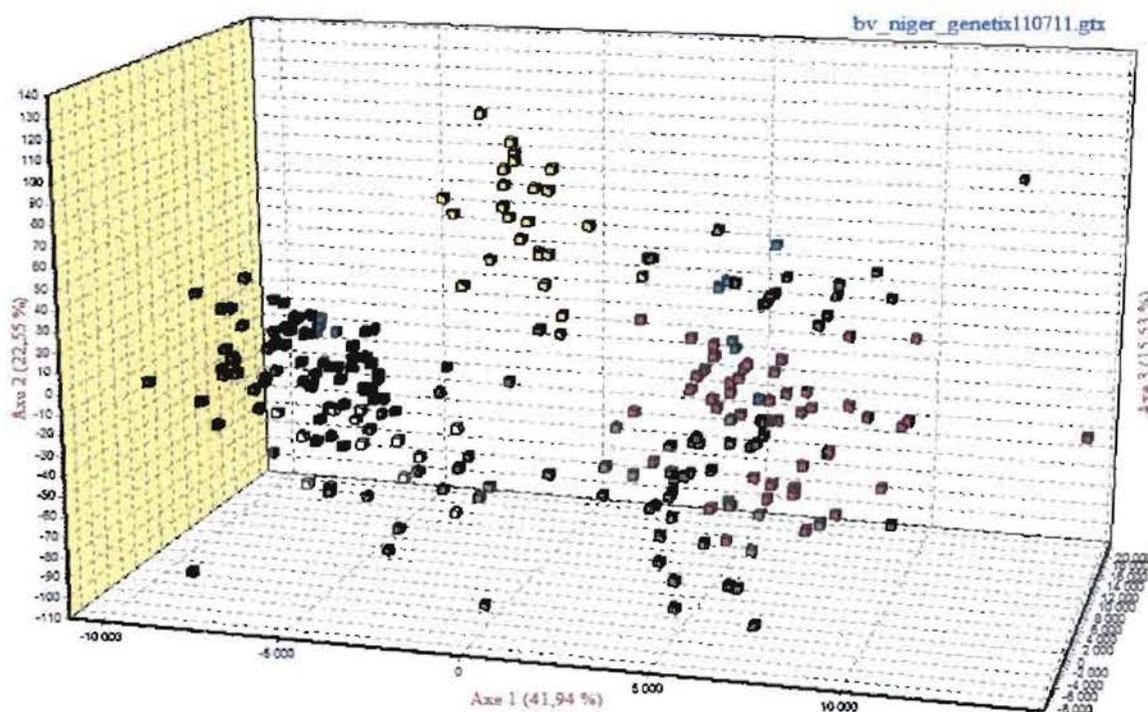
La contribution des trois axes factoriels à l'inertie totale est présentée dans le tableau XIII.

**Tableau XIII :** Contribution des trois axes factoriels à l'inertie totale en AFC

Axes factoriels	Pourcentage d'inertie (%)	Pourcentages cumulés (%)
1	41,94	41,94
2	22,55	64,49
3	15,53	80,02

La contribution totale des trois axes factoriels à l'inertie est de 80,02%, c'est à dire que les trois axes rendent compte de 80,02 % de la dispersion du nuage des points.

La figure 7 représente l'AFC réalisée sur l'ensemble des populations. Cette analyse a permis de répartir les populations étudiées en trois grands groupes : le premier groupe composé de Goudali, Djéli et Zébu Peul du Burkina Faso, le deuxième groupe composé des zébus Bororo et Azawak de Warkéré tandis les zébus Azawak de la station de Toukounous semblent constituer un troisième groupe.



**Figure 7 :** Analyse factorielle de correspondance AFC

Azawak de Toukounous	(jaune)	■
Azawak de Warkéré	(bleu)	■
Zébu Bororo	(blanc)	■
Zébu Djéli	(gris)	■
Zébu Goudali	(violet)	■
Zébu Peul du BF	(vert)	■

### I.2.3.2 Structuration génétique par la méthode bayésienne

La méthode Bayésienne de structuration génétique des populations implémentée dans STRUCTURE V2.3.3 a permis de regrouper les différentes populations en K catégories. La valeur de K la plus vraisemblable qui permet de regrouper les 6 populations étudiées est égale à 3 (Figure 8). La figure 9 montre les regroupements des populations en fonction des valeurs de K.

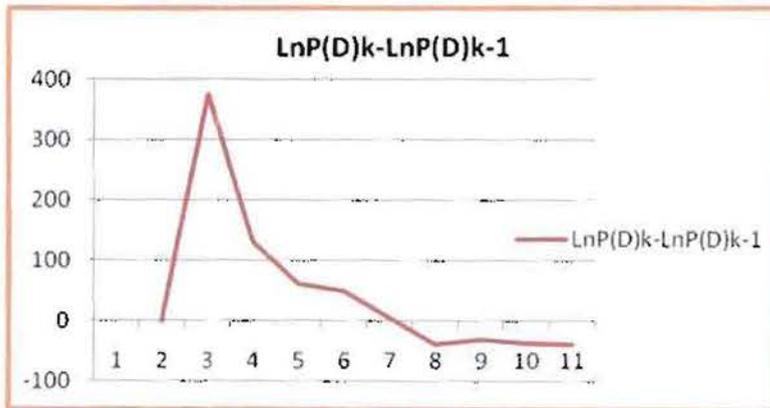


Figure 8 : Variations des différentes valeurs de K

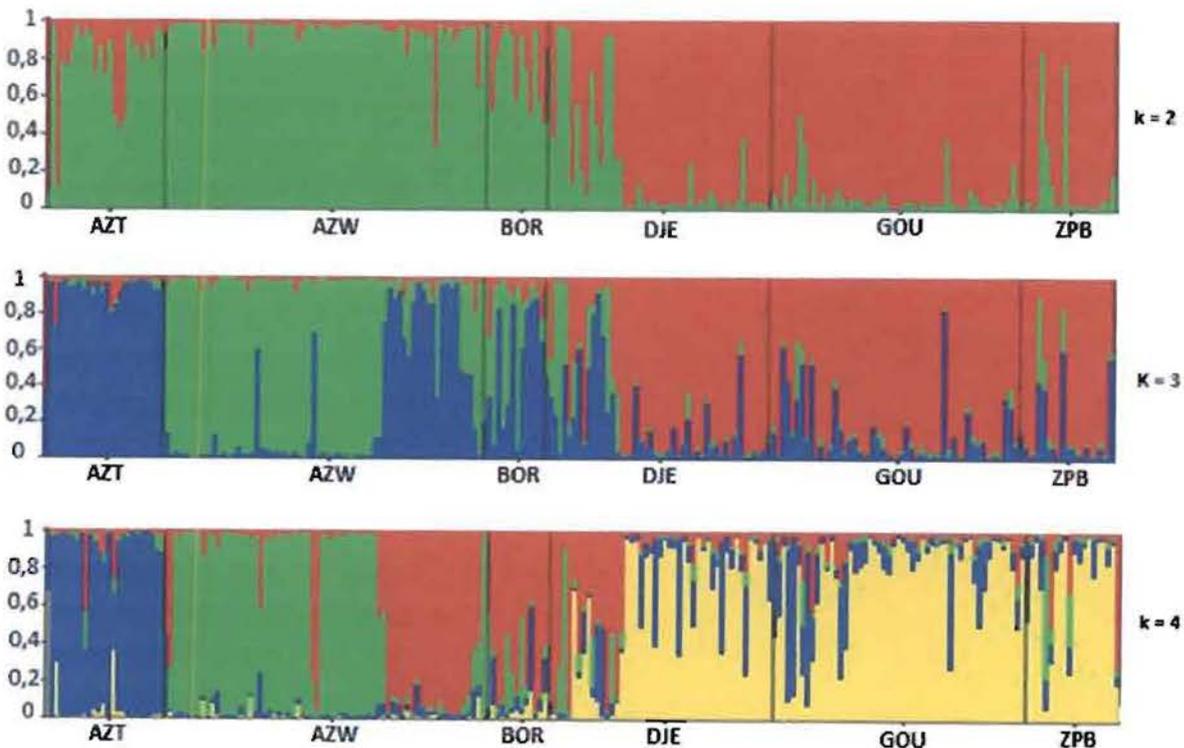


Figure 9 : Regroupement génétique des 6 populations par la méthode Bayésienne

AZT : Azawak de Toukounous, AZW : Azawak de Warkéré, BOR : zébu Bororo, DJE : zébu Djéli, GOU : zébu Goudali, ZPB : zébu Peul du Burkina Faso

## II. DISCUSSION

Cette étude du polymorphisme de douze marqueurs microsatellites dans quatre populations de zébu du Niger (zébu Azawak, zébu Bororo, zébu Djéli et le zébu Goudali) et une population de zébu du Burkina Faso est la toute première. La seule étude génétique ayant impliqué le zébu Azawak a été celle de FREEMAN *et al.* (2004) avec des échantillons provenant du Burkina Faso. Le zébu Djéli du Niger n'avait encore fait l'objet d'aucune étude génétique. Le fait que l'échantillonnage n'ait pas couvert tout le territoire nigérien pourrait être considéré comme une limite de notre étude. En effet, les prélèvements ont été réalisés dans le Ranch de Warkéré sur des animaux provenant de différents villages de la région de Tillabéry. Cette région constitue le berceau du zébu Azawak qui est la principale race de zébu du Niger et abrite la Station Expérimentale de Toukounous dont l'objectif est la préservation de ce zébu considéré comme un véritable patrimoine du Niger. Malgré cette limite, les résultats obtenus dans nos travaux peuvent être considérés comme pionniers et susciter des études complémentaires.

Nos résultats montrent qu'il y a forte variabilité génétique dans toutes les populations étudiées. Cette forte variabilité se traduit par un taux de polymorphisme des marqueurs de 100%, une importante diversité allélique au niveau des microsatellites étudiés et une diversité génétique importante.

Nos résultats indiquent une forte variabilité génétique dans les populations de zébus et cela avait également été établie dans diverses races de zébus : les zébus Azawak du Burkina Faso, les zébus Bororo, Sokoto Goudali et le zébu White Fulani du Nigeria, (FREEMAN *et al.*, 2004; IBEAGHA-AWEMU E.M. *et al.*, 2004), les zébus Peul du Burkina Faso (FREEMAN *et al.*, 2004; THEVENON *et al.*, 2007; DAYO *et al.*, 2009).

THEVENON *et al.* (2007) avaient associé la diversité génétique importante dans les populations de zébus d'Afrique de l'Ouest à une grande taille efficace. En effet, l'élevage des zébus se fait selon un mode extensif et notamment à travers le nomadisme ou la transhumance. Ce mode d'élevage, associé à une absence de programme de sélection intensive des individus sur les performances, expliquerait les fortes variabilités génétiques des zébus et même par rapport aux taurins ouest-africains qui eux sont souvent élevés en petits

effectifs et sont soumis à une sélection naturelle notamment sous la pression trypanosomienne (SOUVENIR ZAFINDRAJAONA et al., 1999; FREEMAN et al., 2004; DAYO et al., 2009).

Les valeurs des  $F_{IS}$  significativement supérieures à zéro observées dans les populations étudiées (exception faite aux zébus Azawak de Toukounous) traduisent un déficit en hétérozygotes et donc un écart à l'équilibre de Hardy-Weinberg. Ces déficits en hétérozygotes peuvent s'expliquer soit par des facteurs techniques (présence d'allèles nuls) et/ou par la présence dans l'échantillonnage d'individus génétiquement différenciés (effet Wahlund) comme semble le suggérer l'approche Byésienne. Toutes ces raisons pourraient justifier le déficit en hétérozygotie observé dans les différentes populations étudiées notamment la population des zébus Azawak du Ranch de Warkéré. Dans ce Ranch, quelques inséminations artificielles ont été réalisées sur des vaches sans que nous n'ayons une information précise disponible sur l'origine des semences. L'apport d'individus externes erratiques n'étant pas à exclure et qui permettrait d'expliquer l'extrême hétérogénéité observable à Warkéré, ainsi que dans une moindre mesure chez les zébus Peuls dit Djéli. Il semble d'ailleurs qu'en ce qui concerne la distinction entre les différents types de zébus peuls celle-ci ne soit nullement corroborée par les marqueurs microsatellites. Par ailleurs, l'analyse Bayésienne semble clairement indiquer que, mis à part à Toukounous les troupeaux sont hétérogènes et comportent une proportion parfois importante de "races" exogènes.

L'équilibre de Hardy-Weinberg observé dans la population des Azawak de Toukounous peut se justifier par le mode de gestion des troupeaux plus maîtrisé par rapport aux autres populations (système vraiment isolé). A la station de Toukounous, les individus rencontrés ne sont que des Azawak d'un phénotype particulier (couleur de la robe fauve uniforme, une couleur noire autour des yeux et des extrémités) et aucun reproducteur autre que ce phénotype n'est introduit dans la population. Ceci pourrait expliquer le fait que cette population forme un cluster homogène en AFC et STRUCTURE (Figures 7 et 9).

Nos résultats semblent confirmer le fait que le zébu Goudali soit considéré comme un zébu Peul. En effet, le zébu Goudali, le zébu Djéli (zébu Peul du Niger (MARICHATOU et al., 2005)) et le zébu Peul du Burkina Faso forment un groupe unique et peuvent être considérés comme le grand groupe des zébus Peuls. Le zébu Goudali est d'ailleurs souvent considéré comme un zébu Peul par la FAO (1995).

Une question se pose alors à propos des zébus Azawak du Ranch Warkéré. La conduite et la gestion des troupeaux ne sont pas clairement définies dans cette étude. Des individus Azawak de Warkéré pourraient provenir des villages de Toukounous (où il n'y a pas de gestion particulière des troupeaux) et non de la station expérimentale de Toukounous contrairement à ce que déclarent les gestionnaires du Ranch. Il est probable qu'une meilleure connaissance de la gestion des troupeaux permettrait de mieux interpréter les  $F_{IS}$  parfois très importants observés et vraisemblablement issus pour une grande part à la présence de génotypes "exotiques" dans la plupart des troupeaux de notre étude.

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'utilisation du polymorphisme des marqueurs microsatellites pour étudier la diversité génétique des zébus du Niger nous a permis de montrer qu'il y a une forte variabilité génétique dans les populations de zébus du Niger et une différenciation génétique faible à modérée entre les populations étudiées. Les analyses sur la structuration génétique ont permis de regrouper les populations étudiées en 3 clusters à savoir :

- Les Azawak de Toukounous ;
- Le groupe composé des Azawak de Warkéré et des zébus Bororo ;
- Et le groupe des zébus Djéli, Goudali et des zébus Peuls du Burkina Faso.

Nos résultats offrent une première estimation de la diversité génétique des zébus du Niger qui n'ont encore fait l'objet d'aucune étude génétique. Ces résultats présentés contribuent à la caractérisation des zébus du Niger et représentent autant d'acquis pour susciter la mise en œuvre de programmes de préservation des races bovines au Niger.

Cette étude devrait être élargie à l'ensemble du territoire nigérien en intégrant les taurins Kouri qui constituent la seule race taurine actuellement rencontrée au Niger et dans le sahel. L'amélioration génétique des ressources génétiques animales, qui nécessite la connaissance de ces ressources génétiques animales, est un des moyens efficaces pour la meilleure connaissance de la biologie et des performances intrinsèques de ces races. La diversité biologique enregistrée représente une richesse du patrimoine génétique qu'il convient de préserver pour éviter leur déperdition. La création de stations spécifiques à ces races

représente une solution pour conserver ce patrimoine génétique et le valoriser au profit des populations actuelles et des générations à venir.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABDOU M.M., 2009. Synchronisation des chaleurs et insémination en zone périurbain de Niamey. Mémoire de fin d'études : Ingénieur des Techniques Agricoles. Université Abdou Moumouni, Niamey-Niger, 52 p.

ARMSTRONG E., POSTIGLIONI A., MARTINEZ A., RINCON G. et VEGA-PLA J.L., 2006. Microsatellite analysis of a sample of Uruguayan Creole bulls (*Bos taurus*). *Genetics and Molecular Biology* 29, 267-272.

ASHTON G.C., 1964. Serum albumin polymorphism in cattle. *Genetics* 50, 1421-1426.

BADO A.D., 1984. Considérations générales sur la cytogénétique médicale humaine et vétérinaire. Thèse : Médecine Vétérinaire. Dakar, 153 p.

BALLOUX F. et LUGON-MOULIN N., 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology* 11, 155-165.

BELEMSAGA D.M.A., 2000. Contribution à l'analyse d'échantillons biologiques par des méthodes physico-chimiques et nucléaires. Thèse : Biologie nucléaire. Université Cheik Anta Diop, Dakar, 149 p.

BELKHIR K., BORSA P., CHIKHI L., RAUFASTE N. et BONHOMME F., 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France). Available from <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.htm>.

BOICHARD D., LE ROY P., LEVÉZIEL H. et ELSÉN J.M., 1998. Utilisation des marqueurs moléculaires en génétique animale. *INRA Productions Animales* 11, 67-80.

BOLY H., SOME S.S., KABRE A., SAWADOGO L. et LEROY P., 2000. Performance laitière du zébu Azawak en zone soudano sahéenne (Station de Loumbila au Burkina Faso). *Annales de l'Université de Ouagadougou* 8, 127-139.

BOULANGER F. et GROSCLAUD M.-F., 1984. Polymorphisme des caséines  $\alpha$ S1 et  $\alpha$ S2 de la chèvre (*Caprin hircus*). *Genetics Selection Evolution* 16, 157-176.

BOUREIMA H., 2005. Influence de la saison de saillie sur les performances de reproduction et de production laitière du zébu Azawak au Niger.

BOURZAT D., SOUVENIR ZAFINDRAJONA P., LAUVERGNE J.J. et ZEUEH V., 1993. Comparaison morphobiométrique des chèvres au Nord Cameroun et au Tchad. *Revue de Médecine Vétérinaire des Pays tropicaux* 46, 667-674.

BRAEND M. et EFREMOV G., 1965. Polymorphism of cattle serum albumin. *Nordisk Veterinaer Medicin* 17, 585-588.

CRIBU E.P., MEYER C., YESSO P., DURAND V. et POPESCU C.P., 1991. Description de la translocation robertsonienne 1/29 chez les bovins trypanotolérants et les zébus de la Côte d'Ivoire. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays tropicaux* 44, 207-210.

CSINK A.K. et HENIKOFF S., 1998. Something from nothing : the evolution and utility of satellites repeats. *Trends in Genetics* 14, 200-204.

DAYO G.K., THEVENON S., BERTHIER D., MOAZAMI-GOUDARZI K., DENIS C., CUNY G., EGGEN A. et GAUTIER M., 2009. Detection of selection signatures within candidate regions underlying trypan tolerance in outbred cattle populations. *Molecular Ecology* 18, 1801-1813.

DE MEEÛS T., McCOY K.D., PRUGNOLLE F., CHEVILLON C., DURAND P., HURTREZ-BOUSSES S. et RENAUD F., 2007. Population genetics and molecular epidemiology or how to "débusquer la bête". *Infection, Genetics and Evolution* 7, 308-332.

EL MOUSADIK A. et PETIT R.J., 1996. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree (*Argania spinosa* L. *Skeels*) endemic of Morocco. *Theoretical and Applied Genetics* 92, 832-839.

ELLEGREN H., 2000. Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics* 16, 551-558.

ELLEGREN H., 2004. Microsatellites: Simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics* 5, 435-445.

FALUSH D., STEPHENS M. et PRITCHARD J.K., 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes* 7, 574-578.

FAO, 1995. Conservation de la diversité des ressources génétiques animales dans les pays d'Afrique francophone sub-saharienne, Rome.

FAO., 2007. Etat des Ressources Génétiques Animales dans le Monde, 103 p.

FAO., 2008. L'état de l'art de la gestion des ressources zoogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture dans le monde. Barbara Risschowsky et Daffydd Pilling, Rome.

FREEMAN A.R., MEGHEN C.M., Mac HUGH D.E., LOFTUS T., ACHUKWI M.D., BADO A., SAUVEROCHE B. et BRADLEY D.G., 2004. Admixture and diversity in west African cattle populations. *Molecular Ecology* 13, 3477-3487.

FRERE J.-M. et GERDAY C., 1981. Les méthodes de purification et d'analyse des protéines. Masson, Paris, 128 p.

GANDAH M.S., 1989. Etude comparative de la production laitière des races bovines du Niger. Mémoire de fin d'études I.SN-I.D.R. Université de Ouagadougou Burkina Faso, 143 p.

GARNIER S., ALIBERT P., AUDIOT P., PRIEUR B. et RASPLUS J.Y., 2004. Isolation by distance and sharp discontinuities in gene frequencies : implications for the phylogeography of an alpine insect species, *carabus solieri*. *Molecular Ecology* 13, 1883-1897.

GELLIN, 2000. La cartographie comparée des génomes des vertébrés. INRA Productions Animales Numéro hors série "Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales", 95-102.

GOUDET J., RAYMOND M., DE MEEÛS T. et ROUSSETR F., 1996. Testing differentiation in diploid populations. *Genetics* 144, 1933-1940.

GOUDET J., 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.

GREIDER C.W., 1996. Telomere length regulation. *Annual Review of Biochemistry* 65, 337-365.

GROSCLAUDE F., 1974. Les groupes sanguins des animaux C.R. In: 1er congrès mondial de génétique appliquée à l'élevage animal, Madrid.

GROSCLAUDE F., 1988. Le polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines. Relations avec la quantité, la composition et les aptitudes fromagères du lait. INRA Productions Animales 1, 5-7.

GROSCLAUDE F., MERCIER J.C., VAIMAN M., LEVÉZIEL H. et GELLIN J., 1996. La génétique moléculaire des espèces d'élevages : des groupes sanguins à la cartographie du génome. INRA Productions Animales Hors séries, 57-69.

HARRIS H., 1966. Enzyme polymorphisms in man. *Proceedings of the Royal Society* 1964, 298-310.

HUBISZ M., FALUSH D., STEPHENS M. et PRITCHARD J., 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, In Press.

IBEAGHA-AWEMU E.M., JANN O.C., WEIMANN C. et ERHARDT G., 2004. Genetic diversity, introgression and relationship among West/Central African breeds. *Genetics Selection Evolution* 36, 673-690.

IBRAHIMA Z., 1986. L'élevage des bovins, ovins, caprins du Niger : Etude ethnologique. Thèse de médecine vétérinaire. Université Cheikh Anta Diop, Dakar, 111 p.

IDI A. et IDE O.G., 2009. Revue du secteur avicole : Division de la production et de la santé animale de la FAO. Rome, 61 p.

INRAP et DAUVISIS M.-C., 1991. Des titres et des nombres en quête de valeurs : de la docimologie à l'évaluation ; communication au colloque de l'AFIRSE [Association francophone internationale de recherche scientifique en éducation] : les évaluations (Carcassonne, Dijon [FRA] : INRAP), p. 32.

JARMAN A.P. et WELLS R.A., 1989. Hypervariable minisatellites : recombinaisons or innocent bystanders? Trends in Genetics 5, 367-371.

KARLIN S. et BURGE C., 1995. Dinucleotide relative abundance extremes : a genomic signature. Trends in Genetics 11, 283-290.

KIEFFER M.N. et CARTWRIGHT T.C., 1968. Sex chromosome polymorphism in domestic cattle Journal of heredity 59, 35-36.

LEWONTIN R.C. et HUBBY J.L., 1966. A molecular approach to the study of genetic heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. Genetics 54, 595-609.

MARICHATOU H., KORE H., MOTCHO H.K. et VIAS G., 2005. Synthèse bibliographique sur les filières laitières au Niger. Documents de travail n°4, 38 p.

MDA et MRA, 2007. Recensement général de l'agriculture et du cheptel 2005-2007 : résultats définitifs, Production Animale. Niamey, République du Niger, 52 p.

MEYER E.H.H., HARRIS E.J., MAACZNSKI I. et WEIERMANS S.J.E., 1980. Preliminary results on Y chromosome dimorphism in South Africa cattle breeds. In: Proceeding 7th African. pp. 2-8.

MIRHOSEUNIE S.-Z., FARHAD VAHIDIE S.-M. et GHAREHYAZIE B., 2005. Survey of efficiency of six microsatellite loci in Iranian indigenous cattle and buffalo populations. IRANIAN JOURNAL of BIOTECHNOLOGY 3, 41-47.

MISSOHOU A., NGUYEN T.C., SOW R. et GUEYE A., 1999. Blood Polymorphism in West African Breeds of Sheep. Tropical Animal and Production 31, 175-179.

MOAZAMI-GOUDARZI K., BELEMSAGA D.M.A., CERIOTTI G., LALOE D., FAGBOHOUM F., KOUAGOU N.T., SIDIBE I., CODJIA V., CRIMELLA M.C., GROSCLAUD F. et TOURE S., 2001. Caractérisation de la race bovine Somba à l'aide de marqueurs moléculaires. Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays tropicaux 54, 129-138.

MOUCHIROUD D., D'ONOFRIO G., AÏSSANI B., MACAYA G., GAUTIER C. et BERNADI G., 1991. The distribution of genes in the human genome. *Genetics* 100, 181-187.

NAVES M., 2003. Caractérisation et gestion d'une population bovine locale de la zone tropicale : le bovin créole de Guadeloupe. Thèse d'Université. Institut National Agronomique Paris-Grignon, Paris, 283 p.

NEI M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89, 583-590.

NEI M. et CHESSER R.K., 1983. Estimation of fixation indices and gene diversities. *Annals of Human Genetics* 47, 253-259.

NGUYEN T.C., 1975. Les groupes sanguins et le polymorphisme des protéines du sang en espèce caprine. *Reproduction-sélection*, 117-126.

NGUYEN T.C., 1979. Polymorphisme sanguin du mouton et distance génétique entre les races. In: 5e journée de la recherche ovine et caprine, 5 et 6 décembre 1979, INRA Paris.

OLUFUNMILAYO A., WILLIAMS J.L., BLOTT S. et URQUHART B., 2003. Genetic relationships between Native Sheep breeds in Nigeria based on microsatellite DNA polymorphisms. *Animal Genetic Resources Information* 34, 27-39.

PASTEUR N., PASTEUR G., BONHOMME F., CATALAN J. et BRITTON-DAVIDIAN J., 1987. Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines. Lavoisier, Paris, 217 p.

PLANCHENAULT D., 1988. Essai d'amélioration génétique des bovins en milieu défavorable : exemple du ranch de Madina-Diassa. Maisons-Alfort : IEMVT, 307 p.

PRITCHARD J.K., STEPHENS M., ROSENBERG N.A. et DONNELLY P., 2000. Association mapping in structured populations. *American Journal of Human Genetics* 67, 170-181.

PRYDE F.E., GORHAM H.C. et LOUIS E.J., 1997. Chromosome ends: all the same under their caps. *Current Opinion in Genetics and Development* 7, 822-828.

QUEVAL R. et BAMBARA L., 1984. Le polymorphisme de l'albumine dans la race Boualé et une population de zébu de type soudanien. *Revue de l'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 37 (numéro spécial), 288-296.

QUEVAL R., MOAZAMI-GOUDARZI K., LALOE D., MERIAUX J.-C. et GROSCLAUDE F., 1998. Relations génétiques entre populations de taurins ou zébus d'Afrique de l'Ouest et taurins européens. *Genetics Selection Evolution* 30, 367-383.

SACCONE S., DE SARIO A., DELLA VALLE G. et BERNADI G., 1992. The highest gene concentrations in the human genome are in the T-bands of metaphase chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 89, 4913-4917.

SAIKI R., SCHARF S., FALOONA F., MULLIS K., HORN G. et ERLICH H., 1985. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230, 1350-1354.

SCHIBLER L., VAIMAN D. et CRIBIU E.P., 2000. Origine du polymorphisme de l'ADN «Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales». *INRA Productions Animales*, 37-43.

SEGER J. et LUCOTTE G., 1981. La pratique de l'électrophorèse appliquée à la détection des polymorphismes humains. *Editions Maison*, 116 p.

SOTIROV L., SLAVOV R., TYANKOV S. et SEMERDZIEV V., 1999. Effect of various transferrin and haemoglobin genotypes on serum lysozyme content in sheep. *Revue d'Elevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 150, 815-818.

SOUVENIR ZAFINDRAJAONA P., ZEUHL V., MOAZAMI-GOUDARZI K., LALOE D., BOURZAT D., IDRIS A. et GROSCLAUD M.-F., 1999. Etude du statut phylogénétique du bovin Kouri du lac Tchad à l'aide de marqueurs moléculaires. *Revue de d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 52, 155-162.

TAGU D., 1999. Principes des techniques de biologie moléculaire. *INRA, Paris*, 131 p.

THEVENON S., DAYO G.K., SYLLA S., SIDIBE I., BERTHIER D., LEGROS H., BOICHARD D., EGGEN A. et GAUTIER M., 2007. The extent of linkage disequilibrium in a large cattle population of western Africa and its consequences for association studies. *Animal Genetics* 38, 277-286.

WATSON J.D. et CRICK F.H.C., 1953. A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* 171, 737-738.

WEINBERG J. et STANYON R., 1997. Comparative painting of mammalian chromosomes. *Current Opinion in Genetics and Development* 7, 784-791.

WEIR B.S. et COCKERHAM C.C., 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38, 1358-1370.

WRIGHT S., 1967. Comments on the preliminary working papers of Eden and Waddington. In Moorhead/Kaplan, *Mathematical Challenges of the Neo-Darwinian theory of Evolution*. *Evolutionary biology*, 117-120.

YAYE A.H., 2009. Congélation automatique de la semence de taureaux Azawak au Niger : comparaison de deux programmes avec deux dilueurs. Mémoire de fin d'étude d'ingénieur. Université Abdou Moumouni, Faculté d'Agronomie, Niamey, Niger, 70 p.



## **ANNEXE**

### **ANNEXE 1 : Protocole d'extraction d'ADN avec le kit PROMEGA**

1. Mettre 900 µl de CELLYSIS dans les tubes
2. Ajouter 300 µl de sang total. Bien mélanger
3. Incuber 10 mn à la température puis centrifuger pendant 20 secondes 14000trs/mn
4. Rejeter le maximum de surnageant en laissant une fine pellicule de liquide

**NB : s'il reste des débris de globules rouges ajouter 300 µl de CELL LYSIS et répéter les étapes 3 et 4**

5. Vortexer vigoureusement pour bien suspendre
6. Ajouter 300 µl de NUCLEI LYSIS et pipeter la solution à plusieurs reprises pour bien mélanger. Si la solution n'est pas bien mélangée incuber 1 heure 37°C et au besoin ajouter 100 µl de NUCLEI LYSIS
7. Etape facultative : ajouter 1.5 µl de Rnase SOLUTION. Bien agiter et incuber à 37°C pendant 15 minutes
8. Ajouter 100 µl de PROTEIN PRECIPITATION et vortexer vigoureusement
9. Centrifuger à 13000-16000 pendant 3 minutes
10. Transférer le surnageant dans un nouveau tube de 1,5 ml contenant 300 µl d'ISOPROPANOL.
11. Mélanger délicatement jusqu'à obtention d'une masse homogène.
12. Centrifuger pendant 1 minute environs jusqu'à ce que l'ADN soit visible.
13. Ajouter 300 µl d'ETHANOL 70% et centrifuger 1 minute.
14. Aspirer l'ETHANOL et laisser sécher l'ADN.
15. Ajouter 100 µl de DNA REHYDRATATION et incuber 1 heure à 56°C
16. Garder à 2-8°C.

**ANNEXE 2 : Protocole d'extraction d'ADN avec le kit Qiagen à partir du sang conservé plus 5 mois.**

- 1. Pipeter 1000 µl de sang déjà vortexer dans un tube de 1,5 ml et centrifuger à 14000 tours pendant deux minutes afin de récupérer le dépôt.**
- 2. Pipeter 20 µl de protéinase K dans des tubes Eppendorf 1,5 ml, ajouter entre 100 µl du dépôt et compléter avec du PBS pour atteindre un volume total de 220 µl.**
- 3. Ajouter 200 µl de Buffer AL (sans éthanol ajouté) puis bien mélanger le tout en vortexant et incuber à 56°C pendant 10 mn.**

S'assurer qu'il s'agit d'un Buffer AL qui ne contient pas d'éthanol

Il est nécessaire que les échantillons et le Buffer AL soient mélangés immédiatement et bien vortexés ou homogénéiser en pipétant.

- 4. Ajouter 200 µl d'éthanol (96-100%) aux échantillons puis bien mélanger le tout en vortexant.**

Il est nécessaire de bien mélanger pour obtenir une solution homogène.

- 5. Pipeter le mélange obtenu à l'étape 3 dans un DNeasy Mini spin column placé sur un tube de collection de 2 ml fourni par Qiagen. Centrifuger à  $\geq 600 \times g$  (8000 rpm) pendant 1 min. Jeter l'éluat et le tube de collection.**
- 6. Placer la DNeasy Mini spin column sur un nouveau tube de collection de 2 ml fourni par Qiagen, ajouter 500 µl de Buffer AW1 et centrifuger à  $\geq 600 \times g$  (8000 rpm) pendant 1 min. Jeter l'éluat et le tube de collection.**
- 7. Placer la DNeasy Mini spin column sur un nouveau tube de collection de 2 ml fourni par Qiagen, ajouter 500 µl de Buffer AW2 et centrifuger à  $20000 \times g$  (14000 rpm) pendant 3 min pour sécher la DNeasy membrane. Jeter l'éluat et le tube de collection.**

Il est important de sécher la membrane DNeasy Mini spin column car les résidus de l'éthanol peuvent interférer avec les réactions ultérieures. Cette étape de centrifugation permet de s'assurer qu'aucun résidu d'éthanol ne passera pendant la phase d'élution.

Enlever délicatement de la DNeasy Mini spin column après la centrifugation pour que la colonne ne vienne pas en contact avec l'éluat qui contient l'éthanol. Si la colonne touche l'éluat, vider le tube et le réutiliser pour centrifuger à nouveau  $20000 \times g$  (14000 rpm) pendant 1 min.

- 8. Placer la DNeasy Mini spin column sur un tube 1,5 ml ou 2 ml propre (non fourni par Qiagen), et pipeter 200 µl de Buffer AE directement sur la DNeasy membrane. Incuber à la température ambiante pendant 1 min, et centrifuger 1 min à  $\geq 600 \times g$  (8000 rpm) pour éluer.**

L'élution de 100  $\mu$ l (au lieu de 200  $\mu$ l) permet de d'augmenter la concentration finale de l'ADN dans l'éluât mais aussi diminue la quantité finale d'ADN.

**9. Recommandé : Pour collecter un maximum d'ADN, répéter l'élution une fois comme décrit dans l'étape 7.**

Cette étape permet d'augmenter la quantité finale d'ADN collectée.

Une nouvelle centrifugation peut être réalisée pour la seconde élution pour prévenir la dilution du premier éluât. Alternativement pour combiner les éluâts, le tube de la première élution peut être réalisé pour la seconde élution.

NB : ne pas éluer plus de 200  $\mu$ l dans un tube de 1,5 ml car la DNeasy Mini spin column sera en contact avec l'éluât.

### ANNEXE 3 : Fiche de la PCR LiCor

Date :

Thermocycleur :

Opérateur :

Réactifs	Volume réactionnel pour 1 échantillon ( $\mu$ l)	Nom de l'amorce
Eau distillée	7,275	
dNTP (20mM)	1,6	
Tampon 10X	1,6	
Mgcl2 (25mM)	1,6	
Primer FM13	0,2	
Primer R	0,3	
M13/700 ou 800 (Dye)	0,3	
Taq (5u/ $\mu$ l)	0,125	
<b>Total_Mix</b>	<b>13</b>	
ADN	2	
<b>Volume réactionnel</b>	<b>15</b>	

NB : Ne pas oublier d'ajouter 120  $\mu$ l d'eau distillée dans les puis de la première et dernière ligne puis dans la première et dernière colonne.

Date :

Thermocycleur :

Opérateur :

Réactifs	Volume réactionnel pour 1 échantillon ( $\mu$ l)	Nom de l'amorce
Eau distillée	7,275	
dNTP (20mM)	1,6	
Tampon 10X	1,6	
Mgcl2 (25mM)	1,6	
Primer FM13	0,2	
Primer R	0,3	
M13/700 ou 800 (Dye)	0,3	
Taq (5u/ $\mu$ l)	0,125	
<b>Total_Mix</b>	<b>13</b>	
ADN	2	
<b>Volume réactionnel</b>	<b>15</b>	

NB : Ne pas oublier d'ajouter 120  $\mu$ l d'eau distillée dans les puis de la première et dernière ligne puis dans la première et dernière colonne.

#### ANNEXE 4 : Préparation du gel 1%

On pèse 0,5g (pour la cuve électrophorèse de 50 ml) ou 1,2g (pour la cuve électrophorèse de 120 ml) d'agarose dans un erlenmeyer. On ajoute 50 ou 120 ml de solution de TBE 1X selon le volume de la cuve électrophorèse.

Le mélange est chauffé au four-micro onde jusqu'à obtention d'une solution homogène (deux à trois minutes). L'erlenmeyer est refroidi avec l'eau du robinet pendant environ 15 secondes.

On met ensuite 5 ou 10 $\mu$ l de BEt (Bromure d'Ethidium) selon respectivement qu'on ait 0,5 ou 1,2 g d'agarose ; le mélange constitué forme le gel.

On place ensuite les peignes dans une cuve horizontale en fonction du nombre d'échantillons à analyser.

Le gel est coulé dans la cuve bien horizontale contenant les peignes et il est laissé jusqu'à polymérisation.

Après polymérisation, les peignes sont enlevés délicatement et le gel est déposé dans la cuve horizontale à électrophorèse contenant du TBE 1X.

La migration dure 10 à 20 minutes à 80 volts. Le gel est ensuite photographié grâce à une plaque UV et un moniteur.

## ANNEXE 5 : Préparation de la solution d'acrylamide 6,5%

La solution est utilisée pour préparer le gel servant à la migration des produits de la PCR Li-Cor.

- Peser 180g d'urée pure (MW : 60,06g/l),
- Ajouter 200ml d'eau distillée stérile et 50ml de TBE10X puis agiter jusqu'à dissolution totale,
- Ajouter sous une hotte chimique 65ml d'acrylamide Long Ranger, gel solution stock 50% (Ref 50615) et compléter à 500ml avec de l'eau distillée stérile. Mélanger par retournement de l'éprouvette avec un papier parafilm,
- Utiliser un filtre de 0,45 $\mu$ m,
- Filtrer toute la solution à l'aide d'une pompe à vide puis dégazer,
- Etiqueter (date de préparation, concentration),
- **Stockage** : réfrigérateur (+4 à +8°C)