

Inference of genetic variability of Tunisian sheep: Implications for conservation

Inférence sur la variabilité génétique des ressources ovines de la Tunisie : Implication dans la gestion et la conservation



Conférence Scientifique
Internationale sur
l'Environnement et
l'Agriculture

Y. BEN SASSI-ZAIDY^{1*}, F. CHARFI-CHEIKHROUHA¹, F. MARETTO², M. CASSANDRO²

¹ Université de Tunis El Manar, Faculté des Sciences de Tunis UR 11ES11 Bio-Ecologie et Systématique Evolutive, 2092 Tunis, Tunisie.

² Department of Agronomy, Food, Natural resources, Animals and Environment (DAFNAE), University of Padova, Legnaro (PD), Italy

*Corresponding author: bensassizaidyyousra@yahoo.fr

Abstract – The aim of this study was to (1) to investigate the genetic variability within and among the five Tunisian sheep breeds; Barbarine (BAR), Queue Fine de l'Ouest (QFO), Noire de Thibar (NTH), Sicilosarde (SS), D'man (DM) and the crossbred (CRO : BAR x QFO) and (2) to evaluate the level of risk of each breed, to provide appropriate conservation strategies. The genotypes of 250 sheep were assessed using 17 microsatellites markers. A total of 312 alleles were identified in the whole population and all markers were highly informative, having a high mean level of polymorphism (PIC = 83%) and a high mean allelic diversity ($18,41 \pm 5,70$). The genetic variability within breed was estimated in terms of mean number alleles (MNA), allelic richness (AR), observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity and the inbreeding coefficient FIS. The findings evidenced a high genetic variability and limited inbreeding estimates within Tunisian breeds. A comparative approach revealed that BAR and NTH presented the highest level of variability and the least deficit of heterozygotes while the crossbred population (CRO) appeared the least genetically variable with the largest inbreeding value. Furthermore, the dilution of BAR genes following this crossbreeding practice (BAR x QFO) has been clearly highlighted. Consequently, urgent measures of conservation and sustainable management of the two main indigenous breeds BAR and QFO must be undertaken to prevent a complete loss of specifically adapted genes of Tunisian sheep, mainly present in the BAR breed.

Keywords: Tunisian sheep, genetic variability, microsatellites markers, conservation.

Résumé – L'objectif de cette étude est d'explorer le niveau de la diversité génétique des ressources ovines en Tunisie, tout en évaluant leur niveau de risque. Une analyse de la variabilité génétique a été réalisée à l'échelle moléculaire, à l'aide d'un panel de 17 marqueurs microsatellites ; ce qui a permis de génotyper 250 individus appartenant aux races Barbarine (BAR), Queue Fine de l'Ouest (QFO), Noire de Thibar (NTH), Sicilosarde (SS) et D'man (DM) et à une population hybride (CRO : BAR x QFO). Au total, 312 allèles différents ont été détectés. Une diversité allélique moyenne élevée ($18,41 \pm 5,70$) ainsi qu'un niveau élevé du degré de polymorphisme (PIC = 83%) confirment la fiabilité des marqueurs microsatellites sélectionnés. Les paramètres de diversité génétique intra-populationnelle de chaque race ont été déterminés en termes de nombre moyen d'allèles (NMA), richesse allélique (RA), RA des allèles privés, hétérozygoties H_o et H_e , coefficient de consanguinité FIS et nombre de loci à l'écart de l'équilibre Hardy-Weinberg. Les valeurs des paramètres étudiés ont montré un niveau élevé de diversité génétique chez les ressources ovines tunisiennes. L'étude comparative de leurs niveaux de diversité a permis de classer les différentes races selon leur potentiel de variabilité génétique. La BAR avec la NTH sont les races les plus variables, alors que le niveau de diversité génétique le plus faible a été enregistré chez l'hybride CRO. L'impact de l'hybridation anarchique entre la BAR et la QFO a donc été dévoilé suite à la mise en évidence de la grave menace de ces deux principales races ovines en

Tunisie, notamment de la BAR qui souffre plus de l'érosion génétique et qui mérite de faire l'objet d'un programme de conservation.

Mots clés : Tunisie, Ressources génétiques ovines, Variabilité génétique, Microsatellites, Conservation.

1. Introduction

La caractérisation adéquate des ressources zoogénétiques est une condition préalable pour la réussite des programmes de gestion et la prise de décisions éclairées sur la mise en valeur des animaux d'élevage nationaux afin de garantir leur conservation pour les besoins des générations présentes et futures (FAO 2008). En Tunisie, les ressources génétiques ovines acquéraient une grande et très ancienne importance qui remonte aux premières civilisations néolithiques du Maghreb. En effet, l'élevage ovin est une activité dominante pour les tunisiens qui date de plus de 7 500 ans. La prédominance de cette filière découle de son adaptation à la majorité des systèmes agricoles tunisiens. Cette adaptation est due d'une part, à la flexibilité de cette filière en tant qu'unité de production et, d'autre part à la biodiversité des races ovines tunisiennes. La diversité raciale des ressources génétiques ovines de la Tunisie est très peu ou mal identifiée et décrite aussi bien à l'échelle régionale qu'internationale. En effet, malgré les études élaborées pour caractériser les ressources génétiques ovines de notre pays, la FAO (2007) a mentionné dans la liste des races documentées dans la banque mondiale de données pour les ressources zoogénétiques (Breeds currently recorded in the Global Databank for Animal Genetic Resources) une information incomplète et erronée en citant les races ovines tunisiennes : " Noire de Thibar (fr.) ; Sicilo-Sarde (it.) et Sidi Tabet Cross ; (fr.) et (it.) pour désigner l'origine de la race, respectivement la France et l'Italie ". La Barbarine, principale race ovine de point de vue effectif, adaptabilité et valeur socioculturelle est absente de cette liste. En plus, la race " Sidi Tabet Cross " est inexistante parmi les races ovines tunisiennes. Cette appellation a été attribuée à un troupeau de la NTH qui a subi un croisement avec la race Brown de Suisse afin de diminuer l'impact de la consanguinité chez la race NTH (Chalh 2007). Une définition et une description raciale claires des ressources génétiques ovines de la Tunisie s'avèrent donc indispensables et primordiales. Par conséquent, nous avons visé comme objectifs pour ce travail l'identification et la caractérisation moléculaire, à l'aide de 17 marqueurs microsatellites, de la totalité des races ovines natives de la Tunisie : la Barbarine (BAR), la Queue Fine de l'Ouest (QFO), la Noire de Thibar (NTH) et la Sicilo-Sarde (SS) ainsi que la population (CRO) issue du croisement entre la BAR et la QFO. La race exotique la plus répandue, la D'man (DM) introduite du Maroc, a également été incluse dans cette étude. Nous explorons le niveau de la diversité génétique au sein et entre ces populations raciales et nous dégageons les implications de cette étude comparative dans l'établissement de programmes de gestion rationnelle et de conservation des ressources génétiques ovines de notre pays.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel animal

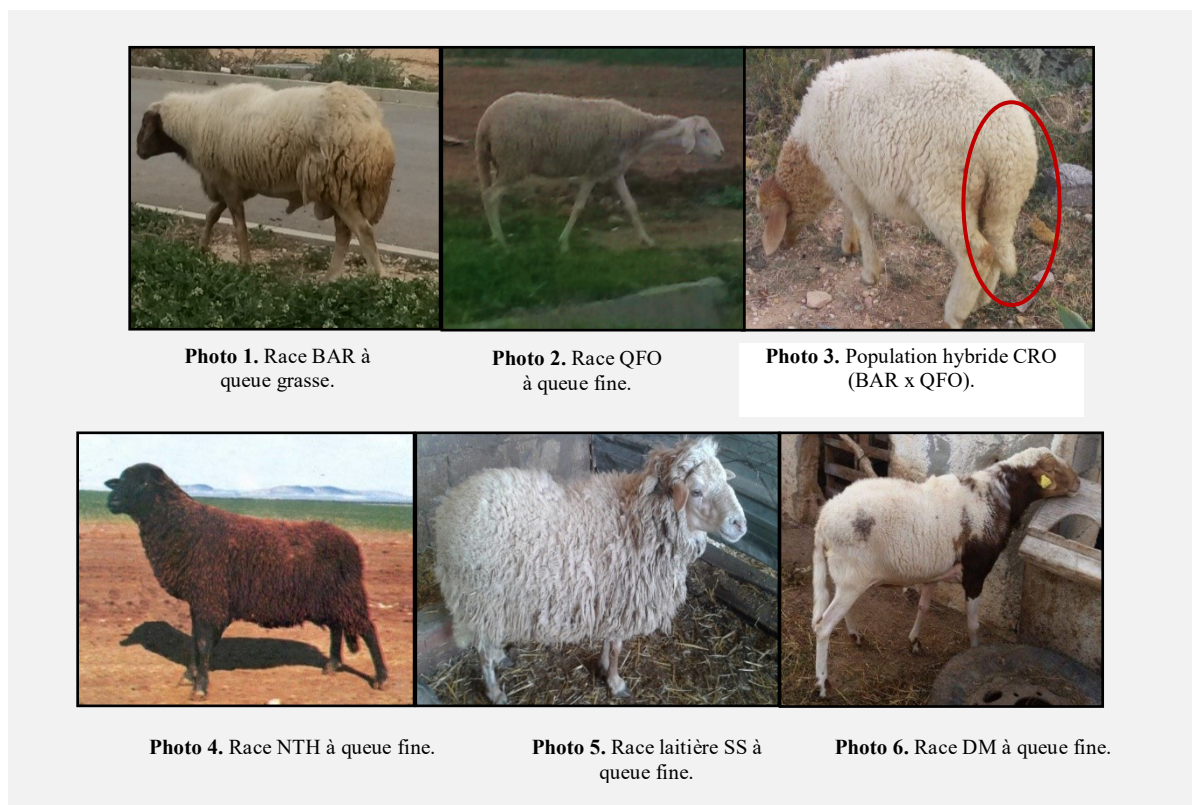
Les différentes races ovines de la Tunisie ont été inventoriées pour la première fois en 2002 par Bello. Une identification brève de chacune des races ovines analysée est faite moyennant la présentation du nom et de la photo de chaque race. Les données spécifiques de chaque race ainsi que son historique ont été mentionnés par Ben Sassi-Zaidy et al. (2014).

Des prises de sang ont été prélevées de 250 individus (BAR : n = 64 ; QFO : n = 41 ; CRO : n = 30 ; NTH : n = 41 ; SS : n = 45 et DM : n = 29). Afin d'éviter toute sous-estimation de la diversité génétique, les individus échantillonnés d'un même troupeau sont non apparentés selon les éleveurs et ne dépassent pas les 3 individus.

2.2. Génotypage

L'extraction de l'ADN génomique a été effectuée suivant le protocole du fournisseur du Kit d'extraction Wizard Genomic DNA Extraction Kit (Promega, USA) en utilisant 300µl de sang. Un panel de 17 microsatellites a été analysé dans cette étude (Tableau 1). Il a été établi à partir de la liste recommandée par la ISAG/FAO Standing Committee (2004) ainsi que sur la base des études précédentes faites sur la diversité génétique chez certaines races ovines (Dalvit et al. 2008 ; 2009). En effet, les marqueurs microsatellites les plus polymorphes et les plus informatifs ont été choisis pour former le panel utilisé. L'amplification des 17 microsatellites s'est déroulée en trois multiplexes par l'emploi d'amorces

marquées par fluorescence. En vue de déterminer le polymorphisme des marqueurs microsatellites, une analyse de la longueur des fragments amplifiés a été faite par électrophorèse en multi-dépôt dans un séquenceur capillaire automatique : CEQ 8000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA). Après migration, le logiciel CEQ 8000 Fragment Analysis v 8 (Beckman Coulter) a été utilisé pour analyser les tailles des allèles obtenus.



2.3. Analyse statistique

En premier lieu, un test de déséquilibre de liaison entre paires de locus ainsi qu'un test de déviation par rapport à l'équilibre Hardy-Weinberg pour toutes les combinaisons locus-populations ont été effectués en utilisant le logiciel GENEPOP version 3.4 (Raymond et Rousset 1995). Le logiciel MICRO-CHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout et al. 2004) a été utilisé pour l'identification des erreurs de génotypage. Le nombre total d'allèles par locus (N_A), le nombre moyen d'allèles par population (N_{MA}), les taux d'hétérozygotie observée (H_o) et espérée (H_e), le coefficient de consanguinité (F_{IS}), et le flux de gènes (N_m) ont été calculés à l'aide du logiciel GENETIX version 4.05.2 (Belkhir et al. 1996-2004). Le logiciel MOLKIN 3.0 (Gutierrez et al. 2005) a servi à mesurer le Contenu Informatif du Polymorphisme (PIC). En raison de l'hétérogénéité d'effectif des races et des populations analysées, la richesse allélique (RA) ainsi que la richesse allélique des allèles privés (RAP) ont été calculées en utilisant la méthode de raréfaction avec le logiciel ADZE (Szpiech et al. 2008). Le logiciel STRUCTURE V2.3.4 (Pritchard et al. 2000) a été employé pour chercher l'occurrence de groupes génétiques indépendants (K) ou nombre de populations ancestrales auxquels chaque population est assignée d'une façon probabiliste ainsi que la proportion (Q) d'appartenance de chaque population aux génomes ancestraux sur la base des fréquences alléliques des marqueurs microsatellites.

3. Résultats et Discussion

3.1. Analyse de la diversité des marqueurs microsatellites

Les 17 microsatellites du panel utilisé dans cette étude ont été tous inclus dans les analyses multilocus puisque le traitement de la base des données par les logiciels, GENEPOP et MICRO-CHECKER a exclu toute distorsion causant une surestimation de l'hétérozygotie pour la totalité des loci. Les résultats relatifs à chaque marqueur sont présentés dans le tableau 1. Au total, 312 allèles différents ont été détectés à tous les loci. Le nombre d'allèles par locus varie de 9 à 28 avec une diversité allélique égale

à $18,41 \pm 5,70$. La richesse allélique moyenne (RA) est de $11,03 \pm 3,05$. La moyenne de l'indice de polymorphisme (PIC) est de $0,83 \pm 0,07$, ce qui indique une discrimination élevée. Le nombre important d'allèles par locus ainsi que le niveau élevé du polymorphisme (83%) confirment que les marqueurs microsatellites utilisés dans cette étude sont très informatifs et appropriés pour l'analyse de la diversité génétique des races ovines tunisiennes.

Le même travail de Kdidi et al. (2015) effectué sur les 4 races ovines tunisiennes, la BAR, la QFO, la NTH et la SS a révélé une diversité allélique moyenne (14,27) et des valeurs de PIC variant de 0,588 à 0,885. Les valeurs de ces paramètres sont inférieures à celles révélées par notre étude confirmant l'utilité et la fiabilité du panel des 17 marqueurs microsatellites que nous avons utilisé dans l'exploration de la diversité génétique des ressources génétiques ovines tunisiennes.

Tableau 1. Paramètres de diversité des marqueurs microsatellites chez les races ovines tunisiennes. NA : Nombre d'allèles, RA : Richesse allélique, PIC : Contenu Informatif du Polymorphisme.

Locus	NA	RA	PIC
Inra023	14	11,56	0,889
Inra063	21	12,75	0,855
OarCP49	28	18,06	0,908
OarFCB304	23	12,16	0,801
OarFCB20	19	12,05	0,890
MAF65	12	8,53	0,869
ILST087	27	16,15	0,916
OarAE119	16	11,10	0,818
MCM527	13	8,73	0,798
MAF214	20	7,96	0,616
OarAE129	9	5,90	0,734
OarCP34	11	6,63	0,783
OarAE54	16	10,97	0,781
TGLA53	17	11,00	0,873
URB058	22	12,20	0,843
CSRD247	25	10,98	0,857
HSC	19	10,86	0,863
Moyenne	18,41	11,03	0,830
Ecartype	5,70	3,05	0,070

3.2. Diversité génétique intra-population

Les paramètres de diversité génétique intra-populationnelle de chacune des races ovines tunisiennes ont été déterminés en termes de NMA, RA, RAP, hétérozygotie H_o et H_e , coefficient de consanguinité F_{IS} et nombre de loci à l'écart de l'équilibre Hardy-Weinberg. Ces paramètres sont illustrés dans le tableau 2. En général, toutes les races tunisiennes ont montré un niveau élevé de diversité génétique. Le NMA varie de 10,53 chez la population CRO à 12,53 chez la race BAR. La valeur maximale de RA (10,39) est observée simultanément chez la BAR et la NTH et la valeur minimale (9,25) chez la race DM.

Kdidi et al. (2015) ont révélé un niveau de variabilité génétique plus faible au sein des 4 races autochtones avec un NMA variant de 9,30 chez la NTH à 11,10 chez la BAR et une RA variant de 7,27 chez la SS à 7,84 chez la QFO.

Après la correction du biais qui résulte de la différence des effectifs des échantillons par la méthode de raréfaction (Szpiech et al. 2008), la RAP varie de 0,27 chez la NTH à 0,71 chez la DM. Les valeurs maximales de ce dernier paramètre observées chez la SS (0,67) et chez la DM (0,71), reflètent bien la spécificité de chacune de ces deux races sachant que la SS est l'unique race ovine laitière de l'Afrique du Nord (Djemali et al. 2009) et la DM représente la seule race prolifique du Maghreb. La race BAR,

reconnue par sa forte rusticité et son adaptabilité aux climats extrêmes chauds et froids, a présenté une richesse allélique d'allèles privés de 52%.

Concernant l'hétérozygotie, les races BAR et NTH montrent un niveau similaire de variabilité avec les valeurs les plus fortes de H_o comme le montre le tableau 2. La race QFO présente la plus forte valeur de l'hétérozygotie espérée ($0,823 \pm 0,075$) alors que son hétérozygotie observée ($0,739 \pm 0,143$) est légèrement inférieure à celles des races BAR et NTH. La population croisée CRO présente les valeurs les plus faibles de H_o et de H_e ($0,682 \pm 0,167$ et $0,797 \pm 0,089$ respectivement) traduisant ainsi un déficit en hétérozygotes. Ce déficit reflète la mauvaise conduite au niveau des petits troupeaux où ce croisement est pratiqué. En effet, l'absence de contrôle de filiation et de rigueur dans le choix des géniteurs caractérise les exploitations familiales d'élevage ovin qui visent la vente rapide de leurs produits croisés (CRO) demandés par les bouchers. Une différence moins accentuée entre les valeurs de H_o et de H_e est signalée chez les autres races.

Des valeurs très proches de H_o , variant de 0,644 chez la SS à 0,674 chez la BAR, ont été mentionnées par Kdidi et al. (2015). Ces valeurs sont toutes inférieures à celles de H_e comprises entre 0,763 chez la NTH et 0,780 chez la QFO. Bien que ce niveau d'hétérozygotie soit plus faible que le nôtre, nous soulignons que la QFO et la BAR montrent respectivement les plus fortes H_e et H_o . Ces résultats concordent avec ceux de El Hentati et al. (2012) mettant en évidence une H_e plus élevée chez la QFO par rapport à la BAR. Ceci pourrait être expliqué par la perméabilité de la frontière tunisio-algérienne favorisant l'introduction fréquente d'individus de race Ouled-Djellal donnant de nouveaux allèles à la race QFO.

Les valeurs du coefficient (F_{IS}) ainsi que le nombre de loci présentant un écart par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg (Tableau 2) expliquent la différence entre les deux hétérozygoties H_o et H_e . Ce faible excès d'homozygotes au sein des races pourrait être, pour une grande part, engendré par la consanguinité que par l'effet de la structuration. L'hypothèse des allèles nuls et du déséquilibre de liaison n'explique pas cette déviation de l'état d'équilibre, suite à leur non confirmation par l'application des tests appropriés. En effet, les plus fortes valeurs du coefficient de consanguinité (F_{IS} : $0,139 \pm 0,192$ et $0,123 \pm 0,138$), révélées respectivement chez la population CRO et chez la race DM, justifient ces propos. En fait, la CRO résulte des croisements anarchiques sans aucun contrôle de parenté tel que déclaré par les petits éleveurs qui pratiquent fréquemment ce croisement entre les mâles BAR et les femelles QFO. Concernant la DM, elle est issue d'un seul noyau importé du Maroc et élevé dans une aire isolée dans le sud tunisien sans aucun échange de matériel génétique avec d'autres races. La faible valeur du coefficient de consanguinité ($0,073 \pm 0,062$) révélé chez la BAR est expliquée par le fait que le gras caudal exige l'assistance du berger au cours de la lutte et par conséquent un contrôle de la paternité. Cette pratique est absente chez les races à queue fine dont le contrôle de parenté est basé sur la voie maternelle uniquement, ceci explique les valeurs assez élevées de F_{IS} chez les races à queue fine, à l'exception de la race NTH qui, contrairement à ce qui est attendue, a montré la variabilité génétique la plus élevée et la consanguinité la plus faible, malgré les problèmes de consanguinité signalés auparavant chez cette race. Plusieurs efforts ont été fournis afin de diminuer l'impact de la consanguinité chez la NTH (Djemali et Alhadrami 1997 ; Chalh et al. 2007). L'introduction de gènes de la race Brune Noire de Suisse par insémination artificielle (Rekik et al. 2011) semble avoir une bonne part dans la restauration du problème de la consanguinité chez la NTH.

Le niveau de consanguinité que nous avons enregistré est inférieur à celui ($0,134$ chez la BAR, $0,153$ chez la NTH, $0,164$ chez la SS et $0,165$ chez la QFO) révélé par Kdidi et al. (2015). Ces valeurs, bien que supérieures, mettent l'accent 1) sur le faible niveau de consanguinité chez la BAR, 2) le niveau relativement faible chez la NTH mettant en évidence l'effet de l'amélioration de ce paramètre suite aux risques signalés par Djemali et Alhadrami (1997) et Chalh et al. (2007).

Tableau 1. Paramètres de diversité intra-population chez les races ovines tunisiennes, NMA, Nombre moyen d'allèles ; RA, Richesse Allélique ; RAP, Richesse alléliques des Allèles Privés ; H_o , Hétérozygotie observée ; H_e , Hétérozygotie espérée ; F_{IS} , Coefficient de consanguinité ; E, Nombre de loci présentant un écart à la panmixie selon le modèle de Hardy-Weinberg

Races	NMA \pm ds	RA	RAP ^(a)	$H_o \pm$ ds	$H_e \pm$ ds	$F_{IS} \pm$ ds	E
BAR	12,53 \pm	10,39 \pm	0,52	0,747 \pm	0,806 \pm	0,073 \pm	0**
	5,03	3,38		0,107	0,095	0,062	
QFO	12,06 \pm	10,05 \pm	0,46	0,739 \pm	0,823 \pm	0,101 \pm	4**
	3,70	2,95		0,143	0,075	0,143	
CRO	10,53 \pm	9,71 \pm 2,99	0,35	0,682 \pm	0,797 \pm	0,139 \pm	4**
	3,26			0,167	0,089	0,192	
NTH	10,65 \pm	10,39 \pm	0,27	0,748 \pm	0,806 \pm	0,071 \pm	2**
	2,74	3,04		0,149	0,094	0,121	
SS	12,06 \pm	10,05 \pm	0,67	0,726 \pm	0,811 \pm	0,102 \pm	2**
	3,96	3,51		0,133	0,106	0,103	
DM	10,94 \pm	9,25 \pm 2,31	0,71	0,716 \pm	0,815 \pm	0,123 \pm	5**
	3,70			0,165	0,112	0,138	

(a), avec méthode de raréfaction ajustée à 29 individus.

** , valeur $P < 0,05$

3.3. Implications des données microsatellites dans la gestion et la conservation des ressources ovines tunisiennes

Selon la FAO (2008), les races d'élevage traditionnellement détenues dans les systèmes basés sur le pâturage sont généralement bien adaptées aux conditions difficiles dans lesquelles elles pâturent et aux besoins des éleveurs. Ces races, généralement à fins multiples, se caractérisent par une diversité génétique importante. L'élevage ovin tunisien est basé sur des races locales potentiellement intéressantes caractérisées par leur grande adaptabilité aux conditions difficiles. Suite à cette étude, le niveau de diversité génétique de ces races exploré par les marqueurs microsatellites s'est montré élevé bien que variable d'une race à une autre. Nous avons proposé ainsi une comparaison du niveau de diversité entre ces différentes races ovines, tout en évaluant l'état de risque de chaque race afin de mettre en œuvre une stratégie de gestion adéquate des ressources génétiques ovines de notre pays.

3.3.1. Comparaison du niveau de diversité génétique entre les races ovines tunisiennes et évaluation de leur état de risque

Au terme de l'étude comparative du niveau de diversité génétique au sein de chaque race (Tableau 2), il est éminent de mentionner les remarques suivantes pour chaque race :

- La race BAR est la race la plus variable génétiquement. En effet, elle présente la diversité allélique la plus élevée et une diversité génique (hétérozygotie espérée de Nei (1987)) très importante ainsi que la consanguinité la plus réduite après la NTH (Tableau 2). Ces caractéristiques permettent de classer cette race en première position et ce pour des perspectives aussi bien à court qu'à long terme. Dans une perspective à long terme, la richesse allélique se voit plus avantageuse que la diversité génique puisque, d'une part elle est plus sensible aux événements de bottleneck et reflète mieux les fluctuations anciennes de la taille d'une population donnée et, d'autre part elle détermine la limite de la réponse à la sélection qui dépend du nombre initial d'allèles. A court terme, les réponses à la sélection et à la dépression de consanguinité dépendent directement de la diversité génique.

- La race QFO est en train de gagner de l'importance aux dépens de la BAR en effectif et en répartition sur le territoire tunisien (Djemali et al. 2006 ; Bedhiaf-Romdhani et al. 2008) ; elle présente un niveau de diversité génétique inférieur à celui de la BAR. Pour la diversité allélique, elle est classée troisième après la BAR et la NTH qui occupent toutes les deux la première position. Son niveau de consanguinité est considérable et lui permet d'occuper la troisième place après la NTH et la BAR qui sont respectivement en première et deuxième position (Tableau 2). Sa diversité génique est appréciable (plus forte hétérozygotie espérée), alors qu'elle est classée troisième pour son hétérozygotie réelle (H_o). Suite à ce classement, il est indispensable de tirer la sonnette d'alarme puisque la race BAR, la plus

variable génétiquement, est en train d'être remplacée par la race QFO, moins variable et à niveau supérieur de consanguinité.

- La NTH, contrairement à ce qui est attendue, présente un niveau très important de variabilité génétique occupant ainsi les premières positions de diversité allélique et génique et de la dernière position de consanguinité de toutes les races ovines tunisiennes (Tableau 2). Ces résultats mettent en évidence le succès des efforts fournis pour sauver la race NTH de l'effet de la consanguinité cité par Djemali et Alhadrami (1997) et Chalh et al. (2007). Tout comme la BAR, le réservoir génétique de la NTH est très riche et peut être orienté dans plusieurs voies de sélection. Nous pouvons ainsi confirmer les propos de Chalh et al. (2007) qui ont attribué la faible production notée chez la NTH à des facteurs non-génétiques. Ces données sont des informations indispensables et peuvent être impliquées dans les programmes de préservation et de développement génétique de la race NTH.

- La SS, malgré la réduction alarmante de son effectif, cette race semble restaurer sa variabilité génétique, aussi bien sa diversité allélique que génique qui sont appréciables (Tableau 2). La spécificité de cette unique race ovine laitière de l'Afrique du Nord est mise en évidence par sa forte richesse en allèles privés. Par conséquent, la base génétique de cette race est capable de supporter des programmes rationnels de sélection pour bien exprimer les aptitudes de cette race. Ceci doit forcément être accompagné par une conduite adéquate aux performances de cette race. Le niveau de variabilité génétique de la SS, révélé par notre étude, en plus des efforts fournis par l'association d'éleveurs de cette race, permettent de la positionner hors état de risque, de garantir sa conservation et de promouvoir son développement.

- La DM, la race ovine exotique ayant connu la plus large extension sur le territoire tunisien principalement dans le milieu oasien et récemment dans la région semi-aride du Nord-Ouest (El Kef), se caractérise par ses aptitudes reproductives exceptionnelles telles que sa prolificité élevée, sa précocité sexuelle et sa bonne fertilité (Chniter et al. 2009). Cette spécificité de la DM est mise en évidence par sa richesse en allèles privés (valeur la plus élevée, Tableau 2). Cependant, cette race présente la plus faible diversité allélique malgré son importante diversité génique exprimée en (H_e). Cette dernière est affectée par l'impact de la consanguinité élevée notée chez cette race ce qui a réduit son état réel de variabilité (H_e). Cet état de diversité génétique pourrait expliquer en partie les taux élevés de mortalité des agneaux DM pouvant atteindre 20% qui s'explique en partie par les facteurs liés à la conduite (Chniter et al., 2009).

- La CRO, l'hybride se propageant intensément sur tout le territoire tunisien, présente le plus faible niveau de diversité génétique exprimée par la plus faible valeur de diversité génique, la consanguinité la plus élevée et la diversité allélique la plus faible après la DM (Tableau 2). La propagation de cette population hybride à faible diversité génétique semble constituer une menace grave de l'état des ressources génétiques ovines en Tunisie. Son faible niveau de variabilité reflète bien l'impact du croisement anarchique et incontrôlé entre les deux principales races ovines natives de la Tunisie. Le niveau de cet impact et ses effets directs sur la diversité génétique sont détaillés dans le paragraphe suivant.

3.3.2. Impact du croisement (BAR x QFO)

L'importance de la BAR, exprimée par son niveau le plus élevé de variabilité génétique et révélée par la présente étude, vient renforcer ses caractéristiques telles que sa forte rusticité et adaptabilité, ses qualités maternelles, sa meilleure qualité de viande et sa valeur socioculturelle. En revanche, un danger alarmant est en train de la menacer malgré ses nombreuses et précieuses qualités. Il s'agit de l'érosion génétique de cette race causée par son croisement très fréquent avec les races à queue fine telle que la NTH et essentiellement la race QFO originaire de la race algérienne Ouled Djellel. Le croisement BAR x QFO est pratiqué par les éleveurs sur presque tout le territoire tunisien de manière anarchique, incontrôlée et sans évaluation des performances de l'hybride CRO qui en résulte. L'impact de ce danger s'accroît puisqu'il n'est pas mentionné malgré sa forte répartition spatio-temporelle dans notre pays. Aucun état de danger n'est signalé au sein de la race BAR, ni officiellement par l'État ni par les travaux de recherche, mis à part ceux de Djemali et al. (2006) et de Bedhiaf-Romdhani et al. (2008) qui ont abordé les tendances des croisements entre la BAR et les races à queues fines. Les données démographiques officielles, issues des dernières statistiques et enquêtes des structures et performances agricoles (MARHP 2006 ; DGPA 2015) n'ont même pas signalé l'existence de la population CRO dont l'effectif ne cesse d'augmenter.

La FAO (2008) a mis l'accent sur de telles situations en indiquant que les états de danger basés sur les données démographiques peuvent ne pas refléter totalement l'étendue réelle de l'érosion génétique des races et que la faiblesse de la surveillance actuelle des états de danger raciaux revient au fait qu'elle fournit peu d'indications sur l'étendue de la dilution génétique causée par les croisements indiscriminés. Cette dilution génétique selon la FAO (2008) est un problème considéré par de nombreux experts comme une menace majeure pour la diversité génétique même à l'intérieur des races ayant un très grand effectif comme la race BAR. Les aspects de cet impact peuvent être résumés ainsi:

- Baisse de la fréquence et de la répartition spatiale de la BAR

Malgré l'augmentation de son effectif, la BAR est fortement concurrencée par la race QFO. En effet, nous avons noté un changement important dans la composition raciale du cheptel ovin tunisien favorable à cette dernière qui n'occupait, il y a quelques décennies, que les frontières avec l'Algérie. D'ailleurs, au cours de ces deux dernières années, les valeurs des pourcentages de présence déclarées dans les statistiques du Ministère de l'Agriculture de ces deux races par rapport à l'effectif total du cheptel national femelle, sont passées de 60,3% en 2011 à 58% en 2015 pour la BAR et de 34,6% en 2011, à 37% en 2015 pour la QFO (DGPA 2015). La QFO a donc actuellement envahi presque toute la Tunisie participant à la création de la population hybride CRO qui avec la QFO ont gagné place aux dépens de la BAR. Djemali et al. ont signalé en 2006 que la région de Sidi Bouzid, reconnue pour longtemps comme berceau de la BAR, n'en renferme que 49% contre 100% vers les années 90. La situation semble s'aggraver actuellement car la BAR devient moins fréquente dans cette région. Ainsi un recensement officiel de la BAR s'avère indispensable et urgent pour pouvoir évaluer la situation afin de prendre les décisions adéquates.

- Réduction de la diversité génétique

La comparaison des niveaux de variabilité génétique entre les deux races BAR et QFO et leurs hybrides CRO, présentée dans le tableau 2, met bien en évidence l'impact de ce croisement sur la réduction de la variabilité génétique. En effet, nous notons chez la population CRO aussi bien la diminution de la richesse allélique, de la richesse en allèles privés, de l'hétérozygotie observée et de la diversité génique (H_e), que l'augmentation de la consanguinité.

La détérioration des caractéristiques spécifiques de chacune des races BAR et QFO, accumulées pendant des siècles, est clairement démontrée par la réduction de la richesse des allèles privés chez la CRO. L'impact direct de ce croisement sur la diversité génétique est plus que certain et la sonnette d'alarme est tirée. Aucune évaluation des performances de cet hybride CRO n'a été faite. Même si le niveau des performances de croissance de cet hybride est supérieur, aucun progrès génétique ne sera atteint par ce croisement puisqu'il menace la diversité génétique. La perte de la diversité génétique va de pair avec une diminution de la capacité d'adaptation aux changements climatiques, alimentaires et aux nouvelles maladies. Un appel urgent est donc lancé pour mettre fin et immédiatement à ce type de croisement qui constitue un réel danger pour le patrimoine génétique ovin de la Tunisie.

- Dilution génétique et absorption des gènes de la BAR

Le suivi du tracé des gènes des deux races BAR et QFO, suite à ce croisement, a été détaillé par Ben Sassi-Zaidy et al. (2016) par l'estimation du flux génique (Nm) et des distances génétiques (D_S). Le flux génique contemporain entre les deux races BAR et QFO est mis en évidence par les valeurs de (Nm) entre BAR-CRO et QFO-CRO respectivement de 27,47 et 42,16 puisque le flux de gènes entre BAR-QFO reflète l'ancienne miscégénéation entre ces deux races. Nous confirmons, du fait que le flux génique entre QFO et CRO est beaucoup plus important que celui entre BAR et CRO, que les gènes de la BAR sont dilués et absorbés suite à ce croisement sachant que tous les individus CRO analysés dans cette étude sont issus de parents de races différentes (QFO et BAR). L'absorption des gènes de la BAR est également mise en évidence par une distance génétique BAR-CRO (0,044) supérieure à celle QFO-CRO (0,034). Les individus CRO qui représentent les individus de la génération F1 de ce croisement sont plus proches génétiquement de la race QFO et phénotypiquement de la BAR avec une queue intermédiaire (Photo 3).

Une autre alternative que nous avons utilisée pour inférer la direction du patron de migration génique suite à ce croisement est celle basée sur l'assignation des individus de BAR, QFO et CRO par le logiciel STRUCTURE grâce à la méthode de (regroupement) clustérisation bayésienne par laquelle nous avons détaillé la distribution de la proportion du génome ancestral (Q) pour chacune de ces trois populations (Tableau 3). L'appartenance simultanée du génome ancestral de la BAR et la QFO aux 3 mêmes clusters avec des proportions différentes d'une race à une autre justifie l'introgression ancienne de trois ancêtres

à l'origine de ces deux races, mais le pourcentage de la contribution de chaque ancêtre diffère selon la race.

Tableau 3. Proportion d'appartenance du génome ancestral (Q) des races BAR, QFO et leurs hybrides CRO aux clusters inférés par le logiciel STRUCTURE ; vraisemblance maximale à $K = 3$

Race/Cluster	1	2	3
BAR	0,457	0,349	0,194
QFO	0,246	0,469	0,286
CRO	0,295	0,324	0,381



Figure 1. Assignation bayésienne des races BAR, QFO et leurs hybrides CRO par le logiciel STRUCTURE ($K = 3$).

La figure 1 illustre la clustérisation de chaque race dans le cas de vraisemblance maximale ($K = 3$). Le premier cluster qui désigne l'ancêtre numéro 1 (le classement n'est pas relatif à l'ancienneté des ancêtres) est désigné par la couleur rose. La contribution maximale du pool génétique de cet ancêtre est observée au sein de la BAR (46%). Cet ancêtre contribue de 25% au génome de la race QFO et de 29% au génome de la population CRO. Le deuxième ancêtre est représenté par la couleur jaune (Figure 1) ; sa contribution maximale est notée dans le génome de la QFO (47%). Il constitue 35% du génome de la BAR et 32% de celui de la population CRO. Le pool génétique du troisième ancêtre, représenté par la couleur violette, est présent minoritairement dans les génomes de la BAR et la QFO avec respectivement 19 et 29%. La présence de cet ancêtre s'accumule dans l'hybride CRO pour atteindre 38% de son génome constituant ainsi le contributeur principal du génome de la population CRO. Suite à cette analyse, il est évident de constater que le croisement entre la BAR et la QFO a dilué les empreintes génétiques de la BAR. En effet, nous notons :

- Une réduction de 16% du gène pool de l'ancêtre 1 (contributeur principal au génome de la BAR) entre la BAR et la population CRO et une augmentation de 5% de ce gène pool entre la QFO et la CRO,
- Une réduction de 3% du gène pool de l'ancêtre 2 (contributeur principal au génome de la QFO) entre la BAR et la population CRO et de 15% entre la QFO et la CRO,
- Une augmentation de 19% du pool génétique de l'ancêtre 3 entre la BAR et la CRO et de 10% entre la QFO et la CRO.

De ce fait, l'analyse bayésienne vient conforter les valeurs des flux de gènes (Nm) et des distances génétiques et justifie que l'hybride CRO est plus proche de la QFO que de la BAR. La dilution des gènes de la BAR, suite à ce croisement, est donc légèrement plus accélérée que celle de la QFO. Il en découle que l'absorption des gènes de la BAR, suite à ce croisement, est fortement justifiée.

Suite à la mise en évidence de l'impact de ce croisement anarchique qui menace la variabilité génétique des deux principales races natives, la BAR et la QFO, constituant ensemble 95% du cheptel national, et dans le but de sauver la race BAR de l'érosion génétique et de préserver la variabilité génétique de ces deux races, il est crucial de :

- Sensibiliser les organismes de développement agricole et de vulgarisation à l'ampleur de l'impact de ce croisement sur la biodiversité ovine dans la Tunisie, afin qu'ils puissent participer à l'estimation de l'effet de ce type de croisement et à la délimitation de ses conséquences sur tous les plans, notamment sur la durabilité des systèmes d'élevage ovine et la préservation de la biodiversité ovine. Par conséquent, des décisions adéquates auprès des décideurs pourraient être prises et mises en œuvre pour résoudre ce problème.

- Sensibiliser les éleveurs à l'importance de la préservation des caractères spécifiques de chacune de ces races natives afin de définir des zones dites "berceaux de race" où l'une des races, BAR ou QFO est élevée de façon homogène selon son adaptabilité et les envies des éleveurs. Le but serait de fixer ces races dans leurs berceaux et de restaurer ce qui reste des individus de "races pures".
- Créer des zones pour pratiquer des croisements entre ces deux races contrôlées par les services du ministère de l'Agriculture et basés sur des programmes de gestion rationnelle avec des buts bien définis. Des suivis de ces croisements, basés sur l'évaluation scientifique du niveau de la diversité génétique et des performances des hybrides, doivent également être élaborés.
- Résoudre le problème du gras caudal qui constitue une contrainte à la commercialisation des agneaux, surtout au niveau des bouchers qui ont imposé l'orientation des éleveurs et des consommateurs vers la viande des races à queue fine et des hybrides à cause de la queue grasse de la BAR difficile à vendre. Notons que cette orientation vers la race QFO et l'hybride CRO s'effectue malgré les préférences respectives des éleveurs et des consommateurs à la rusticité et à la meilleure qualité de viande de la BAR (Djemali et al. 2006 ; Bedhiaf-Romdhani et al. 2008). La quantité importante du gras caudal de la BAR pourrait être valorisée dans la fabrication d'agrocarburant, à l'instar de la graisse de porc et de canard qui, bien que de quantités plus faibles que celle du gras caudal de la BAR qui peut atteindre les 7 kg (Khaldi 1984), ont été recyclées, à grande échelle, en biocarburant dans plusieurs pays développés.
- Valoriser les races en tenant compte essentiellement de leur rusticité qui garantirait la persistance de la filière élevage ovine vis-à-vis des changements climatiques prévus. Le gras caudal est le trait de choix pour conserver l'adaptabilité et la rusticité des races ovines (Iniguez, 2005 ; Ben Salem et al., 2011). Le gras caudal de la BAR est considéré comme un moyen efficace de résistance aux conditions climatiques défavorables, puisqu'il peut subir des variations énormes de poids suite aux privations alimentaires sans altération notable de l'état physiologique de l'animal. En effet, la rusticité de la BAR transmise aux trois races, Tunis d'Amérique, Barbaresca d'Italie et Rouge de Roussillon de France originaires toutes de la BAR, est fortement valorisée par les associations relatives à ces races. Ces associations ont été créées pour les sauvegarder suite à la prise de conscience des éleveurs et des décideurs dans ces 3 pays de la rusticité de ces races, de leur qualité maternelle, ainsi que de la qualité supérieure de leur viande.

4. Conclusion

La présente étude a mis en évidence le niveau important de la diversité génétique de nos ressources génétiques ovines *via* des marqueurs moléculaires neutres, les microsatellites. Le panel des 17 marqueurs utilisé dans cette étude s'est montré très informatif et utile dans l'exploration du niveau de la variabilité génétique ainsi que dans l'évaluation du niveau du risque menaçant les ressources ovines tunisiennes. En effet, grâce à cette étude nous avons mis en évidence le niveau de variabilité génétique de chaque race, son niveau de consanguinité et nous avons dévoilé l'impact des croisements incontrôlés sur la diversité génétique.

Selon la FAO (2008), "l'état de danger est établi principalement d'après la structure et la taille de la population. Des données sur l'importance du croisement seraient également utiles pour évaluer la menace de dilution génétique, de même que l'information sur la distribution géographique des races, et l'étendue de la consanguinité dans la population". En appliquant ces recommandations et en tenant compte de l'évaluation de l'état de variabilité de chacune des races basées sur la présente étude, nous proposons l'identification de la BAR comme étant une race à risque souffrant de la dilution et de l'érosion génétiques.

5. Références

- Bedhiaf-Romdhani, S., Djemali, M., Zaklouta, M., Iniguez, L., 2008.** Monitoring crossbreeding trends in native Tunisian sheep breeds. *Small Rumin. Res.* 74, 274–278.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., Bonhomme, F., 1996-2004.** GENETIX 4.05, logiciel sous windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interaction. CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France. Available at: <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/intro.htm>.
- Bello, A.A., 2002.** Inventaire de la diversité génétique ovine et caprine en Tunisie. Mémoire de DEA de l'INAT, pp. 65.

- Ben Salem, H., Lassoued, N., Rekik, M., 2011.** Merits of the fat-tailed Barbarine sheep raised in different production systems in Tunisia: digestive, productive and reproductive characteristics. *Trop. Anim. Health Prod.* 43, 1357–70.
- Ben Sassi-Zaidy, Y., Maretto, F., Charfi-Cheikrouha, F., Cassandro, M., 2014.** Genetic diversity, structure, and breed relationships in Tunisian sheep. *Small Rumin. Res.* 119, 52–56.
- Ben Sassi-Zaidy, Y., Maretto, F., Charfi-cheikhrouha, F., Mohamed-Brahmi, A., Cassandro, M., 2016.** Contribution of microsatellites markers in the clarification of the origin, genetic risk factors, and implications for conservation of Tunisian native sheep breeds. *Genet. Mol. Res.* 15, 1–11.
- Chalh, A., El Gazzah, M., Djemali, M., Chalbi, N., 2007.** Genetic and Phenotypic Characterization of the Tunisian Noire De Thibar Lambs on Their Growth Traits. *J. Biol. Sci.* 7, 1347–1353.
- Chniter, M., Maali, S., Hammadi, M., Khorchani, T., Harab, H., Krit, R., Ben Hamouda, M., Khaldi, G., Nowak, R., 2009.** Effects of dam age, litter size and gender on birth weight of D'man lamb: consequence on lamb mortality. *J. Arid L. Stud.* 19, 169–172.
- Dalvit, C., Saccà, E., Cassandro, M., Gervaso, M., Pastore, E., Piasentier, E., 2008.** Genetic diversity and variability in Alpine sheep breeds. *Small Rumin. Res.* 80, 45–51.
- Dalvit, C., De Marchi, M., Zanetti, E., Cassandro, M., 2009.** Genetic variation and population structure of Italian native sheep breeds undergoing in situ conservation. *J. Anim. Sci.* 87, 3837–44.
- DGPA, 2015.** Direction générale de la production animale. Ministère de l'agriculture, des ressources hydriques et de la pêche.
- Djemali, M., Alhadrami, G., 1997.** Considerations beyond breeding goals in breeding sheep in relation to the environment. *Options Mediterr. Ser. A Semin. Mediterr.* 33, 171–174.
- Djemali, M., Bedhiaf-Romdhani, S., Wurzinger, M., Iñiguez, L., 2006.** Impact of butchers and market trends on the integrity of small ruminant genetic resources, in: 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, 17.-20.9.2006., Antalya, Turkey, pp. 1–6.
- Djemali, M., Bedhiaf-Romdhani, S., Iniguez, L., Inounou, I., 2009.** Saving threatened native breeds by autonomous production, involvement of farmers organization, research and policy makers: The case of the Sicilo-Sarde breed in Tunisia, North Africa. *Livest. Sci.* 120, 213–217.
- El Hentati, H., Ben Hamouda, M., Chriki, A., 2012.** Genetic diversity of two Tunisian sheep breeds using random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *African J. Biotechnol.* 11, 4109 – 4115.
- FAO, 2007.** Breeds currently recorded in the Global Databank for Animal Genetic Resources (Annex), in: *The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture*, Edited by B. Rischkowsky & D. Pilling, Rome, pp. 524.
- FAO, 2008.** L'état des ressources zoogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture dans le monde, édité par B. Rischkowsky & D. Pilling, Rome, pp. 551.
- Gutierrez, J.P., Royo, L.J., Alvarez, I., Goyache, F., 2005.** MolKin v2.0: A Computer Program for Genetic Analysis of Populations Using Molecular Coancestry Information. *J. Hered.* 96, 718–721.
- Iniguez, L., 2005.** Characterization of small breeds in West Asia and North Africa. *Volum 2. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria*, pp.106.
- ISAG/FAO Standing Committee., 2004.** Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans. *Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers.* <http://dad.fao.org/cgi-bin/getblob.cgi?sid=ca53b91a6f7c80be8e7066f4a50>.
- Kdidi, S., Calvo, J.H., Ben Sassi, M., Khorchani, T., Yahyaoui, M.H., 2015.** Genetic relationship and admixture in four Tunisian sheep breeds revealed by microsatellite markers. *Small Rumin. Res.* 131, 64–69.
- Khaldi, G., 1984.** Variations saisonnières de l'activité ovarienne du comportement d'oestrus et de la durée de l'anoestrus post-partum des femelles ovines de race Barbarine: influence du niveau alimentaire et de la présence du mâle. Thèse de doctorat d'état. Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Academie de Montpellier, France. pp. 502.
- MARHP., 2006.** Ministère de l'Agriculture, des Ressources Hydrauliques et de la pêche. Enquête sur les structures des exploitations agricoles 2004-2005. Tunisie.
- Nei, M., 1987.** *Molecular Evolutionary Genetics.* Columbia University Press, New York, USA, pp.512.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000.** Inference of population structure using multilocus

genotype data. *Genetics* 155, 945–959.

Raymond, M., Rousset, F., 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* 86, 248–249.

Rekik, M., Ben Salem, I., Khbou-Khamassi, M., Letaïef, S., Chebbi, M., 2011. Place des biotechnologies de la reproduction dans la gestion des programmes d' amélioration génétique des ovins en Tunisie. *Options Méditerranéennes. Séries A. Mediterr. Semin.* 101, 95–101.

Szpiech, Z.A., Jakobsson, M., Rosenberg, N.A., 2008. ADZE: a rarefaction approach for counting alleles private to combinations of populations. *Bioinformatics* 24, 2498–504.

Van Oosterhout, C., Hutchinson, W., Wills, D., Shipley, P., 2004. Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes* 4, 535–538.