

*République Algérienne Démocratique Populaire*

*وزارة التعليم العالي و البحث العلمي*

*Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique*

*Université des Sciences et de la Technologie d'Oran « Mohamed Boudiaf »*



*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Génétique Moléculaire Appliquée*

**Spécialité :** Génétique moléculaire et cellulaire **Option :** Biologie moléculaire

**THESE**

Présentée par

**Madame BERBER Naima**

En vue de l'obtention du

**Diplôme de DOCTORAT**

**Thème**

*Constitution d'une biothèque d'ADN équin. Caractérisation  
génétique des races équines en Algérie par l'étude des  
microsatellites.*

*Soutenue le / / devant la commission d'examen composée de:*

<u>Qualité</u>	<u>Nom et Prénom</u>	<u>Grade</u>	<u>Etablissement d'origine</u>
Président	Mr. Djaber Abdelrazak	Professeur	USTOMB (Oran)
Examineur	Mr. BOUDJEMA Abdellah	Professeur	USTOMB (Oran)
Examinatrice	Mme. CIANI Elena	Maître de conf. A	Université de Bari -Italie
Invité	Mme. AUMASSIP Ginette	Directrice de Recherches	CNRS (Alger)
Directeur de thèse	Mr. GAOUAR Samir Bachir Souheil	Maître de conf. A	Université de Tlemcen
Co-directrice	Mme. SAIDI-MEHTAR Nadhira	Professeur	USTOMB (Oran)

*Il y a un principe qu'il ne faut jamais abandonner, être aimé par un cheval doit nous remplir d'humilité et de reconnaissance.*

*Laurent du Vivier(1988)*

# Remerciements

*Enfin, nous y voici ! Quelle aventure ... Une thèse, est un travail de longue haleine, un défi que l'on se donne à soi-même. Mais c'est surtout une formidable histoire de relations, de rencontres et d'amitié. La pratique de la recherche scientifique vous place souvent face à des questionnements intellectuels et des obstacles techniques. Les solutions se sont imposées par le fruit des multiples contacts que j'ai eu l'occasion de créer avec nombre de personnes passionnées. Cette période de doctorat aura été probablement l'un des meilleurs chapitres de ma vie. J'aimerais remercier celles et ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont participé à son écriture.*

*Mes remerciements particuliers s'adressent à mes directeurs, Professeur Saïdi-Mehtar Nadhira et le Docteur Gaouar Souheil Bachir, qui m'ont donné l'opportunité de me lancer dans cette aventure qu'est la recherche scientifique, et qui ont toujours été de bon conseil pour me faire évoluer. Merci pour leur confiance et leur patience.*

*Je remercie Pr. Saïdi-Mehtar pour la confiance qu'elle m'a témoignée en acceptant de diriger mon travail de thèse, le soutien et les conseils qu'elle m'a prodigués tout au long de ce parcours de recherche et pour tous les efforts qu'elle a faits pour que je puisse réaliser mon stage à Labogena. J'ai été particulièrement touchée par la priorité qu'elle n'a jamais cessé d'accorder à mes multiples sollicitations malgré ses nombreuses obligations. Vous m'avez conseillé et soutenu depuis mon arrivée dans votre laboratoire de recherche. Travailler avec vous est une expérience passionnante.*

*Un grand merci au Docteur Gaouar Souheil Bachir le directeur de cette thèse, qui m'a tant soutenu, conseillé et aidé. Merci Souheil, tu as toujours eu des paroles justes, encourageantes et réconfortantes. Tu as été un formateur très patient lors de mes durs combats pour la réalisation de cette thèse et tu n'as jamais failli à m'aider et à m'encourager. J'espère pouvoir encore relever de nombreux autres défis avec vous dans les prochaines années.*

*Je souhaiterais remercier les membres du jury de ma thèse qui ont accepté de juger ce travail et pour le temps qu'ils ont accordé à la lecture de cette thèse et à l'élaboration de leurs rapports:*

*Je remercie le Professeur DJABER Abdelrazak, professeur dans le Département de Biotechnologie à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf (USTO-MB) d'avoir accepté de présider ce jury.*

*C'est également avec plaisir que je remercie le Professeur BOUDJEMA Abdellah, professeur Biologie Moléculaire à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf (USTO-MB) ; pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner ce travail, pour sa disponibilité et sa gentillesse. Pour ses multiples conseils et mon initiation à la recherche scientifique lors de mon encadrement en Master2.*

*Un grand merci également à Mme. CIANI Elena, maître de conférences classe A à l'université de Bari -Italie, pour avoir accepté avec une grande amabilité de faire partie de ce jury pour examiner cette thèse et pour m'avoir fait l'honneur de sa présence à ma soutenance. Soyez assurée de ma profonde reconnaissance et de ma considération respectueuse.*

*C'est également avec plaisir que je remercie Mme. AUMASSIP Ginette, Directrice de Recherches au CNRS (Alger), pour l'intérêt dont elle a fait preuve envers ma recherche, les contacts qu'elle a mis en œuvre pour me donner accès au travail sur le terrain ainsi que pour son accueil à chaque fois que je l'ai rencontré. C'est un honneur de la compter parmi les membres de mon jury.*

*Cette thèse ne serait sans doute pas ce qu'elle est sans la collaboration de l'Institut National de Recherche Agronomique « INRA » de Jouy en Josas. Je tiens à remercier Madame Marie-Yvonne Boscher, Directrice Exécutive de Labogena, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire afin de réaliser mon stage d'apprentissage.*

*Je remercie également Monsieur Jean Claude Meriaux qui a bien accepté de m'accorder du temps pour réaliser au mieux mon stage, de m'avoir formé aux différentes techniques de laboratoire nécessaire pour la réalisation de mon projet, ainsi que pour tous ses conseils et pour sa gentillesse.*

*Je remercie plus particulièrement Monsieur Grégoire Leroy pour nos nombreuses discussions et la confiance qu'il a manifestée à l'égard de mon travail. Merci de m'avoir initié aux logiciels de la génétique des populations et de m'avoir permis de mener à bien cette étude malgré ses occupations et à son agenda surchargé en permanence. Merci aussi de m'avoir fait partager ses grandes connaissances scientifiques et sa vision de la recherche lors de la rédaction de mon article scientifique.*

*Je tiens à adresser un énorme merci à Madame Michèle Boichard et Monsieur Denis Laloe, pour leurs nombreux conseils et leurs gentillesse pour l'aide qu'ils m'ont apportée lors des analyses statistiques. J'ai eu beaucoup de plaisir à travailler à leurs côtés.*

*Je souhaiterais aussi adresser ma gratitude à Mr Jean Michel Allamellau et Mme Lucie Genestout, pour avoir été mes tuteurs pendant le mois de stage, pour leurs conseils, et leur gentillesse. Un grand merci aux techniciens de Labogena pour la très bonne intégration au sein de l'équipe technique.*

*Mon travail de doctorat a nécessité avant tout l'échantillonnage et l'enquête sur le terrain a été particulièrement facilitée par plusieurs personnes, je tiens à exprimer tout particulièrement ma reconnaissance à :*

*Monsieur. Benabdelmoumene Salim (directeur de la jumenterie de Tiaret) pour m'avoir toujours accueillie très chaleureusement au sein de son haras de Tiaret, ainsi que pour la confiance et l'intérêt qu'il a manifestés, vis-à-vis de ce travail doctoral.*

*Monsieur Rahal Karim (médecin vétérinaire). Je lui dis merci pour toutes les heures de discussion sur la stratégie de réalisation de ce projet et pour m'avoir très tôt encouragée à choisir ce sujet de thèse*

*Madame Kéballi Aïcha(médecin vétérinaire) pour le temps qu'elle m'a accordé à plusieurs reprises au cours de l'échantillonnage ainsi que pour l'intérêt qu'elle a porté à mes travaux.*

*Madame Bouziane Zhor (médecin vétérinaire), pour sa modeste collaboration, la patience et la bonne humeur qu'elle a déployées pour réaliser avec moi plusieurs sorties sur le terrain lors de l'échantillonnage.*

*Un grand merci à l'équipe du laboratoire de Génétique Moléculaire appliquée, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran (Mohamed BOUDIAF), ainsi que mes amis. Je ne saurai les nommer de peur d'en oublier. Vous m'avez apporté beaucoup de joie et de soutien. Vous avez été une équipe formidable avec laquelle j'ai partagé des moments extraordinaires.*

*Je voudrais maintenant remercier les personnes sans qui, cette thèse n'aurait été possible. Je pense tout d'abord à mes parents sans qui l'enfant que j'étais ne serait pas devenu la femme que je suis. C'est avec émotion qu'à mon tour je leur dévoile le fruit de mes efforts. J'espère être à la hauteur de leur fierté inconditionnelle. Mille mercis mes sœurs mes et frères (Noura, Nawel, Djihed, Omar, Morad et Mohamed) pour m'avoir remonté le moral, pour leurs soutiens qui m'a été bien utile durant ces années de thèse. C'est également avec plaisir que je remercie mon beau frère Hamzi Omar pour son aide précieux lors de la lecture des manuscrits et ses corrections.*

*Mes derniers remerciements et non les moindres, s'adressent chaleureusement à mon cher époux Ahmed pour son soutien moral ininterrompu, pour l'aide qu'il m'a apporté pour améliorer la qualité de ce manuscrit et ses nombreux conseils tout le long de ma thèse. Notre couple a grandi en même temps que mon projet scientifique, le premier servant de socle solide à l'épanouissement du second.*

*A toutes et tous, un grand merci !*

*Cette thèse est dédiée à ma famille  
A mon cher mari Ahmed.  
A mon ange Iness.*

## *Résumé*

La filière équine occupe une place importante dans l'histoire et l'économie de l'Algérie. Afin d'apporter des outils efficaces à la gestion des races équines algériennes, nous avons réalisé une étude de caractérisation génétique par l'utilisation d'un panel de 14 marqueurs microsatellites. Cette étude préliminaire est la première du genre dans notre pays.

Les marqueurs microsatellites ont été utilisés pour génotyper 201 chevaux appartenant à cinq races (55 Arabe- Barbe, 57 Pur-sang Arabe, 41 Barbe, 22 Pur-sang Anglais et 26 Trotteur français). Les résultats obtenus ont montré que tous les marqueurs microsatellites utilisés étaient fortement polymorphes avec un nombre d'allèles par locus variant de 6 pour le marqueur *HTG4* à 14 pour le marqueur *ASB17*. Une forte diversité génétique a été observée avec des valeurs d'hétérozygoties variant de 0.71 chez le Pur-sang Anglais à 0.77 chez l'Arabe-Barbe. Nos résultats ont permis de bien distinguer les races autochtones Barbe et Arabe-Barbe, des autres races, et de montrer que l'Arabe-Barbe était génétiquement plus proche des Barbés que des Pur- sang Arabes. D'une façon concordante, les analyses de structuration (AFC, approche bayésienne de groupement) donnent des informations plus précises sur les relations entre les différentes races, et montrent une proximité génétique entre les deux races autochtones (Barbe et Arabe-Barbe).

En conclusion, les données et les informations apportées par cette étude, représentent une base de référence, afin de préserver la variabilité génétique de nos races équines et d'améliorer les méthodes de gestion de l'élevage équin en Algérie.

**Mots clés :** Algérie; races équines; marqueurs microsatellites ; variabilité génétique.



## *Abstract*

In Algeria, the horse occupies an important space in the history. Genetic structure and breeding practices, in the horse species, were investigated in order to develop some management tools for five horse breeds, by analyzing a panel of 14 microsatellite molecular markers. This preliminary study is the first of this kind realized in Algeria.

The 14 microsatellite markers were used to genotype 201 animals (55 Arab-Barb, 57 Arabian, 41 Barb, 22 Thoroughbred and 26 French Trotter). Results showed that all markers were highly polymorphic, with a number of alleles per locus ranging between 6 (*HTG4*) and 14 (*ASB17*). High gene diversity was observed; indeed, expected heterozygosity values ranged from 0.71 in the Thoroughbred horses to 0.77 in the Arab-Barb horses. Our results showed a significant genetic variation between the native horse populations (Barb, Arab-Barb) and the other breeds, and that the Arab-Barb was genetically closer to the Barb than to the Arabian. Different genetic structure analysis approaches (AFC, Bayesian structuring) consistently highlighted the Barb and Arab-Barb as genetically more related.

In conclusion, the data and information delivered by this study provide the preliminary background knowledge needed to preserve genetic variability of the equine breeds in Algeria and improve methods of livestock management.

**Keywords:** Algeria; horse breeds; microsatellite markers; genetic variability.

## الملخص

قطاع الخيول في الجزائر يحتل مكانا هاما في تاريخ و اقتصاد البلاد. تهدف هذه الأطروحة إلى وصف و تحليل ظروف تربية الخيول و تنوعها الوراثي، كما أنها تهتم أيضا بسبل و آفاق تطوير استغلالها و تثمين منتجاتها في إطار نظم إنتاج مستديمة. تعتبر هذه الدراسة الأولى من نوعها على الخيول الجزائرية.

في إطار التقييم الوراثي للتنوع البيولوجي قمنا باستعمال 14 واسمات من نوع Microsatellites، شملت هذه الدراسة 201 خيل تنتمي إلى السلالات التالية (Barbe 55، Pur-sang Arabe 57، Arabe-Barbe 41، Pur-sang Anglais 22 و Trotteur Français 26). مكنت هذه الواسمات من الكشف عن 123 أليل في العشيرة الكلية و تحديد التنوع داخل و بين العشائر المدروسة، أظهرت النتائج أن نسبة الواسمات مرتفعة نسبيا فيما يخص التنوع داخل العشيرة الكلية. كما ان مصفوفة المسافات الوراثية اعطت قيم (Hnb) تغاير بين 0.71 في الإنجليزي الاصيل و 0.77 في العربي الاصيل. أظهرت النتائج التي توصلنا إليها تمييز واضح بين السلالات المحلية و السلالات الأخرى، وتبين أن Arabe-Barbe أقرب جينيا إلى Barbe منه إلى العربي الاصيل . باستعمال طرق دراسة تقارب الاجناس (AFC, approche bayésienne de groupement) و التي تعطي معلومات أكثر دقة عن العلاقات بين مختلف الأعراق، تبين ان هناك قرب جيني كبير بين السلالتين المحلية.

في الختام، فإن البيانات والمعلومات التي تقدمها هذه الدراسة تمثل الأساس للحفاظ على التنوع الجيني لسلالات الخيول لدينا وطرق تحسين إدارة تربية الخيول في الجزائر.

**كلمات المفاتيح:** الجزائر ; سلالات الخيول ; الواسمات الوراثية ; التنوع الوراثي.

# Production scientifique

Ce travail de thèse a fait l'objet d'une publication et des communications suivantes :

## Publication

- **Berber, N.**, Gaouar, S., Leroy, G., Kdidi, S., Tabet Aouel, N. and Saïdi Mehtar, N. (2014), *Molecular characterization and differentiation of five horse breeds raised in Algeria using polymorphic microsatellite markers*. Journal of Animal Breeding and Genetics, 131: 387–394.

## Communications

### Orales

- **Berber N.**, Gaouar S., Leroy G., Kdidi S. and Saïdi Mehtar, N. Analysis of population genetic diversity in Algerian horse breeds. Cinquième Journées Scientifiques Internationales sur la Valorisation des Bioressources. 02-04 Mai 2014. Monastir, Tunisie.

## Affichées

- **Berber N.**, Gaouar S., Tabet-Aoul N. et Saïdi-Mehtar N. Constitution d'une bibliothèque d'ADN équin et caractérisation génétique des races équines en Algérie par l'utilisation de microsatellites. Application au contrôle de filiation. Premier séminaire international d'étude Agriculture Biologique et Développement Durable, Oran, 13-14 Février 2011.
- **Berber N.**, Gaouar S., Tabet-Aoul N. et Saïdi-Mehtar N. Etude de la biodiversité : analyse de la variabilité génétique des races équines algériennes et de leurs relations phylogénétiques par l'utilisation des microsatellites. Premier congrès international «L'aide à l'agriculture algérienne », Annaba, Algérie, 22-24 Novembre 2011.
- **Berber N.**, Gaouar S.B.S., Tabet-Aoul N. et Saidi-Mehtar N. Diversité phénotypique et constitution d'une bibliothèque ADN équin en Algérie. Premières journées de Génétique Moléculaire Appliquée, Oran, 4 et 5 Décembre 2011.
- **Berber N.**, Gaouar S., Leroy G., Kdidi S. and Saïdi Mehtar, N. Barb and Arab-Barb breeds diversity: comparing genealogical and molecular data. Cinquième Journées Scientifiques Internationales sur la Valorisation des Bioressources. 02-04 Mai 2014. Monastir, Tunisie.

# Table des matières

<b>Liste des figures</b> .....	I
<b>Liste des tableaux</b> .....	III
<b>Liste des annexes</b> .....	IV
<b>Liste des abréviations</b> .....	V
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Revue bibliographique</b> .....	4
I- Généralités et présentation .....	5
1- Taxonomie .....	5
2- Origine et évolution des chevaux .....	5
3- Domestication du cheval .....	6
4- Physiologie Équine .....	7
4-1 Généralités .....	7
4.2. Sens du cheval .....	8
4.3. Alimentation .....	8
4.4. Reproduction .....	8
4.5. Locomotion et allures .....	9
5- Thérapie Équine .....	10
6- Classification, notion de race.....	11
7- Génome Équin.....	12
II- Filière équine en Algérie et système d'élevage .....	14
1- Historique du cheval en Algérie.....	14
2- Effectifs de la production équine et son évolution en Algérie.....	15
3- Répartition géographique de l'élevage équin.....	16
4- Les races équines en Algérie.....	17
4-1- Races autochtones.....	17
4-1-1- Race Barbe.....	18
4-1-2- Race Arabe-Barbe .....	20
4-2- Races induites .....	20
4-2-1- Race Pur-sang Arabe.....	20
4-2-2- Race Pur-sang Anglais.....	21
4-2-3- Race Trotteur Français.....	22
5- Caractérisation des élevages de chevaux.....	23
6- Organisation de la filière équine.....	25
6-1- Office national du développement des élevages équins et camelins .....	25
6-2- Société des courses hippiques et du pari mutuel (SCHPMU).....	25
6-3- Organisation mondiale du cheval barbe (OMCB).....	26
6-4- Fédération équestre algérienne (FEA).....	26
6-5- Associations nationales d'éleveurs .....	26
6-6- Fédération équestre algérienne.....	26
6-7- Mouvement associatif .....	27

7- Usages des chevaux en Algérie .....	27
7-1- Utilisations traditionnelles du cheval .....	27
7-1-1- Fantasia.....	27
7-1-2- Travail agricole.....	28
7-2- Utilisations modernes du cheval.....	28
7-2-1- Attelage.....	28
7-2-2- Concours complet.....	28
7-2-3- Dressage.....	29
7-2-4- Raids d'endurance.....	29
7-2-5- Saut d'obstacles.....	30
7-2-6- Courses hippiques.....	30
7-2-7- Tourisme équestre.....	30
III- Biodiversité et ressources zoogénétiques .....	31
1- Importance de la biodiversité des animaux d'élevage .....	31
2- Origine de la diversité génétique .....	32
2-1- Polymorphisme génétique .....	32
2-2- Forces évolutives .....	33
2-2-1 Dérivé génétique.....	33
2-2-2 Migration.....	34
2-2-3 Sélection naturelle.....	34
3- Méthodes de caractérisation des animaux d'élevage .....	34
3-1- Méthode morpho-biométrique .....	35
3-2- Méthodes immunogénétique ou biochimique .....	35
3-2-1 Groupes sanguins .....	35
3-2-2 Protéines.....	35
3-3- Méthodes moléculaires.....	36
3-3-1- Marqueurs d'ADN mitochondrial.....	36
3-3-2- Marqueurs RFLP.....	37
3-3-3- Marqueurs RAPD.....	37
3-3-4- Marqueurs AFLP.....	37
3-3-5- Marqueurs microsatellites.....	38
3-3-6- Marqueurs SNP.....	39
4- Programmes de conservation des ressources génétique animales.....	40
<b>Problématique et objectifs.....</b>	<b>42</b>
<b>Population d'étude et méthodes.....</b>	<b>45</b>
I- Population d'étude.....	46
1- Principe d'échantillonnage .....	46
2- Echantillonnage des populations d'études .....	46
II- Méthodes d'analyse génétique .....	48
1- Extraction d'ADN et dosage .....	48
2- Choix des marqueurs moléculaires utilisés.....	48

3- Amplification in vitro de l'ADN par PCR.....	51
4- Dépôt sur séquenceur.....	51
5- Génotypage des microsatellites.....	51
<b>III- Méthodes d'analyses statistiques.....</b>	<b>52</b>
1- Logiciels utilisés .....	52
2- Principes des analyses faites en génétique des populations .....	53
2-1- Equilibre d'Hardy Weinberg.....	53
2-2- Déséquilibre de liaison.....	53
2-3- Analyse de la diversité intra-population.....	54
2-3-1 Taux de polymorphisme des marqueurs microsatellites.....	54
2-3-2 Fréquences alléliques.....	54
2-3-3 Taux d'hétérozygoties.....	55
2-3-4 Nombre d'allèles et richesse allélique.....	55
2-3-5 Indice de fixation.....	56
2-4- Analyse de la diversité inter-populations .....	56
2-4-1- Étude des liens génétiques entre populations.....	57
2-4-1-1- Paramètres de différenciation des populations.....	57
2-4-1-2- Flux génétique entre populations.....	58
2-4-1-3- Utilisation des distances génétiques.....	58
2-4-1-4- Analyses factorielles des correspondances.....	60
2-4-1-5- Méthodes de clustering.....	60
2-4-2- Méthodes d'affectation des individus à une population.....	61
2-4-2-1- Test d'affectation individuel.....	61
2-4-2-2- Arbre individuel.....	61
2-4-2-3- Méthode de clustering.....	61
2-5- Les contrôles de filiation.....	62
<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>64</b>
I- Résultats d'analyses génétiques.....	65
1- Résultats de génotypages des microsatellites.....	65
2- Erreur de génotypages des microsatellites .....	66
II- Résultats d'analyses statistiques.....	67
1- Equilibre d'Hardy Weinberg .....	67
2- Déséquilibre de liaison.....	69
3- Variabilité génétique intra-population.....	70
3-1- Taux de polymorphisme des marqueurs microsatellites.....	70
3-2- Fréquences alléliques.....	71
3-3- Taux d'hétérozygoties.....	72
3-4- Nombre total d'allèle et richesse allélique.....	74
4- Variabilité génétique inter-populations.....	75
4-1- Étude des liens génétiques entre populations.....	75
4-1-1- Paramètres de différenciation des populations.....	75

4-1-2- Flux des gènes.....	79
4-1-3- Distances génétiques et établissement des phylogénies.....	79
4-1-4- Analyse factorielle des correspondances.....	80
4-1-5- Méthodes de clustering.....	82
4-2- Méthodes d'affectation des individus à une population.....	83
4-2-1- Affectation des animaux par GENE CLASS 2.....	83
4-2-2- Affectation des animaux par arbre individuelle.....	85
5. Validation du panel de 14 marqueurs pour le contrôle de filiation.....	86
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>95</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>99</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>109</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Schéma de l'évolution des équidés. ....	6
<b>Figure 2.</b> La morphologie du cheval.....	7
<b>Figure 3.</b> Les différentes allures naturelles du cheval. ....	10
<b>Figure 4.</b> Caryotype du cheval domestique obtenu par la méthode des banding G. ....	13
<b>Figure 5.</b> Restes osseux de l'espèce <i>Equus algericus</i> situés au Sud Est de Tiaret et à Hydra ....	14
<b>Figure 6.</b> Schéma d'évolution de l'élevage équin en Algérie.....	15
<b>Figure 7.</b> Aire de répartition de l'élevage équin dans le territoire Algérien.....	16
<b>Figure 8.</b> Cheval Barbe de la jumenterie de Tiaret «Haras National Chaouchaoua». ....	18
<b>Figure 9.</b> Cheval Arabe-Barbe de la jumenterie de Tiaret «Haras National Chaouchaoua». ....	19
<b>Figure 10.</b> Cheval Arabe de la jumenterie de Tiaret «Haras National Chaouchaoua».....	20
<b>Figure 11.</b> Cheval Pur-sang Anglais de l'hippodrome d'Oran.....	21
<b>Figure 12.</b> Cheval Trotteur Français de l'hippodrome de Zemmouri.....	22
<b>Figure 13.</b> Pourcentage de nombre de juments saillies par élevage. ....	23
<b>Figure 14.</b> Les différents types des éleveurs équins en Algérie. ....	24
<b>Figure 15.</b> Spectacle équestre traditionnel de Fantasia.....	27
<b>Figure 16.</b> Information nécessaire pour l'établissement des stratégies de gestion. ....	41
<b>Figure 17.</b> Carte des sites d'échantillonnage en Algérie pour les cinq races étudiées.....	47
<b>Figure 18.</b> Exemple d'un électrophérogramme obtenu pour onze microsatellites marqués par les fluorophores (6-Fam, Hex et Ned) .....	52
<b>Figure 19.</b> Exemple des profils tri ou tétra-alléliques pour certain microsatellites.....	63
<b>Figure 20.</b> Nombre d'allèles par marqueur microsatellite.....	72
<b>Figure 21.</b> Arbre Neighbour-Joining basé sur la distance de Reynolds pour les cinq races équines.....	81
<b>Figure 22.</b> Représentation par AFC dans l'espace de 3-dimensions des échantillons de cinq races équines étudiées.....	83



**Figure 23.** Détermination de la valeur de  $K$  la plus vraisemblable selon la méthode Evanno *et al.* (2005), ..... 83

**Figure 24.** Analyse par le logiciel Structure de cinq populations équines Algériennes, montrant la structuration des génotypes pour des valeurs de  $K$  comprise entre 2 à 9. .... 84

**Figure 25.** Arbre de classification des individus basé sur les distances génétiques par paire entre les animaux estimées par le logarithme de la proportion d'allèles partagés. .... 87

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Caractéristiques du panel de 14 marqueurs microsatellites utilisés dans cette étude.....	50
<b>Tableau 2.</b> Liste des logiciels bioinformatiques utilisés dans les analyses statistiques de cette étude. ....	52
<b>Tableau 3.</b> Microsatellites en déséquilibre de Hardy-Weinberg ( $p < 0.0035$ ) pour les cinq populations étudiées.....	69
<b>Tableau 4.</b> Les allèles privés ainsi que leurs fréquences pour les cinq populations étudiées. ....	72
<b>Tableau 5.</b> Taux d'hétérozygotie par microsatellite et par population. ....	73
<b>Tableau 6.</b> Valeurs des $F_{IS}$ par locus et par population. ....	76
<b>Tableau 7.</b> Valeurs de $F_{ST}$ entre les paires de cinq populations. ....	77
<b>Tableau 8.</b> Paramètres $F$ -statistiques selon la méthode de Weir & Cockerham (1984).....	78
<b>Tableau 9.</b> Flux des gènes entre les paires des cinq populations équines. ....	79
<b>Tableau 10.</b> Distance génétique de Reynolds entre les paires des cinq populations équines étudiées.....	79
<b>Tableau 11.</b> Paramètres génétiques du panel de microsatellites de contrôle de filiation.....	88

## *Liste des annexes*

<b>Annexe 1.</b> Questionnaire d'échantillonnage.....	100
<b>Annexe 2.</b> Le protocole d'extraction d'ADN a partir du sang total par la technique NACL « Salting Out ».....	102
<b>Annexe 3.</b> Distribution des fréquences alléliques par population et par locus.....	104

## Liste des abréviations

- %**: Pourcentage  
**°C**: Celsius  
**µl** : Microlitre  
**µM**: Micromolaire  
**AB** : Arabe-Barbe  
**AR** : Pur-sang Arabe  
**A<sub>R</sub>** : Richesse Allélique  
**ADN**: Acide DésoxyriboNucléotide  
**ADNmt**: ADN mitochondrial  
**AFLP**: Amplified Fragment Length Polymorphism  
**ARNm**: ARN messenger  
**BA**: Barbe  
**BET**: Bromure d'Éthidium  
**CCE**: Concours Complet d'Equitation  
**CSO** : Concours de Saut d'Obstacles  
**dNTP** : DésoxyNucléotides TriPhosphates  
**D-loop** : Displacement loop  
**DO** : Densité Optique  
**DS**: Déviation Standard  
**DSA** : Direction de Santé Animale  
**EDTA**: Ethylène Diamine Tétra Acétique  
**EST** : Expressed Sequence Tag  
**FAO**: Food and Agriculture Organization  
**F<sub>IS</sub>** ; Indice de Fixation  
**FEA** : Fédération Équestre Algérienne  
**FEI** : Fédération Équestre Internationale  
**F (ab)** : Fragment antigen-binding  
**Gb**: Giga bases  
**HWE**: Hardy-Weinberg Equilibrium  
**IgG** : immunoglobulines de type G

**INRA:** Institut National de la Recherche Agronomique  
**ITELV:** Instituts Techniques d'Élevage  
**ISAG:** International Society for Animal Genetics  
**K:** cluster  
**kb:** KiloBase  
**kg :** Kilogramme  
**km:** Kilometre  
**MgCl<sub>2</sub>:** Chlorure de Magnésium  
**Mb :** Megabase  
**Min :** Minute  
**ml :** Millilitre  
**mM:** MiliMolaire  
**MP :** Multiplexe  
**MT:** Marqueur de Taille  
**n:** Nombre  
**NaCl :** Chlorure de sodium  
**NHGRI:** National Human Genome Research Institute  
**nm:** Nanomètre  
**OMCB:** Organisation Mondiale du Cheval Barbe  
**ONDEEC :** Office National du Développement de l'Élevage Équin et Camelin  
**p:** signification statistique  
**pb:** Paires de base  
**PCR:** Polymerase Chain Reaction  
**PMU :** Pari Mutuel Urbain  
**PS :** Pur-sang Anglais  
**RAPD:** Random Amplified Polymorphic DNA  
**RFLP :** Restriction fragment length polymorphism  
**RGA :** Ressources Génétiques Animales  
**SAV :** Sérums Antivenimeux  
**SCHPMU:** Société des Courses Hippiques et du Pari Mutuel

**Sec:** Second

**SNP:** Single Nucleotide Polymorphism

**STR:** Short Tandem Repeats

**Taq:** Thermus Acquaticus

**TF:** Trotteur Français

**T-G:** Thymine-Guanine

**U:** Unité

**USA :** États-Unis d'Amérique

**USTO-MB :** Université des Sciences et de la Technologie d'Oran-Mohamed BOUDIAF-

**UV:** Ultra violet

**V:** Volts

**VNTR:** Variable Number of Tandem Repeats

**WAHO:** World Arabian Horse Organisation

# *Introduction*



La biodiversité dans l'agriculture est le produit de milliers d'années d'activité au cours desquelles l'homme a cherché à satisfaire ses besoins dans des conditions climatiques et écologiques très différentes. En effet, la variabilité génétique d'une espèce représente son potentiel évolutif, qui permet notamment l'adaptation des espèces face aux variations environnementales ou à la résistance aux nouvelles maladies.

En Algérie, les ressources génétiques animales offrent une grande diversité de races quant à leur adaptation et leur aptitude de production dans leur environnement naturel. Les équins ne font pas exception à ce constat. Ils constituent à ce titre une richesse variée, avec une grande importance économique et socio-culturelle. La filière équine occupe une place de choix dans l'histoire et l'économie de l'Afrique du nord. En Algérie, le cheval constitue un véritable acteur de développement durable notamment dans le domaine environnemental, en jouant un rôle particulier dans une gestion des espaces et des paysages bénéfiques au maintien et au développement de la biodiversité, mais également dans son rapport avec l'homme en contribuant par ailleurs aux activités sportives, sociales et culturelles. Dans ce contexte, le développement de l'élevage équin nécessite sa rationalisation et par conséquent l'emploi des techniques modernes de gestion des ressources génétiques équines.

La population équine Algérienne, estimée à 250.000 chevaux, est constituée à 90% de chevaux Barbe et Arabe Barbe. Les 10% restant se répartissent entre chevaux Arabe, Pur-sang Anglais et Trotteur Français (**Rahal et al, 2009**). Malgré la modernisation de l'agriculture, le cheval en Algérie tient une place non négligeable dans la vie économique et sociale du monde rural. En effet, les chevaux Barbe et Arabe Barbe sont utilisés pour les travaux agricoles, de remonte et de fantasia. À cela, s'ajoute leur utilisation croissante dans les sports équestres (concours complets, raid d'endurance et équitation) et les courses dites régionales. Quant aux chevaux Pur-sang Arabe, Pur-sang Anglais et Trotteur Français, ils sont essentiellement utilisés dans les courses hippiques et les loisirs équestres.

La caractérisation génétique des animaux d'élevage englobe toutes les activités d'identification des ressources zoogénétiques du pays et l'enquête sur ces ressources. Son but est d'obtenir une meilleure connaissance des ressources, de leurs utilisations actuelles et futures. Ainsi, les renseignements obtenus par le processus de caractérisation favorisent une prise de décision éclairée sur les priorités de la gestion des ressources par les différents groupes d'intérêt, dont les agriculteurs, les gouvernants au niveau national et régional.





Les variations des caractères morphologiques et des protéines ont été les premiers marqueurs utilisés pour les études génétiques dans le secteur de l'élevage. Cependant, le niveau de ces variations est très faible, ce qui limite beaucoup leur application aux études sur la diversité génétique. Par contre, les progrès de la biologie moléculaire, pendant ces deux dernières décennies, ont permis la mise en évidence des marqueurs au niveau de l'ADN. Ainsi les microsatellites sont devenus les marqueurs de choix lors des études la caractérisation génétique.

L'information sur la diversité génétique est essentielle pour optimiser les stratégies de conservation et d'utilisation des ressources zoogénétiques. Pour l'ensemble de ces raisons, notre travail s'inscrit dans le contexte de la présente stratégie. Elle s'intéresse à la fois à la caractérisation génétique du cheptel équin national, et aussi l'étude des relations phylogénétiques entre les races. Cette étude sera basée sur l'analyse de marqueurs ADN de type microsatellites, en utilisant les techniques innovantes de biologie moléculaire et de bioinformatique.

Dans la revue bibliographique de cette thèse, nous rappellerons tout d'abord le contexte dans lequel évoluent l'espèce équine et son élevage. La partie « Matériels et méthodes » présentera le procédé suivi pour réaliser une enquête sur le terrain qui a visé à établir les répartitions géographiques actuelles des races équines algériennes, ainsi que la réalisation d'une biothèque d'ADN équin. Au niveau de « Résultats et discussion » nous présenterons d'une part l'analyse de la variabilité génétique des races équines étudiées, et d'autre part l'analyse de leurs relations phylogénétiques. Et pour finir, nous aborderons une conclusion générale qui synthétise les résultats obtenus et mettront en évidence quelques perspectives de recherche à envisager à l'avenir.

# *Revue Bibliographique*

---



## I. GENERALITES ET PRESENTATION

### 1. Taxonomie

Le cheval (*Equus caballus*) est un mammifère herbivore de la famille des équidés, appartenant à l'ordre des ongulés, animaux dont les pieds sont terminés par des productions cornées (Ongles, sabot), sous-ordre des périssodactyles, c'est-à-dire les ongulés munis d'un nombre impair de doigts, dont le médian est le plus développé et assure le principal appui au sol. De tous les animaux, le cheval a sans conteste toujours eu une place privilégiée auprès des hommes et leurs rapports n'ont cessé d'évaluer à travers l'histoire de l'humanité. Considéré comme un animal de valeur, il assurait des fonctions particulièrement nobles, telles que conduire un haut dignitaire au combat, à la parade ou la chasse. Il est aussi utilisé aussi pour le transport, le sport et le loisir. Dans la préhistoire, il y a 50 millions d'années, le cheval fut une proie pour l'homme comme en témoignent les peintures ornant les grottes habitées par l'homme de Cro-Magnon (Genory, 1977). Des fossiles de cette période ont été retrouvés dans le sud des Etats-Unis et en l'Europe, ce qui a permis de reconstituer l'ancêtre le plus lointain du cheval (Lehmann & Steppan, 2000).

### 2. Origine et évolution des chevaux

Les historiens et les archéologues sont d'avis que le plus vieux ancêtre du cheval que l'on connaît vivait il y a environ 50 millions d'années (Lehmann & Steppan, 2000). En fait, l'évolution du cheval est relativement bien connue. Les premiers chevaux avaient la taille d'un renard d'environ 40 cm au garrot et possédant quatre doigt à chaque pied et des dents adaptées à brouter les feuilles tendres. Le schéma classique de l'évolution de cet animal est celui d'une transformation d'un petit animal jusqu'au véritable cheval moderne du genre *Equus Caballus* (Figure 1). L'évolution de cette espèce a eu lieu sur le continent nord-américain, d'où l'*Equus* émigra ensuite en Asie, en Europe et en Afrique (Thiongane, 1977).

À la fin du Pléistocène (il y a environ 10 mille ans), les espèces vivant sur le continent américain se sont éteintes pour des raisons encore inconnues. Le cheval fait son apparition à nouveau sur ce continent après la découverte de l'Amérique par Christophe Colomb (Campanes, 1983).

La disparition progressive des doigts latéraux au profit d'un seul doigt médian constitue la manifestation la plus importante de l'évolution des équidés. On considère que cette modification a été provoquée par la nécessité d'augmenter la vitesse de la course. Parallèlement, la taille et la puissance des chevaux ont augmenté. De même, la dentition a



également subi une transformation fondamentale adaptée à leur nouveau régime alimentaire, les premiers chevaux, qui se nourrissaient de feuillages tendres, ont modifié leur alimentation avec l'apparition des paysages des grandes plaines (Thiongane, 1977).

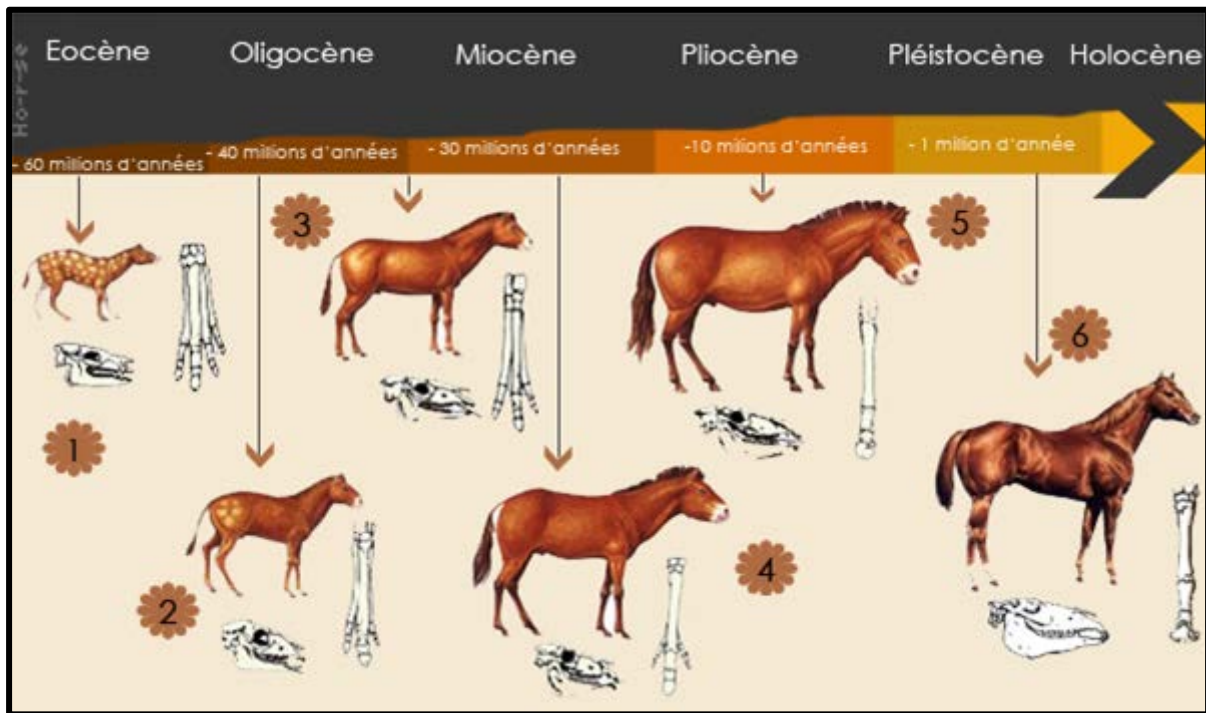


Figure 1. Schéma d'évolution des équidés. Tirée du site :

<http://ho-r-se.skyrock.com/tags/kCMNJiwV95P-evolution-du-cheval.html>

### 3. Domestication du cheval

Le cheval fut le dernier animal à être domestiqué avec succès par l'homme. La vigueur, la méfiance et l'agressivité des chevaux sauvages ont sans doute été longtemps dissuasives.

La domestication du cheval a commencé il y a environ 4 000 à 5 000 ans dans les steppes russo-asiatiques. Elle s'est bien développée après celle du chien, des chèvres, des moutons et des bœufs. On ne sait pas si ce sont les peuples sédentaires ou les nomades qui les premiers ont domestiqué le cheval (Eisemann, 1980). Quoi qu'il en soit, l'homme du néolithique va l'employer pour des tâches quotidiennes, attelé à des traîneaux ou à des charrues (Vigner, 1968).

Des études génétiques ont montré qu'il devait exister deux types de chevaux sauvages, notamment des petits chevaux à crinière dressée, comme le tarpan (*Equus ferus ferus*) qui vivaient plutôt en milieu découvert (steppes, prairies), et des chevaux plus massifs



Prjevalski (*Equus ferus przewalskii*), qui vivaient en forêt. La domestication du cheval se serait produite en différents lieux, les diverses races actuelles de chevaux domestiques (*Equus ferus caballus*) trouvant leur origine chez l'une ou l'autre de ces formes sauvages (Vigneron, 1968).

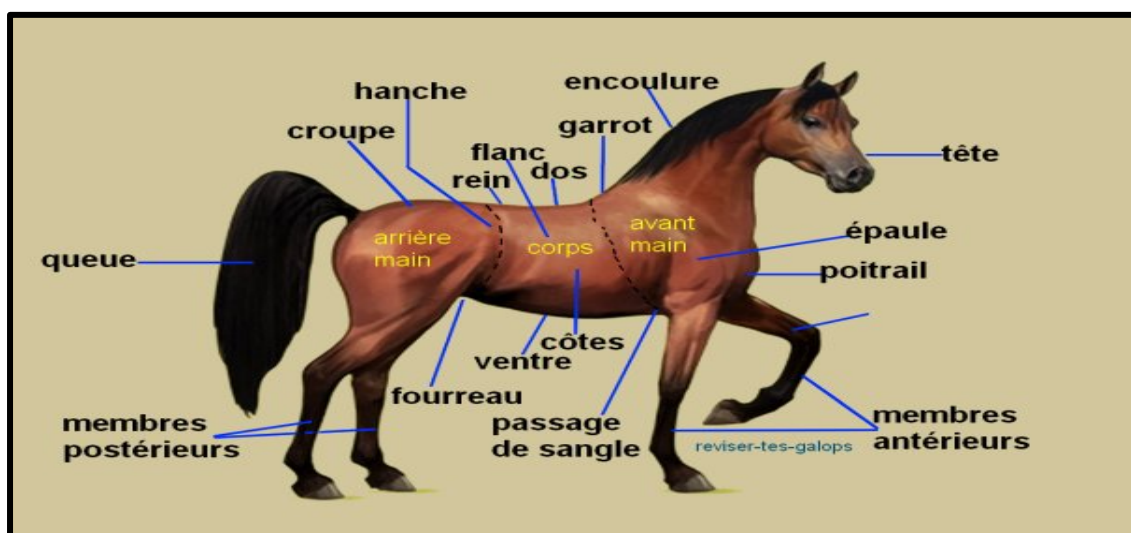
## 4. Physiologie équine

### 4.1. Généralités

Le poids des chevaux est très variable, un cheval de selle adulte pèse environ 500 kg, les plus lourds des chevaux de trait peuvent atteindre 1 200 kg. Par ailleurs, un particulier ne possède pas de balance adaptée à la taille de sa monture. Une estimation du poids s'avère cependant nécessaire pour adapter l'alimentation du cheval à ses besoins et pour l'administration de bon nombre de traitements.

Le cheval vit en moyenne 20 à 30 ans. Les poneys et les chevaux dits « lourds » vivent en moyenne plus longtemps que d'autres races. L'espérance de vie d'un cheval domestique est allongée grâce aux soins que l'homme leur apporte, et certains chevaux peuvent atteindre les 40 ans.

Le cheval se compose de trois parties externes principales comme on peut le voir sur la Figure 2: l'avant-main (la tête, l'encolure et les membres antérieurs), l'arrière-main (la croupe, les hanches, les membres postérieurs et la queue) et le corps qui est la partie centrale. Au repos, un cheval a une fréquence cardiaque moyenne de 32-44 battements par minute pour un adulte et de 50 à 70 pour un poulain. C'est une moyenne qui peut varier suivant le cheval (taille, caractère...) et suivant des facteurs externes (stress, efforts...).



**Figure 2.** La morphologie du cheval. Tirée du site : <http://houpette99.over-blog.com/categorie-12290518.html>



## **4.2. Sens du cheval**

Le cheval dispose de cinq sens mais certains parlent même d'un sixième sens. Les sens les plus développés chez le cheval sont l'odorat, l'ouïe et le toucher. Par exemple, les vibrisses de son menton composant la barbe, lui permettent de reconnaître ce qu'il ne voit pas; tandis que son odorat lui permet d'identifier les individus, les plantes (éventuellement toxiques ou comestibles), et ce jusqu'à plus de 2 km de distance.

Le cheval dispose d'un angle de vue de 340 degrés, avec seulement deux angles morts situés exactement devant et derrière lui, sa vision lui permet de voir sur les côtés comme la cravache du cavalier, mais il ne voit pas une main posée directement sur son chanfrein ou si quelque chose lui est présenté au niveau de sa bouche. Pour cette raison, il faut lui faire sentir la main avant de le caresser pour ne pas le surprendre. Certains chevaux devenus aveugles peuvent tout de même vivre à peu près normalement, ils se font aider d'un congénère. Un cheval aveugle fut même champion de France de dressage en 1999.

## **4.3. Alimentation**

Le cheval est très sensible à l'équilibre de son alimentation et à son environnement. Il faut raisonner les apports en fonction de son activité (sport, course, traction...) et de son statut physiologique (croissance, entretien, reproduction...). Pour définir au plus juste ses besoins, il est indispensable d'observer l'état du cheval (son poids, son état corporel, son comportement).

Le cheval est nourri avec des fourrages (foin, paille, avoine, orge), éventuellement complétés par d'autres aliments (seigle, blé, maïs, riz, féverole, son, tourteau), qui apportent les quantités nécessaires d'énergie, de protéines et de vitamines. Les chevaux en pâturage se nourrissent d'herbe composée de 70 % de graminées, 20 % de légumineuses et 10 % de diverses plantes. L'herbe n'est pas très énergétique et le cheval au champ doit en brouter beaucoup (environ 40 kg par jour) pour subvenir à ses besoins. Généralement les chevaux boivent environ 20 à 40 litres d'eau par jour et jusqu'à deux fois plus en été ou pour les chevaux lourds.

## **4.4. Reproduction**

Chez le cheval, l'instinct sexuel se manifeste dès l'âge d'un an. La puberté est atteinte à 2ans. La fécondation se fait de plus en plus souvent par insémination artificielle avec du sperme congelé, dans les pays développés. Cette technique permet aux éleveurs de disposer facilement d'un large choix de géniteurs mâles pour leurs poulinières. Dans la nature, les



poulains naissent en général au printemps. La durée de gestation est en moyenne de onze mois (310 à 360 jours) et la jument ne donne naissance qu'à un seul poulain à la fois sauf exception. Ce processus est appelé le poulinage. À la naissance, le poulain pèse environ une quarantaine de kilogrammes et son poids double au cours du premier mois. Le poulain sait marcher moins d'une heure après la naissance et dispose de la vision dès la naissance. Le poulain devient adulte entre deux et cinq ans suivant la race à laquelle il appartient. Certains sont plus précoces que d'autres. Le cheval peut s'accoupler avec d'autres équidés. Le produit d'un étalon et d'une ânesse est un bardot, celui d'un baudet et d'une jument est un mulot ou une mule.

#### 4.5. Locomotion et allures

Pour se déplacer, le cheval mobilise ses membres dans un certain ordre qui permet de caractériser les allures (**Figure 3**), c'est-à-dire les différentes façons de se déplacer. Les allures sont classées en trois catégories qui sont les allures naturelles, les allures artificielles et les allures défectueuses.

✓ **Les allures naturelles** sont exécutées d'instinct par le cheval et dont font partie notamment le pas, le trot, le galop et le saut.

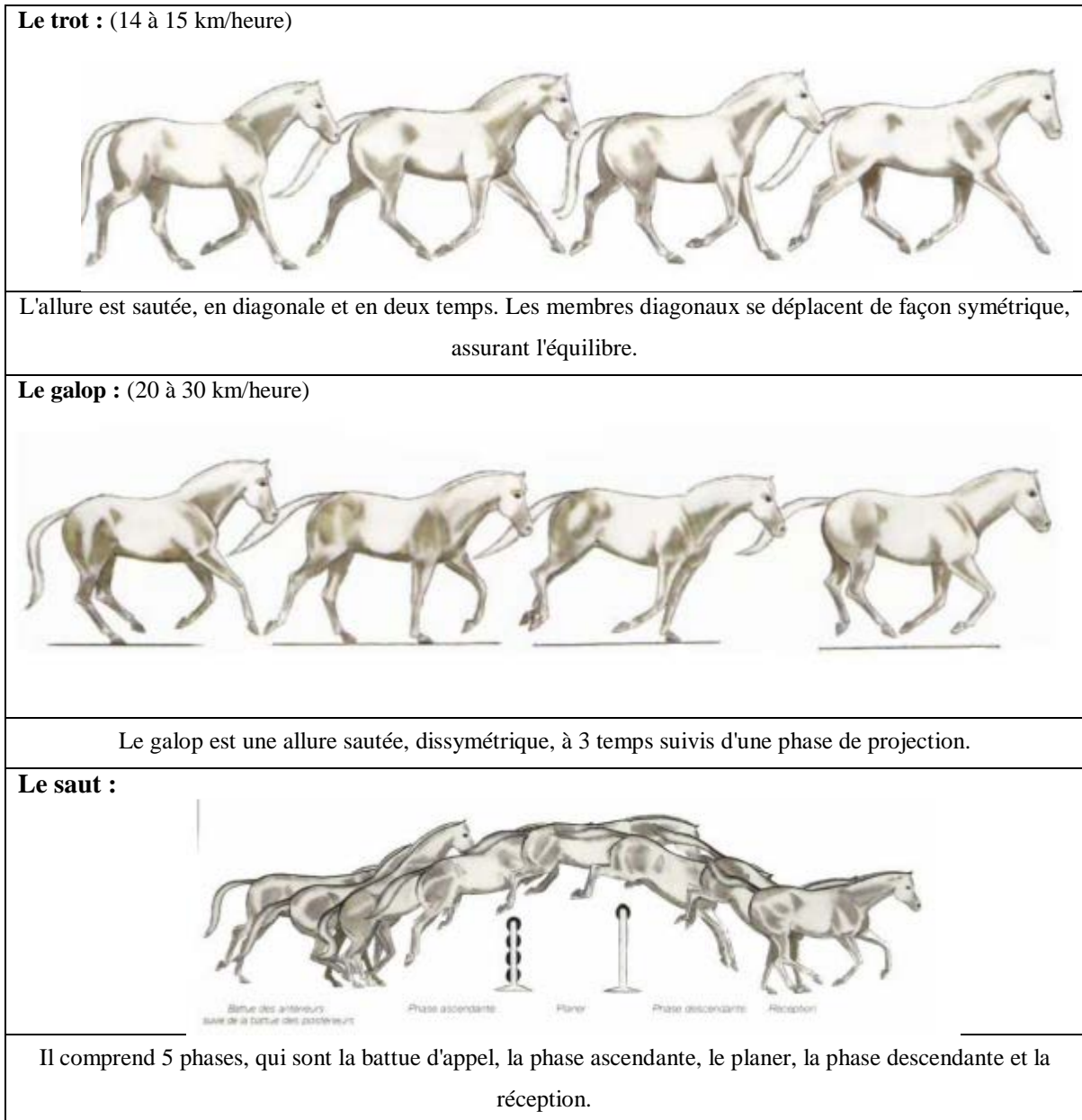
✓ **Les allures artificielles** sont acquises par le dressage, comme le passage, issu du trot, le pas d'école, le pas espagnol.

✓ **Enfin, les allures défectueuses** résultent d'une douleur ou d'une mauvaise utilisation du cheval, comme l'aubin du devant (trot des postérieurs et galop des antérieurs), l'aubin du derrière (trot des antérieurs et galop des postérieurs), le traquenard (trot décousu ou désuni par dissociation des bipèdes diagonaux), le galop désuni (galop à droite des postérieurs et galop à gauche des antérieurs, ou vice-versa).

**Le pas :** (6 à 7 km/heure)



Le pas est une allure à quatre temps. C'est l'allure la plus lente du cheval. Le corps est toujours appuyé sur trois de ses membres, un seul à la fois étant soulevé.



**Figure 3.** Les différentes allures naturelles du cheval. Tirée du site : [www // Physiologie et anatomie équine.http](http://www.physiologie-et-anatomie-equine.com)

## 5. Thérapie équine

L'aventure de l'homme avec le cheval a commencé il y a plusieurs millénaires, à travers sa domestication et l'exploitation de ses nombreuses qualités dans des domaines très variés que sont le transport, le sport, l'agriculture, le loisir, la guerre et la biothérapie.

Le domaine de la biothérapie a développé une gamme des produits biologiques d'origine équine avec des applications diverses. Ces applications ne sont pas toujours appréhendées surtout dans nos pays. Ainsi, les sérums thérapeutiques sont les médicaments biologiques d'origine équine les plus connus. Ils se présentent généralement sous forme de solutions, ayant pour principe actif soit les immunoglobulines G (IgG), soit leurs fragments





bivalents F(ab')<sub>2</sub> ou simplement leurs fragments F(ab) (**Salwa et al, 2003**). Les formes les plus connues sont les sérums antivenimeux (SAV), les sérums antirabiques, les sérums antitétaniques et les sérums antidiptériques (**Klasset, 2006**).

Le lait de jument contient les mêmes constituants de base que celui de toutes les espèces de mammifères, mais se différencie nettement de celui des autres herbivores domestiques exploités pour leur production laitière (bovins, ovins, caprins) par des teneurs en matière azotée et en lipides plus faibles et surtout de qualité très différente. De part sa teneur en lactose élevée, il s'apparente beaucoup au lait de femme et, à ce titre, il a souvent été employé comme substitut du lait de femme.

Le rôle thérapeutique du lait de jument serait dû, d'une part à une activité antibiotique, d'autre part à sa richesse en acides gras poly-insaturés qui agiraient défavorablement dans le métabolisme du cholestérol et favoriseraient ainsi la synthèse des prostaglandines. Ce rôle est mis à profit dans les soins de la peau, le traitement des maladies digestives, cardiaques, pulmonaires et diabétiques. En France, le lait de jument est prescrit sous trois formes (**Klasset, 2006**) :

- ❖ *Liquide cryo-précipité*: lait congelé en pack de 250 ml pour cure d'un à deux mois.
- ❖ *Poudre lyophilisée*: boîte pour cure d'un à deux mois à raison de 125 ou 250 ml par jour.
- ❖ *Gélules végétales*: lait en poudre lyophilisée et compactée.

## 6. Classification et notion de race

De nos jours, la classification des chevaux est établie à partir de la race. Les races issues de l'espèce chevaline sont nombreuses et variées. Cette grande diversité a pour origine leur adaptation à l'environnement (type de nourriture, résistance aux hautes températures ou encore sûreté de pied en terrain montagneux), et surtout l'élevage sélectif puis les croisements opérés par l'homme sur le cheval domestique. Certains traits tels que la rapidité, la capacité de portage ou encore la capacité à tracter de lourdes charges, ont été privilégiés (**Haupt et Willis, 2001**).

Pour le cheval comme pour bon nombre d'animaux domestiques, les races possèdent un registre généalogique ou "stud-book". Les listes des ancêtres inscrits dans le registre ont été sélectionnés sur une période assez longue pour assurer la production d'une souche aux caractères constants et bien définis : taille, morphologie, actions et, parfois, couleur de robe. Le "stud-book" peut être fermé (seuls les animaux descendants d'animaux déjà enregistrés



peuvent faire partie de la race) ou ouvert (le registre accepte des croisements avec d'autres races). L'inscription d'un cheval à un tel registre est soumise à des règles de signalement et de conformité au standard de race (**Haupt et Willis, 2001**). Ces informations sont reprises par de vastes bases de données spécialisées.

Les races équinnes sont généralement divisées en trois grandes catégories d'équidés: les chevaux à « sang-chaud » (chevaux de selle destinés à être montés, y compris les chevaux de sport), les « sang-froid » (chevaux de trait destinés à la traction) et les « poneys ».

## 7. Le génome équin

Le nombre de chromosomes diploïde ( $2n = 64$ ) du cheval domestique a été définitivement établi par **Rothfels et al. (1959)**. Le génome équin est distribué sur 13 paires d'autosomes méta et submétacentriques et 18 paires acrocentriques (**Figure 4**). Les autosomes ont été rangés en 5 groupes: A, B, C, D et E. L'étude du génome du cheval a nécessité un effort de coopération internationale, impliquant plus de 100 scientifiques dans 20 pays différents (**Jussiau et al, 2013**). En France l'Institut national de la recherche agronomique (INRA), soutenu par les haras nationaux, a apporté sa contribution à l'établissement de cartes génomiques et à la recherche de marqueurs génétiques. Le Broad Institute (aux USA), financé par le National Human Genome Research Institute (NHGRI), a réalisé le séquençage, l'assemblage et l'annotation du génome équin (**Jussiau et al, 2013**).

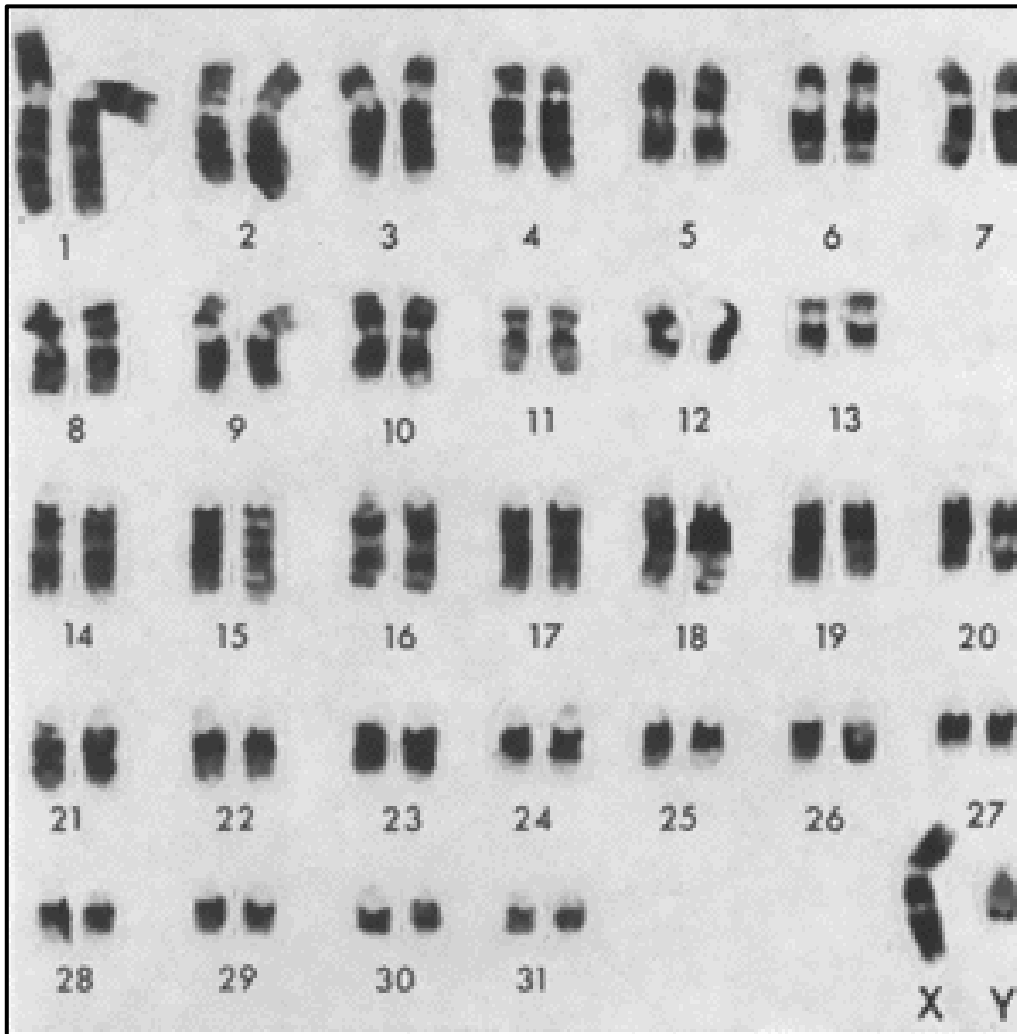
Le séquençage du génome équin a été entièrement connu après celui du poulet, du chien et de la vache et annoncé officiellement le 7 février 2007. Le génome équin s'apparente fortement à celui des autres génomes de mammifères. Il mesure environ 2,7 Giga bases (Gb). L'analyse plus fine de ce génome prédit l'existence d'un peu plus de 20000 gènes codant pour des protéines dont environ 17 000 sont similaires aux gènes de l'homme, de la souris et du chien (**Jussiau et al, 2013**). La correspondance avec le génome humain est élevée puisque 17 des 32 chromosomes équins sont similaires à un chromosome humain (**Jussiau et al, 2013**).

La séquence du génome équin a été établie à partir d'un échantillon de sang prélevé d'une jument « Twilight » de la race Pur-sang Anglais (**Jussiau et al, 2013**). Twilight fut choisie car c'est elle qui, dans un groupe de 10 chevaux testés pour leur polymorphisme génétique, présentait la variabilité la plus faible. Ceci n'a rien d'étonnant car les millions de chevaux pur-sang actuels descendent d'un nombre relativement restreint d'ancêtres communs. De plus, depuis 300 ans, ils ont été activement sélectionnés sur leurs performances en course. En vue du séquençage complet du génome, une variabilité génétique réduite était nécessaire afin de simplifier le processus de définition de celui-ci. L'ensemble de la séquence du cheval



est entièrement disponible pour les scientifiques de tous pays par l'intermédiaire du site Internet : <http://genome.ucsc.edu/>.

Connaître le génome du cheval permettra de comprendre les aspects génétiques de la pathogénie des maladies équines, et de sélectionner à coup sûr les caractères intéressants. La qualité de l'élevage équin bénéficiera également de ces avancées technologiques qui permettront de guider objectivement le choix des éleveurs.



**Figure 4.** Caryotype d'un étalon obtenu par la méthode des banding G (Cribiu *et al*, 1998).



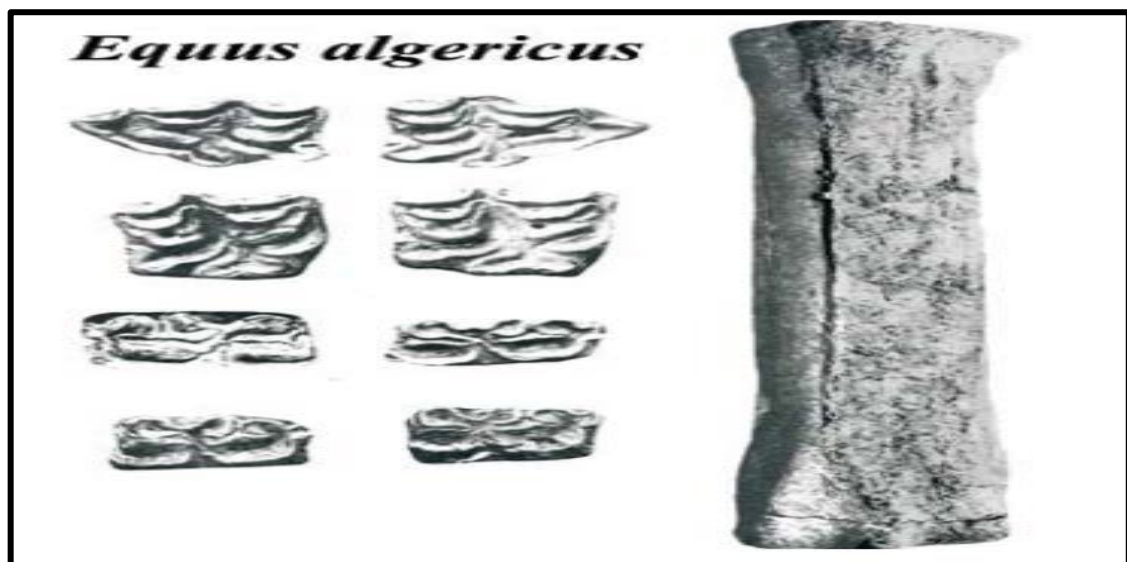
## II. LA FILIERE ÉQUINE EN ALGERIE ET SYSTEME D'ÉLEVAGE

L'Algérie est un pays riche d'une grande diversité géographique, tant sur le plan des sols et des climats rencontrés que des ressources zoogénétiques. Les ressources génétiques équines ne font pas exception à ce constat, elles constituent un élément incontournable dans l'histoire et la culture algérienne.

### 1. Historique du cheval en Algérie

L'Algérie est le pays type d'une grande et ancestrale tradition équestre. Le cheval fut le compagnon de peuples nomades cavaliers dans les tribus berbères de Syphax, Jugurtha et Massinissa, Il fut de toutes les guerres et de toutes les conquêtes du Musulman lors des épopées de l'Emir Abdelkader, d'El Mokrani et de Bouamama (**Rahal et al, 2009**).

L'apparition des équidés en Algérie, remonte à la période préhistorique au cours du 4<sup>ème</sup> millénaire (**Alimen, 1955**), tels qu'en témoignent les vestiges archéologiques, dessins rupestres et mosaïques qui présentent des chevaux de conformation et de types similaires à ceux du cheval barbe d'aujourd'hui. Grâce à des fouilles archéologiques effectuées en Algérie, on a abouti à l'identification des restes osseux de l'espèce *Equus algericus* (**Figure 5**), situés au Sud Est de Tiaret et à Hydra aux environs d'Alger (**Chaid-Saoudi, 1988**).



**Figure 5.** Restes osseux de l'espèce *Equus algericus* situés au Sud Est de Tiaret et à Hydra (**Chaid-Saoudi Y, 1988**).

L'avènement de l'Islam a renforcé et consolidé l'attachement des populations à cet animal tant conté par les historiens, sublimé par les poètes et chanté par les artistes. Il fût jadis un fidèle et glorieux compagnon de guerre. A cette haute dimension culturelle s'ajoute une



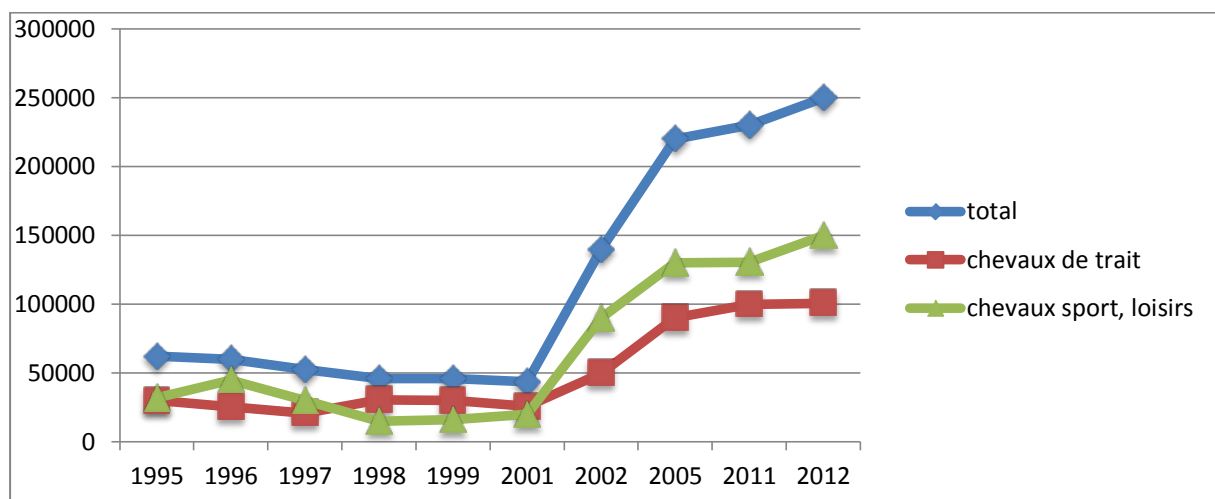
dimension socio-économique non moins importante. En effet, leur utilisation prend de nombreuses formes, de l'équitation de loisir aux courses, en passant par les compétitions équestres, le travail, le spectacle et également la production de viande.

## 2. Effectifs de la production équine et son évolution en Algérie

Le développement de la mécanisation, au tournant du 20<sup>ème</sup> siècle, allait ramener le cheval du rang de moyen de production à celui de simple produit de divertissement. Les effectifs chuteront de manière dramatique et il faudra des années d'efforts soutenus, pour que cet élément de la biodiversité mondiale, soit réhabilité et qu'il participe à nouveau à la vie économique et sociale. Cette évolution d'effectif équin est due aux pratiques équestres des sports, des loisirs et des courses grâce au développement spectaculaire de l'équitation civile. L'effectif de notre filière équine était en constante évolution pendant un certain nombre d'années (de 1997 jusqu'à 2001). A partir d'année 2002, la situation est en nette amélioration, et les effectifs sont appelés à augmenter considérablement (**Figure 6**), notamment avec les dernières mesures de relance de l'économie rurale.

La filière équine connaît un développement considérable sur les dernières années, aussi bien en nombre de chevaux existants, qu'en nombre d'éleveurs et de pratiquants de l'équitation.

Plus de 256.000 chevaux vivent sur le territoire Algérien (selon les derniers recensements du Ministère Algérien de l'Agriculture en 2012). Ces données ne reflètent que partiellement la réalité puisque aujourd'hui, de nombreux équidés échappent à ce recensement. L'Algérie est ainsi classée au deuxième rang des pays du Maghreb après le Maroc, en termes d'effectifs d'équidés (**Rahal et al, 2009**).

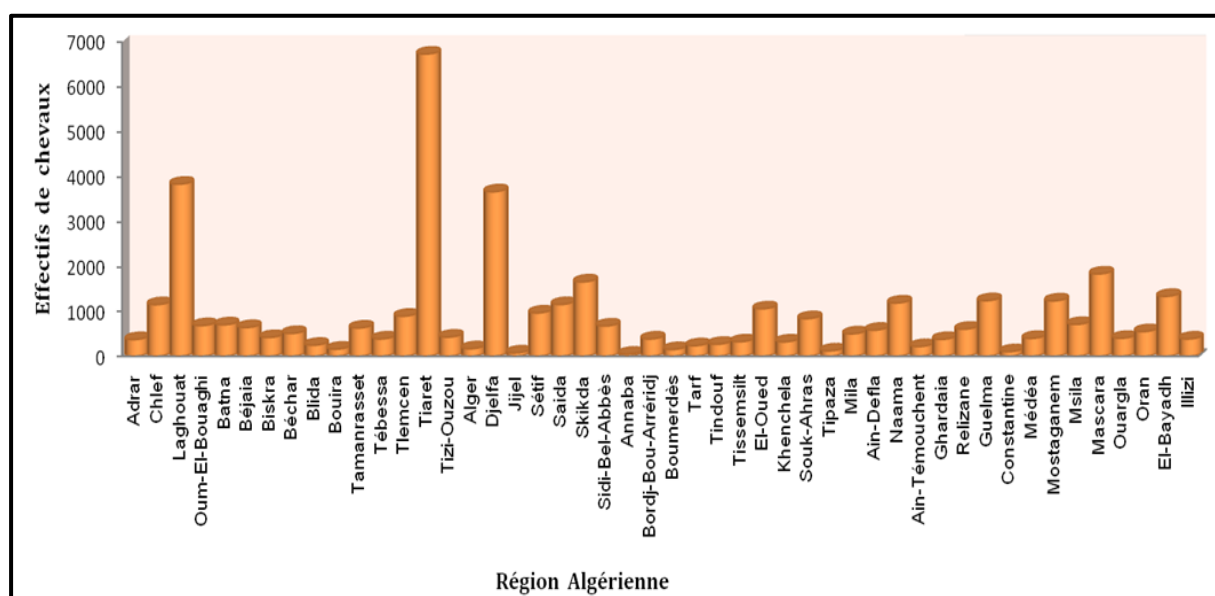


**Figure 6.** Schéma d'évolution de l'élevage équin en Algérie (source : Ministère Algérien de l'Agriculture).



### 3. Répartition géographique de l'élevage équin

La répartition de la population équine intéresse les différentes régions de l'Algérie avec les trois quarts de l'effectif répartis essentiellement dans les hauts plateaux, à l'instar des wilayas de Tiaret, Laghouat, Djelfa, Mascara, Skikda, Saida et El-Bayadh (**Figure 7**). Dans ces régions, le cheval vit parmi la population et y occupe une place digne de son rang en accord avec ce qu'a recommandé le Prophète de l'Islam selon le hadith rapporté par Ibn Majah « celui qui s'occupe d'un cheval pour l'amour de Dieu et qui soigne sa nourriture de sa main, aura pour chaque grain une Hassana ».



**Figure 7.** Aire de répartition de l'élevage équin dans le territoire Algérien (Source : ONDEEC 2005).

### 4. Les races équines en Algérie

L'Algérie abrite cinq races équines importantes de par leur utilisation et leur effectif: la race Barbe, Arabe-Barbe, Pur-sang Arabe, Pur-sang Anglais et le Trotter Français. En plus des chevaux, les ânes et les mulets sont rencontrés dans le pays. Il s'agit d'un réservoir génétique varié et qui n'est pas encore inventorié et caractérisé.

#### 4.1. Races autochtones

##### 4.1.1 Race Barbe

Le cheval barbe (**Figure 8**) est originaire du Maghreb. Il a été appelé d'abord barbare et ce n'est qu'en 1534 que la dénomination Barbe est apparue (**Roux, 1987**). C'est un cheval polyvalent, docile et endurant qui s'adapte facilement à différents climats aussi bien dans les pays du berceau de la race (Algérie, Maroc, Tunisie et Lybie), que dans les pays où il a été longtemps exporté, en Europe aussi bien qu'en Afrique subsaharienne (**Rahal et al, 2009**). Le



Barbe est un cheval d'équitation traditionnelle par excellence (fantasia). Il suscite actuellement l'intérêt dans les clubs d'équitation ainsi que dans les courses d'endurance à l'échelle internationale, à l'exemple de la jument Haouza Larzac, championne d'endurance d'Europe en 2003.

Ce n'est qu'en 1886 qu'a été institué le premier stud book algérien de la race Barbe par les militaires français désireux d'améliorer les chevaux autochtones. Les stud book tunisien et marocain ont suivi en 1896 et 1914. Le stud book français ne fut ré ouvert qu'en 1987. Actuellement, il y a une volonté internationale de réhabiliter le cheval Barbe. C'est ainsi qu'a été créé à Alger l'Organisation Mondiale du Cheval Barbe (OMCB) en juin 1987 (OMCB, 1989; El-Kohen, 2006).

L'OMCB définit le standard du cheval barbe comme un cheval eumétrique, médio ligne dont les principaux caractères sont: une taille moyenne de 1,55 m (1,50 m-1,60 m); une tête assez forte, chargée en ganache avec des naseaux effacés ; un profil céphalique convexe légèrement busqué; une encolure bien greffée, rouée, épaisse et courte; un garrot bien édifié et fortement marqué ; une poitrine large et haute avec un périmètre thoracique d'au minimum 1,70 m; un dos tendu et tranchant avec un rein court; une croupe en pupitre avec une queue attachée bas ; un tour de canon minimum de 18 cm et une robe essentiellement grise, baie, alezane avec des crins abondants et épais (OMCB, 1989; Tamzali, 1989; Chabchoub, 1998).

On peut dire d'une manière générale qu'en traversant l'Algérie d'est en ouest, on constate une diminution progressive de la taille du Barbe, et qu'en se rapprochant des zones désertiques, les chevaux accusent plus de finesse, le Barbe est plus grand, plus rustique dans ses formes à l'est du pays, de taille moyenne dans les régions du centre, et plus petit, plus élégant à l'ouest (Tamzali, 1989). On distingue ainsi trois types principaux : le Barbe des plaines littorales riches, celui de montagnes et celui des hauts plateaux et de la limite nord du Sahara (Chabchoub *et al*, 2004; Kadri, 2006).

Il est difficile d'évaluer le nombre exact de chevaux barbes vivant dans nos vastes contrées. Le dernier recensement du ministère de l'agriculture quantifie le nombre de chevaux dans les exploitations agricoles à 41 560 (Ministère Algérien de l'Agriculture année 2004). Les zones d'élevage se situent principalement dans les régions de Tiaret, Laghouat, Djelfa, Saida, Mascara, Tlemcen, Chlef, Khenchela et Tebessa. Ce chiffre ne tient pas compte des chevaux en dehors des exploitations agricoles, qui sont nombreux.



**Figure 8.** Jument Barbe de la jumenterie de Tiaret «Haras National Chaouchaoua».

Tirée du site : <http://www.hippologie.fr/race-de-chevaux.html>

#### 4.1.2. Race Arabe-Barbe

L'Arabe-Barbe constitue la race prédominante en Algérie, son effectif s'élève à environ 156 000 têtes selon les données de l'Office National du Développement de l'Élevage Équin et Camelin (ONDEEC) (**Rahal et al, 2009**). Ce nombre est négligeable par rapport aux produits Arabe-Barbe non-inscrits, à partir du moment où la majorité des éleveurs et propriétaires n'accorde pas une grande importance à la traçabilité de leurs chevaux.

Cette race est une création de la Jumenterie de Tiaret en 1878 par le croisement de deux races Arabe et Barbe (**Kadri, 2006**), durant le début du XX<sup>ème</sup> siècle, et ceci pour des besoins de la cavalerie militaire, ainsi que pour l'intérêt des éleveurs qui cherchent à corriger certains défauts du cheval Barbe, la race autochtone du pays, en le croisant avec le cheval Arabe. Ceci a donné naissance au cheval Arabe-Barbe. Par la suite, les produits de ce croisement ont été accouplés entre eux ou avec l'une des races parentales.

Le cheval Arabe-Barbe constitue une véritable réussite de l'élevage équin algérien alliant la rusticité, l'endurance et la sobriété du Barbe, à l'élégance des formes et la vitesse de l'Arabe (**Figure 9**). C'est un cheval «à tout faire» et il est très prisé pour les travaux agricoles, l'équitation moderne et traditionnelle et l'attelage. L'Arabe-Barbe exprime toutes ses qualités lorsque le pourcentage de sang arabe ne dépasse pas les 50%. Cette variation de sang arabe a donné lieu à des chevaux Arabe-Barbes qui ont des mensurations variant de celles du Barbe à celles de l'Arabe. Sachant que les chevaux dont le degré de sang arabe est





supérieur à 75% ne peuvent être inscrits au stud-book du cheval Barbe (**Association belge du Cheval barbe. 2003**).



**Figure 9.** Etalon Arabe-Barbe d'origine algérienne. Tirée du site : <http://elevagedelabbaye.voila.net/elevage.html>

#### **4.2. Races induites** (importées et élevées depuis plusieurs décennies en Algérie)

En plus de ces deux races locales, on distingue aussi des Pur-sang Arabes, des Pur-sang Anglais et le Trotteur Français utilisés essentiellement dans le monde du sport, représenté par les courses hippiques, les concours de saut d'obstacle et les raids d'endurance. Ces races importées et élevées depuis plusieurs décennies sont inégalement réparties dans le territoire algérien et mieux adaptées aux reliefs montagneux et arides des régions d'Afrique du nord (**Rahal *et al*, 2009**).

##### **4.2.1. Race Pur-sang Arabe**

Le cheval Pur-sang Arabe est une des plus anciennes races pures connues (**Figure 10**). C'est un cheval de la rude civilisation du désert sélectionné dans les pays du Proche-Orient, sur des critères de souplesse, maniabilité, résistance, légèreté et surtout beauté. Le cheval Arabe a été utilisé depuis des siècles pour améliorer les autres races, à travers le monde. Il a été introduit en Algérie dès le VII<sup>ème</sup> siècle, avec l'islamisation du pays. Plus tard, le colonisateur français, lui consacra en 1877, un Haras à Tiaret « Jumenterie de



Chaouchaoua» qui produira à partir de sujets importés d'orient (Syrie, Egypte...), des lignées mondialement célèbres. À l'indépendance de l'Algérie et jusqu'aux années 1980 des importations d'étalons et poulinières de Suède, d'Angleterre et de Pologne ont servi pour diversifier les origines et les modèles de pur-sang arabe, et éviter quelque peu la consanguinité de l'élevage national.

Ce n'est qu'à partir de l'année 1983 que la situation de cette race a eu un tournant décisif avec l'instauration de courses de pur-sang arabe à l'hippodrome du Caroubier (Alger) puis d'Oran. Ces courses étaient alimentées au départ avec des chevaux arabes polyvalents, nés et élevés en Algérie, surtout par l'élevage de Tiaret qui a injecté à lui seul plus de 700 coursiers dans les hippodromes.

La race Pur-sang Arabe dispose d'un stud-book, et l'Algérie est membre actif de la World Arabian Horse Organisation (WAHO) qui compte 57 pays membres. Le cheval Arabe est un cheval de petite taille (1,48 à 1,56 m au garrot en moyenne) en général de robe alezane, baie ou grise. C'est un cheval à la poitrine large, à la croupe harmonieuse, à la queue courte et attachée haut, aux membres très secs. Il porte à la tête les signes qui confirment la noblesse de sa race, front large, profil rectiligne ou concave, oreilles courtes, bien dessinées et mobiles, yeux grands, expressifs et doux, naseaux très ouverts et finement dessinés, ganaches écartées, la lèvre inférieure courte et petite. La tête, très distinguée, est portée par une encolure longue et peu épaisse, aux crins très soyeux.

En Algérie, les effectifs sont estimés à 1000 chevaux, dont 90% sont issus du Haras National Chaouchaoua de Tiaret (**Rahal et al, 2009**). Aujourd'hui, cette race brille dans plusieurs disciplines sportives (endurance, courses, concours modèles et allures, dressage et saut d'obstacles). Ainsi, il est très recherché pour l'équitation de loisir.



**Figure 10.** Etalon Arabe de la jumenterie de Tiaret «Haras National Chaouchaoua». Tirée du site : <http://www.hippologie.fr/race-de-chevaux.html>

#### 4.2.2. Race Pur-sang Anglais

Le Pur-sang Anglais est né de la passion des Anglais pour les courses de chevaux (**Figure 11**). Dès 1535, Henri VIII édicte un décret interdisant la production de chevaux de moins de 150 cm. Trois étalons (deux pur-sang arabe et un barbe) sont à l'origine de tous les pur-sang anglais actuels Darley Arabian, Byerley Turk et Godolphin Barb (**Rahal et al, 2009**).

L'introduction de cette race en Algérie, remonte au 19<sup>ème</sup> siècle. Sélectionné uniquement sur son aptitude à la vitesse, ce cheval rapide et nerveux. Sa physionomie est proche de celle du cheval Arabe mais en plus long et plus fort. Les effectifs actuels sont de l'ordre de 500 têtes (**Rahal et al, 2009**), et la production est réservée exclusivement aux courses hippiques.

Bien que n'ayant pas de standard, le Pur-sang Anglais est un cheval longiligne, d'une taille moyenne de 1,65 m au garrot, donnant une impression d'ensemble très harmonieuse et athlétique. Le profil est plutôt rectiligne, le front large, la tête expressive. L'épaule est longue et oblique, permettant l'amplitude nécessaire des foulées au galop. La poitrine est ample, profonde, ogivale, le dos est droit, la croupe horizontale et longue, les avant-bras longs et les canons courts. La couleur de robe la plus fréquente est le bai; l'alezan et le gris étant aussi présents.



La région d'élevage du Pur-sang Anglais en Algérie est par excellence Laghouat et à un moindre degré Blida (jumentrie de Chebli). Des naissances sont enregistrées dans d'autres régions, notamment par le biais de propriétaires de chevaux de course (hippodrome Zemmouri, Oran, Msila, Djelfa) (**Rahal et al, 2009**).



**Figure 11.** Cheval Pur-sang Anglais de l'hippodrome d'Oran. Tirée du site : <http://www.hippologie.fr/race-de-chevaux.html>

#### 4.2.3. Race Trotteur Français

L'introduction de cette race en Algérie, remonte au 19<sup>ème</sup> siècle. Les effectifs actuels sont de l'ordre de 500 têtes (**Rahal et al, 2009**), et la production est réservée exclusivement aux courses hippiques. Issue du croisement Pur-sang Anglais avec des chevaux Normande. C'est aujourd'hui une race à part entière avec un stud book semi ouvert (**Rahal et al, 2009**).

Certaines caractéristiques de la race : une tête rectiligne, l'épaule, à l'origine assez droite, devient plus inclinée, permettant un geste d'avant-main plus étendu, la taille est moyenne. C'est un cheval à forte compacité. Les robes sont le plus souvent baies ou alezanes.

Les chevaux de cette race, considérés comme inaptes à la course, sont orientés bien souvent vers la discipline du trot attelé, à l'hippodrome de Zemmouri et prochainement à Oran (**Figure 12**). Cependant, des trotteurs peuvent être retrouvés dans les clubs hippiques



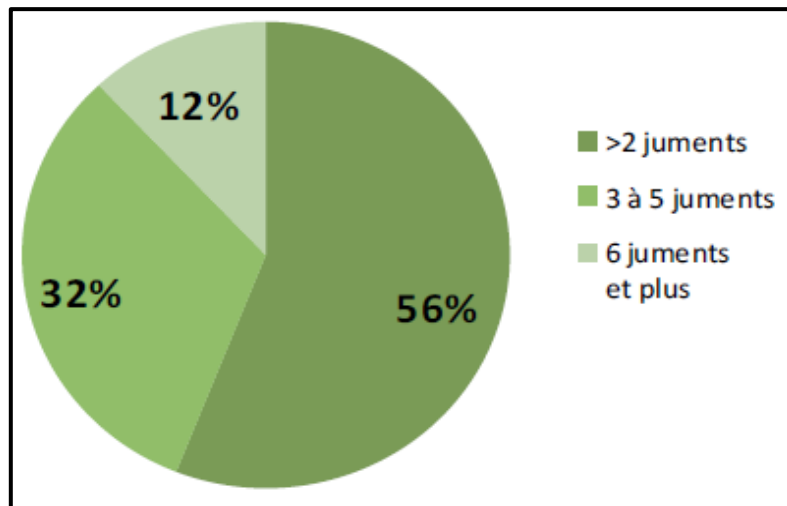
ainsi que chez des propriétaires de chevaux de fantasia, qui apprécient le modèle plus lourd des chevaux de spectacle.



**Figure 12.** Cheval Trotteur Français de l'hippodrome de Zemmouri. Tirée du site : <http://www.hippologie.fr/race-de-chevaux.html>

## 5. Caractérisation des élevages de chevaux

L'élevage de chevaux consiste à disposer de juments et/ou d'étalons pour la mise à la reproduction. En Algérie les élevages des équins sont plutôt de petite taille, à l'exception de la jumentrie de Tiaret, de Chebli et d'El Karma, ainsi que quelques propriétaires privés. Plus de la moitié des élevages à plus de 2 juments saillies par an dans la plupart des régions. Un pourcentage de 32% ont 3 à 5 juments saillies par an, et seulement 12% ont plus de 6 juments saillies par an (ONDEEC, 2012) (Figure 13). Les modalités de mise à la reproduction seront différentes selon le type d'équidé élevé, mais les bases du métier sont les mêmes : alimentation, reproduction, et santé de l'animal.



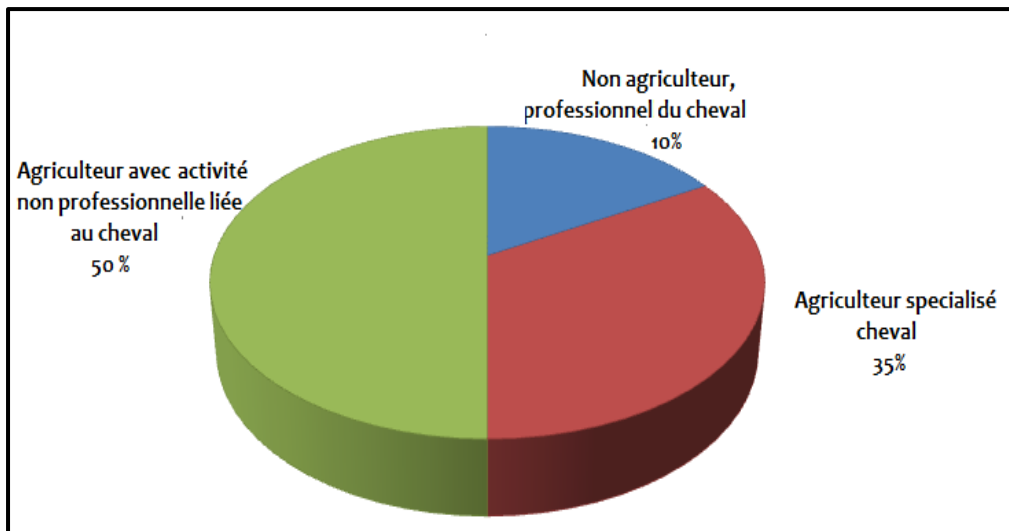
**Figure 13.** Pourcentage de nombre de juments saillies par élevage (source: ONDEEC, 2012).

La filière équine connaît un développement considérable sur pendant ces dernières années, aussi bien en nombre de chevaux présents sur le territoire national, qu'en nombre d'éleveurs et de pratiquants de l'équitation (plus de 30 % de licenciés de 2006 à 2011). De manière générale, il existe trois types d'éleveurs dans la filière équine (**Figure 14**) :

- **Agriculteur avec activité non professionnelle liée au cheval** : ils se considèrent comme éleveurs mais pas comme professionnels en élevage équin, ont des petites structures et cherchent à produire au moins un poulain chaque année. L'élevage est une activité de temps libre. Ils ne recherchent pas vraiment la rentabilité, l'argent investi provient d'autres sources de revenus. Leur production est destinée à leur usage personnel mais aussi à la vente.

- **Agriculteurs spécialisés dans le cheval** : ils ont des structures importantes. Leur production est régulière. Ils produisent des chevaux destinés aux courses ou au sport amateur, mais ils considèrent l'élevage équin comme une activité secondaire, qu'ils exercent par passion, en parallèle de leur activité principale

- **Non agriculteurs professionnels du cheval** : ils ont plus de quatre poulinières avec une production annuelle régulière. Ils considèrent l'élevage de chevaux comme une véritable activité professionnelle avec une recherche de rentabilité économique. Ils produisent avant tout des chevaux d'endurance, mais aussi de concours complet et de saut d'obstacles. Ils s'orientent vers plusieurs races adaptées aux disciplines visées, Ils recherchent une valeur ajoutée, par la robe, la race ou les performances sportives. Les stratégies de reproduction sont multiples. L'alimentation et la maîtrise de la santé sont assurées par un vétérinaire spécialisé.



**Figure 14.** Les différents types des éleveurs équins en Algérie (source: ONDEEC, 2012).

## 6. Organisation de la filière équine

La chute drastique des effectifs, fera réagir le gouvernement algérien qui adoptera en 1986, un dossier portant «réorganisation du secteur équin». Ce dossier, judicieux dans sa conception, avait pour objectifs, de préserver et développer les races équines, grâce aux ressources qu'elles contribuent elles-mêmes à produire. C'est ainsi que seront créées les structures suivantes :

### 6.1. Office National du Développement des Élevages Équins et camelins

L'ONDEEC est chargé de la préservation, du développement, de la promotion, et de l'encouragement, des races équines, ainsi que de la tenue des livres généalogiques (Stud book). Il gère l'administration de la monte publique et sert d'appui technique aux unités d'élevage. Il bénéficie pour ce faire, de 9 % de la masse totale des enjeux du Pari Mutuel Urbain.

### 6.2. Société des Courses Hippiques et du Pari Mutuel (SCHPMU)

Elle est chargée de l'organisation des courses hippiques, de la collecte des paris, et de la redistribution des ressources financières induites, sur la base de l'arrêté interministériel du 5 septembre 1989, fixant le taux et désignant les bénéficiaires des prélèvements à opérer sur les enjeux du Pari Mutuel Urbain (PMU) . Elle s'appuie pour cela sur les hippodromes nationaux et les agences de P.M.U disséminées dans les principales Wilaya du pays. Elle perçoit 10% de la masse des enjeux pour son fonctionnement.



### **6.3. Organisation Mondiale du Cheval Barbe (OMCB)**

Organisme non gouvernemental, l'OMCB, est chargé de la coordination des Associations nationales d'éleveurs, détentrices des livres généalogiques (stud books), de l'établissement du standard de la race, et de la réglementation relative à la reproduction de la race Barbe et de ses dérivés. Son siège est fixé à Alger. Elle regroupe à l'heure actuelle huit pays membres (Algérie, Maroc, Tunisie, France, Allemagne, Belgique, Suisse et Luxembourg).

### **6.4. Fédération Équestre Algérienne (FEA)**

Issue de la réorganisation de la Fédération Algérienne des Sports Équestres (FASE), elle est déclarée d'utilité publique. Sa mission est de promouvoir et d'encourager l'utilisation des races équines, par le biais des sports équestres modernes et traditionnels, ainsi que les métiers liés à leur pratique. Elle perçoit 3% de la masse des enjeux du PMU.

### **6.5. Associations Nationales d'Éleveurs**

Elles ont pour rôle de structurer et animer les éleveurs, par race équine. (Arabe, Barbe, Arabe, Barbe et Pur-sang Anglais). Elles disposent de 3% de la masse des enjeux du PMU.

### **6.6. Fédération Équestre Algérienne**

Elle a un rôle très important à jouer dans l'utilisation des races équines, par le biais de l'équitation. Les sports équestres modernes sont susceptibles d'absorber une part importante de la production équine nationale par le développement et l'encouragement des disciplines dans lesquelles excellent les chevaux locaux, à savoir l'endurance, la randonnée, et l'apprentissage. Par ailleurs, l'équitation traditionnelle qui opère un retour en force après des années de stagnation dues à la situation sécuritaire, constitue un débouché certain aux races Barbe et Arabe-Barbe.

### **6.7. Mouvement Associatif**

Dans les pays développés, l'administration des Haras est déléguée, souvent aux associations d'éleveurs, ainsi que certaines missions, telles la gestion du livre généalogique de la race ou l'organisation de concours d'élevage.

En Algérie, le développement du mouvement associatif s'est heurté à la nature de ce type d'élevage, souvent personnel, à l'absence de ressources nécessaires à son fonctionnement, ainsi qu'à l'absence de perspectives induites par le manque d'encadrement.





La mise en place d'une politique d'encouragement et de développement des élevages et de leur utilisation, constituera le stimulant idéal à l'essor du mouvement associatif.

## 7. Usages des chevaux en Algérie

On peut noter la présence d'équidés dans tout le territoire Algérien. Leur utilisation prend de nombreuses formes, le travail agricole, le spectacle, et également des disciplines équestres sportives au plus haut niveau, en passant par les compétitions équestres, les courses et le loisir.

### 7.1. Utilisations traditionnelles du cheval

#### 7.1.1. Fantasia

C'est une la tradition équestre ancestrale dans nos régions rurales, notamment dans les Hauts Plateaux. La fantasia désigne différents spectacles équestres traditionnels simulant des assauts militaires, pratiqués essentiellement au Maghreb, où elle est appelée « jeu de la poudre » ou « jeu des chevaux ». Elle prend le plus souvent la forme d'évolutions équestres au cours desquelles des cavaliers, munis de fusils à poudre noire et chevauchant des montures richement harnachées, simulent une charge de cavalerie dont l'apothéose est le tir coordonné d'une salve de leurs armes à feu (**Figure 15**).

La fantasia accompagne le plus souvent les fêtes importantes (mariages, naissances, fêtes religieuses, etc.), même si l'aspect touristique l'emporte largement de nos jours.



**Figure 15.** Spectacle équestre traditionnel de Fantasia. Tirée du site :

[http://www.La fantasia- spectaculaire](http://www.La-fantasia-spectaculaire)



### **7.1.2. Travail agricole**

Tout au long du XX<sup>e</sup> siècle, le cheval a été délaissé suite à la mécanisation de la société dans les pays industrialisés. De nos jours, son utilisation est en nette recrudescence, pour accomplir de nombreuses tâches. Dans les pays en développement, en général, et en Algérie en particulier, en milieu rural, malgré le développement de l'automobile, le cheval contribue notamment au transport des matériaux de construction et de l'eau dans les endroits souvent inaccessibles aux véhicules à moteur. Le cheval intervient aussi dans le transport des personnes, des marchandises et des ordures ménagères. En agriculture le cheval est toujours utilisé comme un auxiliaire de travail pour les paysans.

### **7.2. Utilisations modernes du cheval**

Les sports équestres regroupent toutes les disciplines équestres sportives. Il existe de nombreux autres sports équestres pratiqués à travers le monde, certaines étant réglementées par la Fédération Équestre Internationale (FEI), tandis que d'autres ont une portée locale. La FEI règlemente et organise les compétitions internationales des sept disciplines parmi les plus connues et les plus pratiquées dans le monde :

#### **7.2.1. Attelage**

Un attelage de compétition est composé d'une voiture, d'un, deux ou quatre chevaux et d'un meneur aidé par des grooms. La voiture utilisée est dédiée spécifiquement à ce sport et est munie de freins à disque. Sur les voitures modernes, des brancards articulés sur les modèles à 4 roues. Tous les chevaux peuvent être attelés, mais certaines races comme le Trotteur Français ont des prédispositions particulières à cette discipline.

Avant de devenir une activité de loisir et de sport, l'attelage a longtemps été le seul moyen de transport. Si le train et l'automobile ont supprimé les équipages, l'attelage renaît grâce aux nombreuses associations, aux épreuves diverses, aux rallyes et aux écoles d'attelage, et sauve ainsi les chevaux de races lourdes.

#### **7.2.2. Concours complet**

Le concours complet d'équitation (CCE) est l'une des sept disciplines équestres mondiales agréées par la fédération équestre internationale et discipline olympique depuis les Jeux olympiques de Stockholm de 1912. Les différents niveaux d'épreuves, qui sont en fonction de la hauteur des obstacles et de la difficulté des tracés des parcours et reprises, permettent la progression des couples pratiquant la discipline en compétition. Le CCE



demande, contrairement à d'autres disciplines, une polyvalence de la part du cheval comme de son cavalier.

### **7.2.3 Dressage**

Le terme de dressage en équitation est utilisé pour désigner la discipline du dressage dans sa forme actuelle, se définissant comme la mise en scène du couple cheval /cavalier. Il est issu de l'école d'équitation classique, mais a évolué au cours des siècles, influencé par l'équitation militaire puis sportive. Le concours de dressage est un sport international avec des niveaux allant du débutant à la sélection pour les Jeux olympiques. La compétition se concentre sur les mouvements de dressage, tels que le piaffer, le passage, le trot allongé, la pirouette et les changements de pied au galop.

### **7.2.4 Raids d'endurance**

Les raids d'endurance, une nouvelle discipline qui est née à la fin des années 80. Elle a été quelque peu occultée durant les années 90 et qui a repris à partir de 2000, avec des raids à Bordj el Bahri, Tiaret, Mostaganem. L'endurance est une course de fond pratiquée à cheval et en pleine nature, dans laquelle le but est de parcourir une longue distance : de 20 km à 160 km en une journée, ou  $2 \times 100$  km sur deux jours. Cette course chronométrée doit être réalisée le plus rapidement possible tout en conservant une monture en parfait état de santé. Des contrôles vétérinaires obligatoires sont effectués de façon régulière tout au long du parcours. Ils garantissent la bonne santé du cheval car en cas de doute (épuisement, boiterie, déshydratation...) celui-ci est disqualifié. Tout au long de l'épreuve, l'effort de l'animal doit donc être maîtrisé.

Le vétérinaire occupe une place de choix dans ce genre de discipline, puisque c'est de lui que dépend le bon déroulement des épreuves. La santé du cheval étant à la première place dans cette discipline, où l'on peut parcourir 40, 60, 80 ou 120 km sans que le cheval n'ait à souffrir des désordres cardio-vasculaires ou de boiterie. Pour cela, des contrôles vétérinaires sont placés tous les 20 km en moyenne pour contrôler les paramètres que sont le rythme cardiaque, la fréquence respiratoire, l'état des muqueuses et la symétrie des allures.

Il existe plusieurs types d'épreuves d'endurance qui sont différenciés par le nombre de kilomètres parcourus. La pratique de la discipline est abordable par tout cavalier et tous types de chevaux. Mais pour concourir en endurance à partir d'un certain niveau, il est préférable de choisir une monture au type adapté à la discipline, comme le pur-sang arabe, et de s'équiper d'un matériel spécifique. L'endurance fait aussi l'objet de compétitions officielles internationales dont les épreuves se courent sur les distances maximales.



### **7.2.5 Saut d'obstacles**

Le saut d'obstacles, ou concours de saut d'obstacles (CSO), est un sport équestre qui se déroule dans un terrain délimité sur lequel ont été construits des obstacles. Les barres qui les composent sont mobiles et tombent lorsqu'elles sont touchées. Pour le cheval et le cavalier, la règle du jeu est de réussir à franchir les obstacles dans un ordre précis sans les renverser ou les dérober. Il existe plusieurs types de saut : le vertical, la haie, la rivière.

### **7.2.6 Courses hippiques**

Les courses hippiques sont organisées depuis l'époque antique. À l'époque coloniale existaient une multitude de champs de course de Province. Le relais fut repris à partir de l'indépendance par la Société des Courses d'Alger, et dans la volée, l'année 1987 a vu la création de l'actuelle Société SCHPM, selon le décret officiel N° 87-17. Cette société fait fonctionner pas moins de 22 hippodromes qui regroupent quelque 700 pur-sang arabes, 300 pur-sang anglais et une centaine d'Arabe Barbe et de Barbe.

### **7.2.7 Tourisme équestre**

Il s'agit de toute activité de loisir et de tourisme vert faisant appel à l'utilisation du cheval. Les centres équestres proposent des randonnées à cheval, des séjours découverts à la campagne, des circuits en calèches ouverts au public, les établissements équestres constituent donc un maillon primordial de la filière équine.



### III. BIODIVERSITE ET RESSOURCES ZOOGÉNÉTIQUE

#### 1. Importance de la biodiversité des animaux d'élevage

La biodiversité dans l'agriculture est le produit de milliers d'années d'activité au cours desquelles l'homme a cherché à satisfaire ses besoins dans des conditions climatiques et écologiques très différentes.

Les animaux d'élevage ont représenté un élément essentiel des systèmes de production agricole, particulièrement important dans des environnements défavorables où les cultures sont difficiles sinon impossibles. Pour les éleveurs, la diversité zoogénétique représente une ressource où puiser pour sélectionner les animaux et développer de nouvelles races. De façon plus ample, les populations d'animaux d'élevage génétiquement différents permettent à la société d'avoir une plus vaste gamme d'options pour satisfaire les défis des années futures.

Depuis les années 60, l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) a offert son assistance aux pays afin de caractériser leurs ressources zoogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture et pour développer des stratégies de conservation. En 1990, le Conseil de la FAO a recommandé l'élaboration d'un programme global pour la gestion durable des ressources zoogénétiques au niveau mondial.

La caractérisation des ressources zoogénétiques englobe toutes les activités associées à l'identification, à la description qualitative et quantitative, et à la documentation des populations animales. Le but est d'obtenir une meilleure connaissance des ressources zoogénétiques, de leurs utilisations présentes et, éventuellement, futures pour l'alimentation et l'agriculture dans des environnements définis, et leur état actuel en tant que populations raciales différentes (FAO, 1984; Rege, 1992).

Au niveau national, la caractérisation comprend l'identification des ressources zoogénétiques du pays et l'enquête sur ces ressources. Le processus comprend également la documentation systématique des informations collectées pour faciliter l'accès. Les activités de caractérisation devraient favoriser la conception de prévisions objectives et fiables sur la performance des animaux dans des environnements définis et comparer ainsi la performance potentielle à l'intérieur des différents systèmes de production d'un pays ou d'une région. Il s'agit, par conséquent, d'un travail plus approfondi qu'une simple récolte de rapports existants (Rege, 1992).



Les renseignements obtenus par le processus de caractérisation favorisent une prise de décision éclairée sur les priorités de la gestion des ressources par les différents groupes d'intérêt, dont les agriculteurs, les gouvernements au niveau national et régional et les organismes internationaux (FAO, 1992; FAO/PNUE, 1998). Ces décisions politiques visent à promouvoir la mise en valeur des ressources zoogénétiques tout en garantissant la conservation de ces ressources pour les besoins des générations présentes et futures.

## 2. Origine de la diversité génétique

La diversité génétique est basée sur la variabilité des gènes entre ou à l'intérieur des espèces et de leurs populations. L'intérêt actuel porté à la biodiversité représente le support de base sur lequel peut agir la sélection, il est admis que plus la diversité est grande dans un groupe d'individus (sous populations, population, espèce), plus il sera facile pour certains individus de s'adapter à de nouvelles conditions environnementales. En plus de permettre une plus grande adaptabilité des individus, elle permettra également de réduire la dépression de la consanguinité et diminuera ainsi le risque d'extinction (Frankham, 2005). L'origine de la diversité génétique est le résultat des variations des séquences d'ADN (polymorphisme génétique) et des effets de l'environnement (forces évolutives) (Stockwell *et al*, 2003).

### 2.1. Polymorphisme génétique

Le polymorphisme génétique est à la base de la diversité génétique, il correspond à des variations de séquences d'ADN au sein d'un groupe d'individus. Ces variations naturelles sont dûes à des mutations successives au cours de l'évolution qui permettent de caractériser la diversité génétique entre individus et populations.

En général, les mutations peuvent survenir aléatoirement au cours de la réplication de l'ADN mais peuvent aussi être dûes à des agents mutagènes physiques (par exemple, les rayonnements ultra-violets), chimiques ou biotiques (virus et transposons). La recombinaison est un processus qui entraîne un brassage de matériel génétique intra ou inter chromosomique et dont la conséquence est la création de nouvelles combinaisons alléliques, c'est-à-dire d'haplotypes (Wang *et al*, 1999).

Les mutations (et recombinaisons) qui augmentent ainsi la diversité génétique globale en générant de nouveaux allèles et de nouveaux haplotypes peuvent être de différentes classes. Le polymorphisme chromosomique peut être dû soit à une variation du nombre des chromosomes soit à un changement de leur structure (délétion, duplication, inversion, translocation). Le polymorphisme d'insertion caractérise des éléments d'ADN capables de s'insérer dans différentes régions du génome. Inversement, le polymorphisme de délétion



supprime certaines régions du génome, alors que le polymorphisme d'inversion comme son nom l'indique provoque un changement dans l'ordre de certaines séquences dans le génome.

Les mutations affectent l'ensemble du génome. Celles-ci sont silencieuses lorsqu'elles n'ont pas d'impact évolutif. Par contre, des changements fonctionnels peuvent avoir lieu d'une part, lorsqu'elles entraînent des changements d'acides aminés dans les régions codantes et donc des modifications structurales et fonctionnelles des protéines.

D'autre part, les mutations affectant les régions non codantes peuvent aussi avoir un impact évolutif. En effet, elles peuvent entraîner des modifications dans les régions de l'ADN ayant un rôle important dans la régulation de la transcription et dans l'organisation du génome et qui sont donc soumises à des pressions de sélection indiquant qu'elles ont un rôle évolutif et fonctionnel majeur (**Wang et al, 1999**). Le phénomène de mutation est la source fondamentale de variation génétique et correspond à un changement héréditaire dans le matériel génétique de l'organisme. Les mutations sont importantes car elles apportent de la richesse par la création de nouveaux allèles (**Kimura, 1983**).

## **2.2. Forces évolutives**

Le niveau de la diversité génétique des populations et des variations de fréquences alléliques dépend de l'action respective de trois forces évolutives pouvant interagir les unes avec les autres : la dérive génétique, la migration et la sélection. Elles sont à l'origine de la structure de la diversité génétique et de son évolution.

### **2.2.1. Dérive génétique**

La dérive génétique, qui agit sur tout le génome, se traduit par un changement aléatoire des fréquences alléliques au cours des générations dans une population de taille limitée (**Wright, 1931**). En effet, dans une population d'effectif définie, les fréquences alléliques varient sous l'effet du hasard d'une génération à l'autre. Plus la population sera petite, plus les effets de la dérive seront grands car les écarts de fréquences alléliques y seront d'autant plus visibles d'une génération à l'autre. La dérive peut aboutir à l'élimination ou à la fixation d'un allèle pour tous les individus de la population. Les chances de fixation ou d'élimination d'un allèle dépendent évidemment de sa fréquence dans la population. Plus il est fréquent, plus il aura de chances d'être fixé tandis que plus l'allèle est rare, plus il sera sujet à l'élimination (s'il ne confère bien entendu aucun avantage sélectif). Contrairement aux mutations, la dérive génétique aura tendance à réduire la diversité génétique.



### 2.2.2. Migration

En génétique des populations, la migration se réfère au mouvement de gènes entre populations. La migration limite, voire empêche (selon son intensité), la divergence génétique entre populations engendrée par l'effet de la dérive génétique (**Hamrick *et al*, 1993**). Les flux génétiques sont le résultat de la contribution génétique d'une population migrante sur la future génération de la population « puits ». Ils ont pour effet l'augmentation de la richesse allélique pour les populations qui reçoivent ces migrants. À long terme, lorsque les flux de gènes sont réciproques d'une population à une autre, les fréquences alléliques entre populations s'homogénéisent (**Slatkin, 1985**) induisant une réduction de la différenciation génétique. L'homogénéisation est d'autant plus forte que les flux de gènes sont importants.

### 2.2.3. Sélection naturelle

Avancée par Charles Darwin en 1859 dans « L'Origine des espèces », la sélection naturelle est un mécanisme qui contribue à l'évolution des espèces. Elle fait le tri entre les individus montrant un différentiel de survie et de reproduction dans un environnement donné. Elle augmente ainsi la fréquence des phénotypes les plus favorables à la survie et à la reproduction, tandis que les phénotypes les moins adaptés tendront à disparaître. Pour que la sélection agisse, il est nécessaire que les individus d'une population ne soient pas tous identiques (variation de traits). D'une part de cette variation affecte les traits liés à la capacité de survivre et/ou de se reproduire. En effet, ces différences de survie/reproduction sont dues à des variations génétiques héritables, par conséquent, ces différences doivent être contrôlées par des gènes transmissibles de génération en génération). Les porteurs des mutations avantageuses ont plus de descendants qui à leur tour auront plus de descendants et ainsi de suite, aboutissant alors à une population dont les individus sont adaptés à leur milieu. Contrairement à la migration et à la dérive génétique qui affectent l'ensemble du génome, la sélection n'agit que sur certains loci, et sur leur voisinage direct (locus liés physiquement).

## 3. Méthodes de caractérisation des animaux d'élevage

D'une manière générale, la caractérisation des races animales se fait suivant plusieurs méthodes qui peuvent être phénotypiques (caractères morphobiométriques), biochimiques ou immunogénétiques (polymorphisme des protéines du sang), cytogénétiques (nombre, formes et anomalies chromosomiques) ou moléculaires (analyse des marqueurs directement situés sur l'ADN).





### 3.1. Méthode morphobiométrique

Cette méthode fait appel aux caractères phénotypiques, tels que les caractéristiques morphologiques (morphologie de la tête et du corps, couleur de la robe, des pattes,...) ou de mesures (taille, poids, hauteur au garrot, indice auriculaire ...) ou de performances (vitesse de croissance, production laitière, vitesse de course ...). Elle est habituellement utilisée pour caractériser et comparer les races d'animaux d'élevage.

En outre, la méthode morpho biométrique donne des indications assez vagues sur le patrimoine génétique de la race, du fait du mode de transmission héréditaire généralement complexe et souvent mal élucidé des caractères pris en compte. C'est pour ces raisons que pendant longtemps la méthode immunogénétique lui a été préférée.

### 3.2. Méthode immunogénétique ou biochimique

Au début du 20<sup>ème</sup> siècle, la caractérisation des espèces animales se limitait aux techniques biochimiques. Actuellement, les techniques de laboratoire permettent d'effectuer en grandes séries, la détermination de la structure des facteurs sanguins qui sont de véritables marqueurs génétiques. La connaissance de la variabilité de ces marqueurs biochimiques permet donc d'élaborer des hypothèses relatives à l'origine des populations animales et de déterminer les relations génétiques entre races d'une même population ou d'une même espèce. Parmi les marqueurs immunogénétique, nous avons le polymorphisme des groupes sanguins et des protéines du sang.

#### 3.2.1. Groupes sanguins

La première mise en évidence de variations biochimiques a été réalisée, au début du siècle dernier, sur les groupes sanguins ABO humains. Chez les équins et les bovins, on connaît respectivement 8 et 13 systèmes sanguins répartis sur plusieurs loci polymorphes (**Delacretaz-Wolff, 1997**). Chez le cheval, les marqueurs génétiques sanguins ont été essentiellement utilisés pour l'identification et les contrôles de filiation, ils ont été employés pour établir le contrôle de filiation des chevaux de la race Barbe et Arabe-Barbe au Maroc (**Ouragh et al, 1994**).

#### 3.2.2. Protéines

C'est grâce à la technique de l'électrophorèse sur gel qu'il a été possible de mettre en évidence les variantes protéiques. Cette technique est basée sur une migration différentielle des protéines à travers un gel sous l'effet d'un champ électrique. Les études de variantes protéiques ou allozymes (enzymes sériques, érythrocytaires et tissulaires) deviennent alors un



outil standard pour l'investigation de la variation biochimique et fournissent le premier moyen non biaisé d'estimer la variabilité du génome (**Baumung et al, 2004**).

Les polymorphismes des protéines ont été les premiers marqueurs biochimiques utilisés dans l'élevage. Un grand nombre d'études, surtout au cours des années 70, ont documenté la caractérisation du groupe sanguin et des systèmes d'allozymes. Cependant, le niveau de polymorphisme des protéines est souvent faible et, par conséquent, l'utilisation du typage des protéines dans les études sur la diversité est réduite (**Rognon et Verrier, 2007**).

Chez le cheval, les marqueurs génétiques sanguins sont essentiellement utilisés pour la caractérisation des races et les contrôles de filiation. Ils ont été employés pour étudier la diversité génétique des chevaux Barbe du Maroc (**Ouragh, 1994**).

### **3.3. Méthodes moléculaires**

Durant les dernières décennies, avec le développement de nouvelles technologies de la biologie moléculaire, les polymorphismes de l'ADN sont devenus les marqueurs de choix pour étudier les structures génétiques et l'histoire évolutive des organismes. L'application des méthodes, développées dans le cadre de la génétique des populations aux populations domestiques, a ouvert de nombreux champs d'investigations. Un certain nombre de marqueurs sont à présent disponibles pour détecter les polymorphismes d'ADN dans les études sur la diversité génétique, mais les marqueurs les plus fréquemment utilisés sont les microsatellites (**Rognon et Verrier, 2007**).

#### **3.3.1. Marqueurs de l'ADN mitochondrial**

Les polymorphismes de l'ADN mitochondrial (ADNmt) ont été largement utilisés lors des analyses de la diversité génétique. L'ADNmt haploïde transporté par les mitochondries du cytoplasme cellulaire, possède un mode maternel d'hérédité (les animaux héritent l'ADNmt de leurs mères et non de leurs pères) et un taux de mutation élevé. Ces caractéristiques permettent aux biologistes de reconstruire les relations évolutives intra et interraciales par l'évaluation des modèles de mutations de l'ADNmt. Les marqueurs de l'ADNmt peuvent également fournir un moyen rapide de détecter l'hybridation entre les espèces et les sous-espèces d'animaux d'élevage (**Nijman et al, 2003**).

La quasi-totalité de la séquence de l'ADNmt est codante, les gènes sont contigus et ne contiennent pas d'introns. Les parties non codantes sont limitées à de courtes séquences et une partie plus longue correspondant à l'origine de réplication (D-loop). Plusieurs études ont suggéré que l'utilisation du polymorphisme de cette partie, très variable de l'ADN



mitochondrial, est efficace pour la caractérisation intra et inter-races (**Bowling et al. 2000 ; Hill et al. 2002; Kavar et al, 2002; Yang et al. 2002**). D'après l'étude réalisée par Baumung et collaborateurs (2004), chez le cheval 37% des études de caractérisation sont basées sur l'étude du polymorphisme de l'ADNmt.

### **3.3.2. Marqueurs RFLP**

Les polymorphismes de longueur des fragments de restriction (RFLP) sont identifiés en utilisant des enzymes de restriction et des sondes génétiques (**Botstein et al, 1980**). La méthode utilisée sous sa forme initiale ou méthode de Southern, est laborieuse et ne permet pas de traiter aisément un grand nombre d'individus. Par contre, la méthode couplage de cette PCR- digestion par des enzymes de restriction a permis d'étudier le polymorphisme de restriction de nombreux gènes (**Klungland et al, 1995 ; Lagziel et al, 2000**) pour la caractérisation de races domestiques.

### **3.3. 3. Marqueurs RAPD**

Un autre type de marqueur moléculaire RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), repose sur la mise en évidence de polymorphisme généré par l'amplification aléatoire de fragments d'ADN grâce à des amorces dont les séquences ont été définies arbitrairement (**Williams et al, 1990**). Cette méthode, couramment utilisée en cartographie génétique des végétaux et en génétique des populations, génère des marqueurs dominants (pas de différenciation des homozygotes et des hétérozygotes pour un site donné). Plusieurs études ont utilisé les marqueurs RAPD pour différencier génétiquement les animaux domestiques. Néanmoins, des problèmes de reproductibilité et de transmission de ce type de marqueur ont limité son application chez les animaux (**Black, 1993 ; Karp et al, 1996**).

### **3.3.4. Marqueurs AFLP**

Les marqueurs AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) sont étudiés par une méthode mise au point en 1995 (**Vos et al, 1995**). C'est une technique apparentée à la technique utilisée pour les RAPD. Elle est basée sur une amplification sélective de fragments de restriction obtenus par digestion de l'ADN génomique. Son principe général repose sur trois phases successives : une digestion ligation, une amplification pré sélective et une amplification sélective. Le produit final de ces amplifications est visualisé sur gel de polyacrylamide grâce aux extensions fluorescentes des amorces.

Tout comme la technique utilisée pour les RAPD, celle des AFLP ne requiert aucune connaissance préalable du génome à étudier. Elle permet une mise au point rapide, présente



une bonne reproductibilité et génère une grande quantité de marqueurs (**Ajmone-Marsan et al, 1997; Vos et al, 1995**). Parmi les marqueurs moléculaires, les AFLP sont les moins utilisés en caractérisation. En effet, 7% des études de caractérisation de races domestiques sont réalisées en utilisant les AFLP (**Baumung et al, 2004**).

### 3.3.5. Marqueurs microsatellites

L'une des principales méthodes utilisée aujourd'hui est celle mettant en évidence le polymorphisme des locus microsatellites ou STR (Short Tandem Repeats). Ces derniers sont des séquences d'ADN constituées de répétition en tandem d'un motif de 1 à 6 pb (**Chambers et MacAvoy, 2000**). Grâce à leurs caractéristiques, aussi bien biologiques que techniques, ces locus sont des marqueurs de choix pour l'analyse de la diversité entre races. En effet chez les eucaryotes, les microsatellites sont très abondants (50 à 100 000 suivant les espèces) et sont bien distribués dans le génome (**Rognon et Verrier, 2007**). Les microsatellites de type (TG) sont les plus abondants, leur fréquence varie en fonction de l'espèce considérée (**Beckman et Weber, 1992**). Le polymorphisme de ces séquences est un polymorphisme de répétition qui est dû à la variation du nombre de répétitions du motif de base. Les microsatellites présentent une répartition homogène sur le génome, sont codominants, multi alléliques et à priori neutres vis-à-vis du processus de sélection. En plus de ces caractéristiques, ces marqueurs sont très polymorphes du fait d'un taux de mutation très élevé car en moyenne, on peut considérer que ce taux est d'environ  $10^{-4}$  mutations par locus, par gamète et par génération (**Boichard et al, 1998**). Ces mutations peuvent être générées par deux mécanismes, les recombinaisons inégales constituant le premier mécanisme. En effet, les erreurs d'appariement sont fréquentes dans les régions de répétitions en tandem, compte tenu de la forte homologie de séquences entre les répétitions. Tout crossing-over intervenant lors de ces misappariements produit une augmentation du nombre de répétitions sur l'une des chromatides et une diminution d'un nombre équivalent de répétitions sur l'autre (**Cooper et al, 1995**). Le deuxième mécanisme susceptible de générer des mutations est le glissement intra-chromatidien (slippage). Lors de l'analyse de la transmission d'allèles de microsatellites dans des études de familles, il y a apparition de nouveaux allèles. Ces derniers ne diffèrent des allèles d'origine que par une seule unité répétée. L'augmentation de taille observée semble résulter d'un glissement de la polymérase consécutif à un misappariement. Ce phénomène serait ainsi la reproduction *in vivo* du phénomène observé *in vitro* lors de la PCR, au cours duquel la Taq polymérase s'avère incapable de reproduire fidèlement le nombre de répétitions d'origine et génère par glissement des bandes multiples, au lieu de la bande unique attendue (**Levinson et Gutman, 1987**).



L'utilisation des microsatellites dans des études de génétique des populations est très récente. Les microsatellites ont été en premier lieu utilisés dans l'étude des populations humaines puis dans les races domestiques pour évaluer la variabilité génétique intra-race et inter-races (**Ollivier et al, 2000**).

En effet, les potentialités des microsatellites, en tant que marqueurs pour mesurer la variabilité génétique des populations semblent considérables (**Bruford et Wayne, 1993**). Le nombre élevé et croissant d'études de variabilité génétique basées sur les microsatellites et concernant différentes espèces montre que, parmi les marqueurs disponibles à l'heure actuelle, les microsatellites sont très efficaces pour la caractérisation et l'étude des relations phylogénétiques entre les populations. Ils sont utilisés du fait de leur stabilité biologique, leur polymorphisme élevé et leur dispersion dans le génome. Ces marqueurs sont largement utilisés dans les études de caractérisation d'animaux domestiques.

Actuellement, chez la plupart des espèces d'animaux domestiques, une liste de références de locus microsatellites a été publiée par la FAO (**FAO, 2011**), afin de permettre la comparaison entre des analyses obtenues pour différentes espèces animales et par plusieurs équipes de recherche dans le monde.

### **3.3.6. Marqueurs SNP**

Une nouvelle génération de marqueurs polymorphes est actuellement en cours de développement : les SNP ou Polymorphismes de nucléotides uniques qui correspondent à des changements d'une base au niveau de la séquence d'ADN. Ils constituent la plus grande source de polymorphisme génétique caractérisable. Ces variations sont identifiées lors des programmes de séquençage à grande échelle de génomes ou de séquences exprimées EST « Expressed Sequence Tag » (**Lee et al, 2006**). Le principal inconvénient de tels marqueurs réside dans leur mise au point. Une fois obtenus, ces marqueurs peuvent se révéler très avantageux par leur facilité d'utilisation et leur reproductibilité (**Joly, 2005**).

Les SNP peuvent être étudiés par plusieurs techniques reposant sur différents principes (**Vignal et al, 2002**). L'une des plus prometteuses est basée sur l'utilisation de puces à ADN qui présentent un immense potentiel en matière de recherche de mutations génétiques et qui permettent d'analyser simultanément plusieurs milliers d'informations génétiques différentes (**Maudet, 2001**). Cependant, le génotypage à haut débit nécessite également des outils spécifiques permettant l'analyse simultanée de milliers ou dizaines de milliers de SNP (**Pitel et Riquet, 2000 ; Vignal et al, 2002**).



#### 4. Programmes de conservation des ressources génétiques animales

Les renseignements obtenus par l'approche de caractérisation favorisent une prise de décision éclairée sur les priorités de la gestion des ressources génétiques animales par les différents groupes d'intérêt, dont les agriculteurs, les gouvernements au niveau national et régional et les organismes internationaux (FAO, 1992; FAO/PNUE, 1998). Ces décisions politiques visent à promouvoir la mise en valeur des ressources zoogénétiques tout en garantissant la conservation de ces ressources pour les besoins des générations présentes et futures.

Une considération clé pour la gestion des ressources zoogénétiques au niveau national est la capacité de comprendre si, à un moment donné, une population d'une race particulière est durable de façon autonome ou en danger. Cette première évaluation (enquête de base) de l'état de la race ou de la population se base sur des renseignements sur:

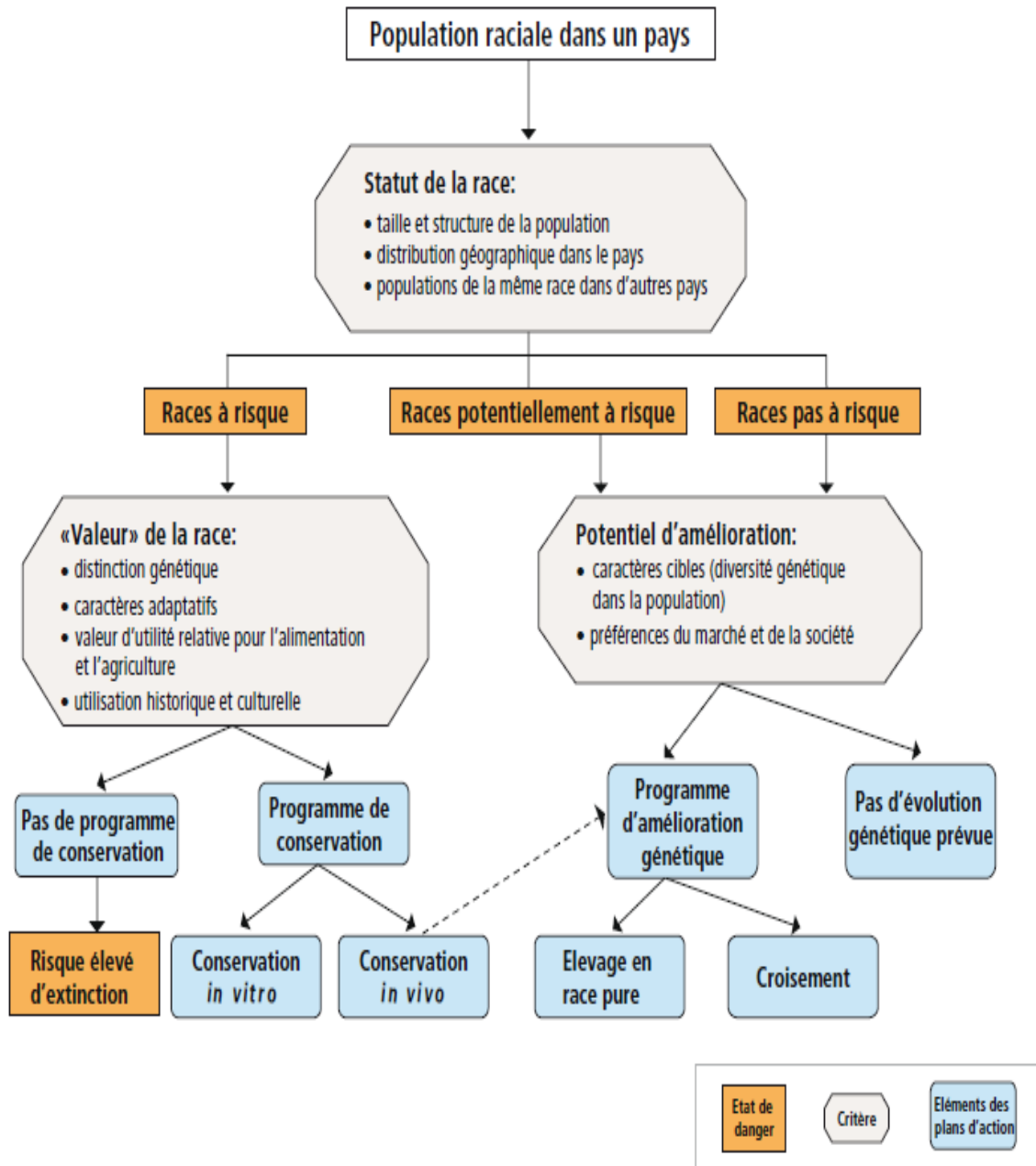
- ✓ la taille et la structure de la population;
- ✓ la distribution géographique;
- ✓ la diversité interrassiale;
- ✓ la relation génétique entre races lorsque les populations se trouvent dans plus d'un pays.

Si une population n'est pas en danger (**Figure 16**), aucune action immédiate de mise en œuvre des mesures de conservation n'est nécessaire. Cependant, il faudra prendre des décisions, dans le cadre des plans de développement nationaux, pour les animaux d'élevage qui présentent un potentiel risque d'extinction. Dans ce cas, il faudrait réaliser un programme d'amélioration génétique en réponse, par exemple, aux conditions changeantes de l'environnement. Les informations sur les avantages à long terme pour les éleveurs et la société sont à la base des décisions concernant de tels programmes d'amélioration.

Si une race est en danger, des stratégies actives de conservation doivent se mettre en place si non il faudra accepter la perte potentielle de la race. Pour allouer les ressources limitées disponibles pour les programmes de conservation, il faut d'abord définir les races prioritaires. Ces décisions peuvent se baser sur le caractère génétique distinctif, les caractères d'adaptation, la valeur relative pour l'alimentation et l'agriculture ou les valeurs historiques et culturelles des races concernées. Ces informations sont également nécessaires pour décider l'approche la plus prometteuse entre les stratégies de conservation *in vivo* ou *in vitro* ou une combinaison des deux. Si les races à conserver se trouvent dans plus d'un pays, les décisions devraient se prendre au niveau international. Par conséquent, les institutions/organisations de



coordination régionale, ainsi que les politiques nationales de soutien sont nécessaires pour faciliter la prise de décision et passer à l'action. À ce jour, on n'a reçu que très peu d'exemples d'actions concertées par plusieurs pays en matière de gestion des ressources zoo génétiques.



**Figure 16.** Informations nécessaires pour l'établissement des stratégies de gestion. Tirée de (FAO, 2008)

# *Problématique et objectifs*

---





Les ressources génétiques animales, aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement, représentent le plus précieux et le plus important élément, d'un point de vue stratégique dans le développement durable. Toutefois, ces ressources zoogénétiques jouent aussi des rôles essentiels dans la croissance économique, alimentaire, et dans le domaine environnemental et socioculturel au niveau mondial.

La gestion durable de la diversité génétique des animaux d'élevage dans le monde représente un élément essentiel des systèmes de production agricole. Le risque de diminution de la biodiversité des ressources génétiques animales autochtones d'un pays, est devenu une préoccupation à l'échelle mondiale. Au moment des grands changements qui caractérisent la vie sociale et économique en Algérie, l'évaluation de la situation de la filière équine s'avère nécessaire afin de déterminer les facteurs limitant son développement. Ces facteurs sont trop souvent liés aux déficits de valorisation de ces ressources équines, ainsi, que l'absence des programmes d'identification et de caractérisation génétique de ces races au niveau national.

La biologie moléculaire s'avère être un outil très important dans ce contexte, permettant une meilleure analyse de la diversité génétique, à la fois entre populations (diversité entre races, relations phylogénétiques), et au sein de ces populations (identification des individus, contrôle de filiation).

La gestion des races équines, autochtones ou d'importation, en Algérie n'a pas bénéficié, à ce jour de nouvelles technologies de la biologie moléculaire. Le besoin de l'identification et de la caractérisation du cheptel équin est indispensable, et constitue la base nécessaire à tout projet de sélection et d'amélioration des performances équines en Algérie.

Pour toutes ces raisons, nous nous sommes intéressés à lancer cette étude afin d'établir un état des lieux de la diversité génétique des cinq races équines élevées en Algérie (Barbe, Pur-sang Arabe, Arabe-Barbe, Pur-sang Anglais, Trotteur Français) par l'étude du polymorphisme génétique des microsatellites. Les principaux objectifs de cette thèse sont :

1. La réalisation des enquêtes sur le terrain sur une grande partie de territoire national pour mieux comprendre le contexte dans lequel évolue la filière équine,
2. L'échantillonnage à grande échelle d'animaux non apparentés, sur lesquels des prélèvements biologiques ont été effectués,
3. La constitution de la première biothèque d'ADN des races équines en Algérie.



4. L'estimation de la variabilité génétique intra-raciale qui existe au niveau des races équines en Algérie à partir de différentes approches statistiques,

5. L'évaluation de la diversité inter-populations par le calcul des distances génétiques, l'estimation des relations phylogénétiques entre populations et la validation du panel de 14 microsatellites pour les contrôles des filiations,

6. La proposition des outils permettant d'améliorer la gestion des populations équines. Ainsi que des solutions pratiques qui pouvant être mises en œuvre pour les haras nationaux et les éleveurs des chevaux afin d'améliorer la gestion de leurs races équines.

# *Populations d'Étude & Méthodes*

---



## I. POPULATIONS D'ETUDE

### 1. Principe d'échantillonnage

Une analyse de la diversité génétique des animaux d'élevage à partir de marqueurs moléculaires nécessite évidemment un échantillonnage de la population étudiée. Tout d'abord, il est bien connu que la précision des résultats dépend de la taille de l'échantillon. De plus, les résultats peuvent être biaisés si, par exemple, on échantillonne des individus de la même famille, donc génétiquement plus proches entre eux, les allèles que ce groupe d'individus portent alors risquent d'être surreprésentés.

Généralement, un échantillon de 20 à 50 individus par race devrait être choisi, de telle sorte qu'ils soient non apparentés. Cependant, le nombre d'individus échantillonnés peut varier selon le cas, il peut être même plus faible dans le cas d'une population locale hautement consanguine, et plus élevé dans le cas d'une population largement répandue, divisée en écotypes différents (Nei et Roychoudhury, 1974; Nei, 1978). Idéalement, l'échantillonnage devrait être représentatif des populations que l'on veut étudier. C'est pour cela que la FAO recommande l'utilisation d'un critère géographique, où un seul animal ou très peu d'animaux (non apparentés) sont échantillonnés par troupeau et dans des zones géographiques différentes (Parker *et al*, 2004).

### 2. Echantillonnage des populations d'études

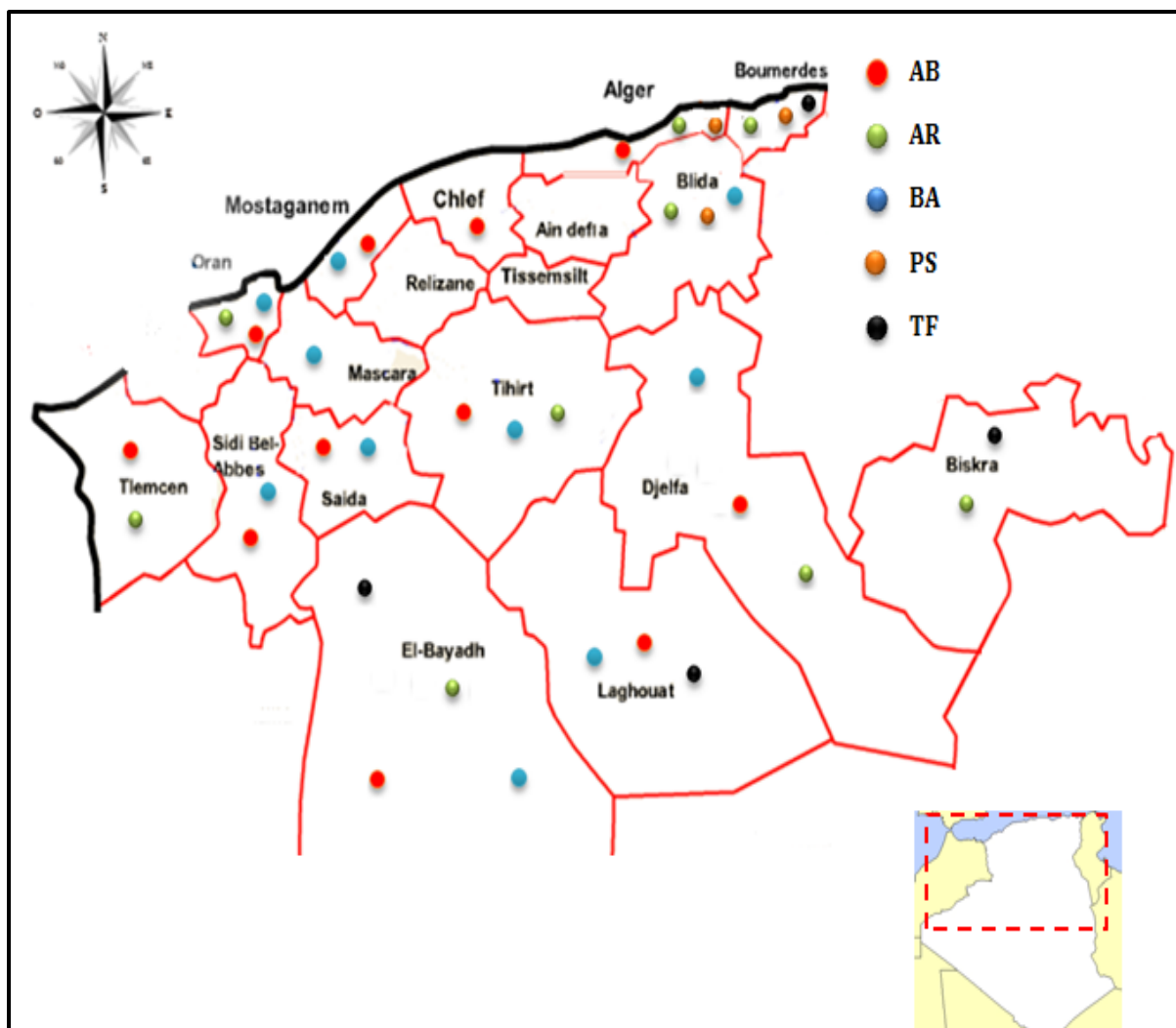
Dans le cadre de ce travail de recherche, une enquête sur le terrain a été réalisée afin de construire la première biothèque d'ADN équin. Ainsi, nous avons pu collecter des données nécessaires sur les caractéristiques de chaque race, leurs distributions géographiques, le mode d'élevage en général et leurs environnements de production. Cette première étape d'échantillonnage a été faite sur une durée de deux ans, et elle a été assurée grâce à des contacts avec différentes directions des services agricoles (DSA), les instituts techniques d'élevage (ITELV), l'Office national de développement de l'élevage équin et camelin (ONDEEC), l'Organisation Mondiale du cheval Barbe (OMCB), Haras national « *jumenterie de Chaouchaoua* » de Tiaret, des centres équestres et des propriétaires de chevaux (agriculteurs et éleveurs amateurs).

Les moyens disponibles permettaient de typer 201 individus inscrits au stud book Algérien de la race et répondant aux critères d'échantillonnage définis précédemment. Ces 201 échantillons composés de : 55 Arabe-Barbe (**AB**), 57 Pur-sang Arabe (**AR**), 41 Barbe (**BA**), 22 Pur-sang Anglais (**PS**) et 26 Trotteur Français (**TF**).



Au total, 15 wilayas couvrant une grande partie du territoire national ont été explorées: Tlemcen, Sidi Bel Abbès, Saïda, Djelfa, Tiaret, Laghouat, Mascara, Mostaganem, Boumerdes, Oran, El Bayadh, Alger, Blida, Biskra et Chlef (**Figure 17**). La réalisation des prélèvements en élevage sur tout le territoire national aurait nécessité des moyens financiers encore plus considérables que ceux mis à notre disposition et aurait induit des délais incompatibles avec la réalisation de cette thèse.

Pour tous les animaux échantillonnés, 10 ml de sang a été prélevé par animal au niveau de la veine jugulaire dans des tubes contenant de l'anticoagulant EDTA. Les informations de chaque spécimen ont été reportées sur une fiche de renseignement (**Annexe 1**) accompagnée d'une photo de l'animal échantillonné, Ces informations sont fournies soit par des éleveurs, des vétérinaires ou bien des techniciens d'élevage.



**Figure 17.** Carte des sites d'échantillonnage en Algérie pour les cinq races équinées étudiées. **AB**, Arabe-Barbe ; **AR**, Pur-sang Arabe ; **BA**, Barbe ; **PS**, Pur-sang Anglais ; **TF**, Trotteur Français.



## II. METHODES D'ANALYSES GENETIQUES

### 1. Extraction d'ADN et dosage

Dans notre travail, l'extraction d'ADN génomique à partir du sang total a été réalisée par la technique de NaCl « Salting out » (Miller et al, 1988). Cette méthode nécessite au préalable l'élimination des globules rouges par une solution de lyse hypotonique, suivie d'un choc thermique dans la glace. Dans un second temps, l'ADN des lymphocytes est également libéré. Cet ADN est ensuite traité par la protéase K qui le débarrasse de toutes les protéines auxquelles il est lié. Il est alors précipité par l'ajout de l'éthanol froid, sous forme de filaments qui se compactent rapidement en une masse blanchâtre appelée: *méduse*. Enfin, l'ADN pur sera dissout dans le tampon TE 10/1 (Tris/HCl: 10mM; EDTA:1mM; pH=8.0) (Annexe 2). Les ADN extraits sont dans un premier temps rangés dans des boîtes et conservées au congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$  pour être ensuite analysés par des outils de la biologie moléculaire. Ces ADN constituent la première biothèque d'ADN équin en Algérie au niveau de notre laboratoire de recherche de Génétique Moléculaire et Cellulaires à l'université de l'USTO MB.

La concentration d'ADN est estimée par la méthode de spectrophotométrie basée sur la capacité de l'ADN à absorber des rayonnements UV à l'aide d'un spectrophotomètre Nanodrop Lite (*Thermo Scientific NanoDrop<sup>TM</sup>8000*), et calculée par le logiciel Megellan intégré dans l'appareil de Nanodrop, permettant ainsi des mesures rapides, précises et reproductibles de la concentration et le degré de pureté de l'ADN.

Avoir un ADN pur signifie que le rapport des densités optiques ( $R = \text{DO à } 260 \text{ nm} / \text{DO à } 280 \text{ nm}$ ) doit être compris entre 1,5 et 2. Un rapport inférieur à 1,5 témoigne d'une contamination par les protéines. En revanche, s'il est supérieur à 2 on envisagera une contamination par les sels.

### 2. Choix des marqueurs microsatellites utilisés

Dans le cadre d'un programme d'évaluation de la variabilité génétique des espèces d'animaux domestiques, une liste de références de locus microsatellites a été publiée par la FAO-ISAG, afin de permettre la comparaison des données entre des analyses obtenues pour différentes espèces animales et par plusieurs équipes de recherche dans le monde. Les marqueurs microsatellites présentent les caractéristiques suivantes :



➤ Ils sont très abondants (50 à 100 000 suivant les espèces), et présentent une répartition homogène dans le génome (**Rognon et Verrier, 2007**).

➤ Ils sont codominants, et très polymorphes (ou informatifs). Un marqueur est considéré comme informatif s'il permet de distinguer deux groupes de descendants selon l'allèle reçu d'un des deux parents (**Boichard et al, 1998**).

➤ À priori, ces marqueurs sont neutres vis-à-vis du processus de sélection. Ils sont le plus souvent situés dans des zones non fonctionnelles du génome (non liés à des gènes fonctionnels qui pourraient être soumis à la sélection).

➤ Mis à part leurs propriétés génétiques, les microsatellites présentent des intérêts techniques considérables. En effet le génotypage de ces marqueurs est relativement simple et rapide, et surtout peu coûteux. Il permet ainsi de réaliser des économies et de multiplier le nombre d'individus à analyser ainsi que le nombre des marqueurs étudiés simultanément quand les amorces utilisées sont marquées par des fluorophores de couleurs différentes (PCR multiplex).

Un jeu de 14 marqueurs microsatellites a été choisi pour le génotypage des races équines algériennes. L'ensemble de ces marqueurs font partie de la liste recommandée par le Groupe Consultatif ISAG-FAO pour l'identification et le contrôle de filiation des races équines à l'échelle mondiale. Dans notre étude, les 14 microsatellites sont répartis en deux multiplex : le multiplexe MP1 EQUIN contient 11 microsatellites: *AHT4*, *AHT5*, *ASB2*, *HMS1*, *HMS3*, *HMS6*, *HMS7*, *HTG4*, et *HTG6*, *HTG10*, *VHL20*, et le multiplexe MP2 EQUIN composé de: *ASB17*, *ASB23*, *HMS2*, et *HTG10* (le microsatellite *HTG10* présente dans les deux multiplexe). Les amorces utilisées sont synthétisées par *Eurogenetec*. Les amorces marquées avec le fluorophore 6-FAM émettent dans le bleu, et celles marquées par le fluorophore HEX émettent dans le vert. Applied Biosystems a synthétisée les amorces ayant le marquage NED (émettent dans le jaune). Les caractéristiques de ces marqueurs sont présentées dans le tableau1.



Tableau 1. Caractéristiques du panel de 14 marqueurs microsatellites utilisé dans cette étude.

Microsatellites	Localisation chromosomique	Séquence	TM	Marquage	Taille des alleles (pb)	Reference
MPI EQUIN	AHT4	AACCGCCTGAGCAAGGAAGT	59,3	6-FAM	144-164	Binns <i>et al.</i> (1995)
		GCTCCCAGAGAGTTACCT	56,1	NM		
	AHT5	ACGGACACATCCCTGCCTGC	62,4	HEX	126-144	Binns <i>et al.</i> (1995)
		GCAGGCTAAGGGGGCTCAGC	63,5	NM		
	ASB2	CACTAAGTGTCGTTTCAGAAGG	53,7	6-FAM	216-250	Breen <i>et al.</i> (1997)
		CACAACTGAGTTCTCTGATAGG	52,8	NM		
	HMS1	TCACCATCACTCTTCATGTCTGC	57	NED	170-186	Guerín <i>et al.</i> (1994)
		CTCCAATATTGACATAAATGCTTATCC	52,7	NM		
	HMS3	CCAACTCTTTGTACATAACAAGA	53,5	NED	148-170	Guerín <i>et al.</i> (1994)
		CCATCCTCACTTTTTCACTTTGTT	54,2	NM		
	HMS6	GAAGCTGCCAGTATCAACCATTG	57,1	HEX	151-169	Guerín <i>et al.</i> (1994)
		CTCCATCTTGTAAGTGTAACTCA	54,6	NM		
HMS7	TGTTGTTGAAACATACCTTGACTGT	55	6-FAM	165-185	Guerín <i>et al.</i> (1994)	
	CAGGAACTCATGTTGATACCATC	54	NM			
HTG4	ATGAGCAGGAAGGCCAGGGTTC	61,8	NED	127-139	Ellegren <i>et al.</i> (1992)	
	CTCCCTCTGTTCTCTCTCCTTC	57,9	NM			
HTG6	CCTGCTGGAGGCTGTGATAAGAT	58,9	HEX	84-102	Ellegren <i>et al.</i> (1992)	
	GTTCACTGAATGTCAAATTCTGCT	54,3	NM			
HTG10	TGCATTTTATTGGGCTTTTATTCTGATC	55,1	NED	95-115	Marklund <i>et al.</i> (1994)	
	GTTTCTTCAATCCC GCCCACC	61,3	NM			
VHL20	CAAGTCCTTACTTGAAGACTAG	52,6	6-FAM	87-105	Van Haeringen <i>et al.</i> (1994)	
	AACTCAGGGAGAATCTTCCTCAG	56	NM			
MP2 EQUIN	ASB17	GAGGGCGGTACCTTTGTACC	58,9	HEX	87-129	Breen <i>et al.</i> (1997)
		ACCAGTCAGGATCTCCACCG	54,3	NM		
	ASB23	GCAAGGATGAAGAGGGCAGC	59,3	6-FAM	175-211	Irvin <i>et al.</i> (1998)
		CTGGTGGGTTAGATGAGAAGTC	56,1	NM		
	HMS2	ACGGTGGCAACTGCCAAGGAAG	55	6-FAM	222-248	Guerín <i>et al.</i> (1994)
CTTGCAAGTCGAATGTGTATTAATG	54	NM				

NM : amorce non marqué





### 3. Amplification *in vitro* de l'ADN par PCR

La PCR est réalisée à l'aide d'un Master Mix Qiagen contenant les dNTPs, le MgCL<sub>2</sub>, la TAQ polymérase et le tampon de dilution. Les concentrations des différents composants sont optimisées par le fabricant afin de donner de bons résultats pour des fragments allant jusqu'à 1 Kb. Deux multiplex d'amorces sont nécessaires pour le génotypage des équins. Les amorces mères ont une concentration de 250 pmol/ul.

Nous avons réalisé un mix de PCR contenant 3 µl de multiplex (MP1) et (MP2) et 5 µl de Master Mix Qiagen. Dans des plaques de 96 puits à jupe, on distribue, par puits 2 µl (soit en moyenne 20 ng d'ADN) et 8 µl du mix de PCR. Après scellage, les plaques sont déposées dans un thermocycleur (*MJ Research PTC 200*). Les conditions d'amplifications comportent successivement une étape de dénaturation initiale à 95°C pendant 15 minutes, suivie de 30 cycles comprenant chacun une dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, une étape d'hybridation à 58°C (selon les amorces utilisées) durant 90 secondes et une étape d'élongation de 1 minutes à 72°C. Après les 30 cycles d'amplification, la réaction se termine par une étape d'élongation à 60°C pendant 30 minutes permettant d'achever l'élongation de tous les brins d'ADN néo-synthétisés

### 4. Dépôt sur le séquenceur

La préparation des plaques de dépôt a été réalisée à l'aide d'un automate AQUARIUS de TECAN. L'automate permet la dilution au 1/5<sup>ème</sup> des produits PCR et l'intégration du mélange formamide/ROX500 (10 µL pour 2 µL de produit PCR dilué). Les plaques ont été ensuite dénaturées à 95°C pendant 5 min, avant d'être placées dans le séquenceur ABI PRISM 3730 (*Applied Biosystems*). La migration des fragments d'ADN s'effectue dans un polymère dérivé de l'acrylamide (pop6) dans 96 capillaires, avec un programme d'injection de 1 Kv/5 sec.

### 5. Génotypage des microsatellites

Lors de la migration des produits PCR dans les capillaires du séquenceur, les fluorophores sont excités par un laser et l'émission de la fluorescence est interprétée par le programme Genemapper 3.7 NT (*Applied Biosystems*). Ce dernier permet de déterminer le génotype de chaque échantillon pour chacun des 14 microsatellites étudiés. Le standard de taille ROX 500 permet d'attribuer une taille aux différents pics d'intensité. Seuls les profils possédant une intensité supérieure à 300 nm ont été conservés pour le génotypages.



### III. METHODES D'ANALYSES STATISTIQUES

#### 1. Logiciels utilisés

L'étude de la biodiversité génétique nécessite des approches statistiques particulières réalisées par des technologies d'analyse des données à haut débit, une vitesse et une mémoire d'ordinateur élevées.

Le développement de la bioinformatique et les progrès technologiques de nombreux outils statistiques en génétique des populations, permet de traiter plus rapidement une série de données sur plusieurs marqueurs moléculaires, ainsi que la production massive de différentes caractéristiques dans des populations données. Les huit logiciels utilisés ainsi que leurs fonctionnements sont illustrés dans le tableau 2.

**Tableau 2.** Liste des logiciels bioinformatiques utilisés dans les analyses statistiques de cette étude.

Logiciel	Site web	Caractéristiques
<b>FSTAT</b>	<a href="http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm">http://www2.unil.ch/ popgen/softwares/fstat.htm</a>	Programme complet sur les indices en génétique des populations pour évaluer la diversité et la divergence génétique.
<b>GENETIX</b>	<a href="http://www.univmontp2.fr/genetix/genetix/">http://www.univmontp2.fr/genetix/genetix/</a>	Programme complet sur les indices en génétique des populations pour évaluer la diversité et la divergence génétique.
<b>GENEPOP</b>	<a href="http://ftp.cefe.cnrs.fr/PC/MSDOS/GENEPOP">http://ftp.cefe.cnrs.fr/PC/MSDOS/GENEPOP</a>	Calcule la diversité et la divergence génétique. Test d'équilibre d'Hardy-Weinberg et les déséquilibres de liaison.
<b>GENECLASS2</b>	<a href="http://www.montpellier.inra.fr/URLB/index.htm">http://www.montpellier.inra.fr/URLB/index.htm</a>	Détecte les migrants et assigne les individus à leur population d'origine.
<b>MICRO-CHEKER</b>	<a href="http://www.microchecker.hull.ac.uk/">http://www.microchecker.hull.ac.uk/</a>	Détecte les allèles nuls au sein de marqueurs microsatellites.
<b>POPULATION</b>	<a href="http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/">http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/</a>	Calculs de distances génétiques entre populations, construction d'arbres phylogénétiques ( <i>UPGMA</i> / <i>Neighbor Joining</i> ) à partir de matrices de distances.
<b>Logiciel R (package APE)</b>	<a href="http://www.R-project.org">http://www.R-project.org</a>	Construction des arbres individuels basés à la distance des allèles partagés.
<b>STRUCTURE</b>	<a href="http://pritch.bsd.uchicago.edu/software/structure_2_1.html">http://pritch.bsd.uchicago.edu/software/structure_2_1.html</a>	Identifie des groupes et assigne les individus aux groupes les plus probables.



## 2. Principes des analyses faites en génétique des populations

Dans le cadre de cette étude, la caractérisation génétique des cinq races équines a été établie. Une première analyse nous a renseigné sur la déviation des populations étudiées par rapport à l'équilibre d'Hardy-Weinberg (EHW) ainsi que sur le déséquilibre de liaison entre marqueurs. Par la suite, la variabilité génétique a été analysée à deux niveaux: la variabilité intra-population et la variabilité inter-populations. Ces deux niveaux complémentaires nécessitent des outils statistiques différents, l'étude de la variabilité intra- population précédant toujours celle de la variabilité inter-populations.

### 2.1. Équilibre de Hardy Weinberg

L'équilibre de Hardy-Weinberg est un des principes fondamentaux de la génétique des populations en ce sens qu'il s'agit d'un bon descripteur de la structure génétique des populations naturelles. Ainsi, dans un cas idéal où il y a panmixie pour une population de taille infinie et qui n'est soumise à aucune pression évolutive (dérive, migration, sélection, mutation), les fréquences des gènes et des génotypes ne varient pas d'une génération à l'autre. Il s'agit d'un état d'équilibre pour la population.

Les tests de l'hypothèse d'équilibre de Hardy-Weinberg et de ses alternatives d'excès ou de déficit d'hétérozygotes ont été analysés avec le logiciel GENPOP version 4.0 (**Raymond et Rousset, 1995**) pour chaque locus puis sur l'ensemble des locus dans chaque population. Étant donné qu'un grand nombre de tests statistiques sont réalisés sur le même jeu de données, le risque qu'un résultat significatif soit le fait du hasard est amplifié. Il est donc nécessaire d'appliquer la correction de Bonferroni pour les tests multiples (**Rice, 1989**), en divisant le seuil de significativité de 5% par le nombre de tests réalisés (nombre de marqueurs).

### 2.2. Déséquilibre de liaison

Le déséquilibre de liaison dans une population, ou déséquilibre de phase gamétique, se définit comme l'association non aléatoire d'allèles à des locus différents. C'est un outil central pour les généticiens car il renseigne sur l'histoire des populations. De nombreux mécanismes peuvent être à l'origine du déséquilibre de liaison, les plus importants étant les mélanges de populations, la dérive génétique et l'effet fondateur, la sélection naturelle.



Le déséquilibre de liaison est testé sur la base des tableaux de contingence pour chaque paire de locus dans chaque population. L'indépendance statistique des locus a été testée au moyen d'un test exact de Fisher proposé par le logiciel GENPOP version 4.0 (**Raymond et Rousset, 1995**). Une correction de Bonferroni a été appliquée aux tests appariés afin de prendre en compte le biais lié aux comparaisons multiples (**Rice, 1989**).

### 2.3. Analyse de la diversité intra-population

Dans un premier temps, l'étude a porté sur la mesure de la variabilité génétique au sein des populations étudiées. Elle a été estimée grâce aux paramètres suivants: le taux de polymorphisme ( $P$ ), les fréquences alléliques, le taux d'hétérozygotie, le nombre total d'allèles et la richesse allélique ( $A_R$ ), l'indice de fixation ( $F_{IS}$ ).

#### 2.3.1. Taux de polymorphisme des marqueurs microsatellites

Une autre manière d'évaluer la variabilité génétique d'une population est de prendre en compte le nombre d'allèles existant pour les marqueurs analysés. Un grand nombre d'allèles impliquant une grande diversité. On considère un marqueur comme très polymorphe lorsqu'il a au moins deux allèles et la fréquence de l'allèle le plus fréquent est supérieure ou égale à 0,95 (**Toro et Caballero, 2004**).

#### 2.3.2. Fréquences alléliques

La fréquence allélique est la principale valeur qui est à la base de l'analyse statistique de la variabilité génétique d'une population. Ainsi la fréquence d'un allèle dans un échantillon est égale à deux fois le nombre de génotypes homozygotes pour cet allèle (chaque homozygote porte deux copies de l'allèle), plus le nombre des génotypes hétérozygotes comportant cet allèle (chaque hétérozygote porte une copie), divisé par deux fois le nombre total d'individus dans l'échantillon (car chaque individu porte deux allèles à ce locus) (**Hartl, 1988**). La formule est la suivante pour calculer la fréquence  $P_i$  de l'allèle  $i$  au locus  $k$  dans la population  $x$  :

$$P_{ikx} = 2(n_{ii}) + n_i / 2N$$

$n_{ii}$  est le nombre d'individus homozygotes pour l'allèle  $i$  au locus  $k$ ,

$n_i$  est le nombre d'individus hétérozygotes pour l'allèle  $i$  au locus  $k$ ,

$N$  est le nombre total d'individus typés au locus  $k$ .



Avec : 
$$\sum_{i=1}^{l_k} P_{ik} = 1$$
  $i_k$ : est le nombre d'allèles au locus  $k$

Les fréquences alléliques ont été calculées pour chaque microsatellite et sur l'ensemble des cinq populations, grâce au logiciel GENETIX version 4.04 (Belkhir *et al*, 2002).

### 2.3.3. Taux d'hétérozygotie

L'évaluation de la variabilité génétique au sein d'une population s'effectue généralement en référence à la proportion d'hétérozygotes au niveau d'un ou plusieurs locus. La manière la plus simple est de compter le nombre d'individus effectivement hétérozygotes, ce qui permet de calculer un taux d'hétérozygotie observée ( $H_o$ ). Cependant, cette proportion dépend aussi de la manière dont les couples de reproducteurs sont constitués.

Ainsi, le paramètre plus généralement employé pour apprécier la variabilité intra population est le taux d'hétérozygotie attendue ( $He$ ) mis au point par Nei (1987), attendu selon l'hypothèse de panmixie et compte tenu des fréquences alléliques observées. Dans une population de très grande taille, pour un locus ayant  $n$  allèles, l'allèle  $i$  ayant une fréquence  $P_i$ , le taux d'hétérozygotie attendue  $He$  se calcule comme suit :

$$He = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

Toutefois, lorsque l'on travaille sur un nombre limité d'individus, la formule ci-dessus conduit à une sous-estimation du taux d'hétérozygotie attendue. Nei (1978) a développé une formule conduisant à une estimation non biaisée dans ce cas. Soit  $N$  le nombre d'individus génotypés, alors le taux d'hétérozygotie non biaisé  $H_{nb}$  s'exprime ainsi :

$$H_{nb} = \frac{2N \left( \sum_i p_i^2 \right)}{2N - 1}$$

Dans notre analyse, étant donné le faible nombre d'animaux échantillonnés par race, il est préférable de considérer l'hétérozygotie attendue non biaisée. Le taux d'hétérozygotie observé et non biaisé ont été calculés à l'aide du logiciel GENETIX version 4.04 (Belkhir *et al*, 2002).



### 2.3.4. Nombre total d'allèles et richesse allélique

Le nombre total d'allèles ne fournit, toutefois, qu'une image « optimiste » de la variabilité génétique car ce paramètre ne tient pas compte des fréquences alléliques, et donc donne le même poids à un allèle rare qu'à un allèle très répandu dans la population. Pour pallier ce problème, le concept de la richesse allélique a été introduit (**Crow et Kimura, 1970**).

La richesse allélique d'une race, définie comme le nombre d'allèles présents à un locus donné, est connue pour dépendre de la taille de l'échantillon, puisque les chances de découvrir un nouvel allèle augmentent chaque fois qu'un nouvel individu est observé. Pour comparer la richesse allélique de deux races il est donc nécessaire de corriger le nombre d'allèles observé en fonction de la taille de l'échantillon. Soit un locus à  $n$  allèles, l'allèle  $i$  ayant la fréquence  $P_i$ , La richesse allélique ( $A_R$ ) se calcule comme suit :

$$A_R = \frac{1}{\sum_{i=1}^n P_i^2}$$

Pour prendre en compte les différences de tailles d'échantillons qui peuvent biaiser les estimations, des méthodes ont été développées pour ramener toutes les populations à une taille d'échantillon comparable, soit par raréfaction (**El Mousadik et Petit, 1996**), soit par extrapolation (**Foulley et Ollivier, 2006**). Dans notre étude, la richesse allélique a été déterminée par raréfaction grâce au logiciel FSTAT version 2.9.3 (**Goudet, 2001**).

### 2.3.5. Indice de fixation

A l'échelle d'une population et à partir de données moléculaires, la consanguinité peut être évaluée à partir de coefficient de consanguinité intra population de Wright appelé aussi l'indice de fixation:

$$F_{IS} = 1 - \frac{H_{obs}}{H_e}$$

Cet indice correspondrait à la perte actuelle d'hétérozygotie due à la consanguinité. Le  $F_{IS}$  peut aussi être utilisé pour mettre en évidence un déséquilibre de Hardy-Weinberg, des valeurs positives et négatives de  $F_{IS}$  indiquant respectivement des déficits et excès d'hétérozygote. Cet indice a été calculé au moyen du programme GENETIX software version 4.04 (**Belkhir et al, 2002**).



## 2.4. Analyse de la diversité inter-populations

L'un des principaux avantages de l'outil moléculaire est de pouvoir effectuer des comparaisons entre populations, ce qui permet notamment d'évaluer l'originalité génétique des races ainsi que les éventuels liens qui existent entre elles. La structure génétique des populations a été analysée à différents niveaux afin de mettre en évidence la variabilité de la façon la plus optimale. Ainsi, dans la présente étude, nous sommes intéressés à faire un état des lieux de ces différentes méthodes.

### 2.4.1. Étude des liens génétiques entre populations

Analyser le passé et les relations phylogénétiques entre différentes populations nécessitent différentes approches employées indépendamment ou en complément afin d'estimer la variabilité génétique entre les races.

#### 2.4.1.1. Paramètres de différenciation des populations

Un des moyens les plus simples, pour analyser la diversité génétique entre populations, consiste à étudier les  $F$ -statistiques ( $F_{IS}$ ,  $F_{ST}$  et  $F_{IT}$ ) développés par **Wright (1968)**. Soit  $T$ , une espèce (population totale) formée de  $S$  sous-populations dont chacune est composée de  $I$  individus. Ces paramètres ont été étudiés à trois niveaux, et traduisent les situations suivantes :

✓  $F_{IS}$  ( $I$  pour individus et  $S$  pour sous-populations) estime l'écart à la panmixie dans une sous-population. Il mesure l'excès ou le déficit d'hétérozygotie à l'intérieur de chaque population. Ses valeurs varient de -1 (excès en hétérozygotes) à +1 (déficit en hétérozygotes).

✓  $F_{ST}$  ( $S$  pour sous-populations et  $T$  pour population totale) mesure la différenciation génétique entre deux sous-populations. Il exprime le déficit en hétérozygotes issu de la structuration en sous-populations, et exprime ainsi les différences de fréquences alléliques entre les sous-populations. Sa valeur est toujours positive : 0 (pas de structuration) à 1 (structuration bien différenciée des sous-populations).

✓  $F_{IT}$  ( $I$  pour individus et  $T$  pour population totale) mesure l'écart à la panmixie à l'échelle globale de la population. Comme pour le  $F_{IS}$ , les valeurs du  $F_{IT}$  varient de -1 (excès en hétérozygotes) à +1 (déficit en hétérozygotes).



Ces trois indices de fixation sont unis par une relation mathématique :

$$1 - F_{IT} = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$$

Les estimateurs des  $F$ -statistiques ont été déterminés selon la méthode de **Weir et Cockerham (1984)** et calculés avec le logiciel FSTAT version 2.9.3 (**Goudet, 2001**).

#### 2.4.1.2. Flux génétique entre populations

Par ailleurs, Il est possible de quantifier le flux de gènes entre populations, par le calcul du nombre de migrants par génération ( $N_m$ ) qui peut être mesuré à l'aide de l'expression suivante selon **Slatkin et Barton (1989)**:

$$N_m = \frac{(1 - G_{ST})}{4G_{ST} \left( \frac{n}{n-1} \right)^2}$$

Où :  $n$  indique le nombre de populations.

$G_{ST}$  est le coefficient de différenciation génétique (**Nei, 1987**).

Plus la valeur de  $N_m$  est supérieure à 1, plus l'échange de gènes est important. Dans notre étude, les calculs de  $N_m$  entre populations ont été réalisés par le logiciel GENETIX version 4.04 (**Belkhir et al, 2002**).

#### 2.4.1.3. Utilisation des distances génétiques et établissement des phylogénies

Le calcul des matrices de distances génétiques entre populations et l'établissement à partir de ces dernières, de phénogramme, constituent les méthodes les plus classiques pour l'étude de liens génétiques entre populations, et ont donc été fréquemment utilisées pour les races d'animaux d'élevage. Nous présenterons ici brièvement les distances les plus communément utilisées.

➤ La distance standard de **Nei (1972)**  $D_s$ . Elle est basée sur les distances arithmétiques entre fréquences alléliques et constitue la distance la plus classiquement utilisée. Soit  $x_{ij}$  (respectivement  $y_{ij}$ ) la fréquence de l'allèle  $i$  du  $j^{\text{ème}}$  locus au sein de la population  $x$  (respectivement  $y$ ), et  $r$  le nombre de locus étudiés,  $D_s$  est calculée ainsi :

$$D_S = -\ln \left( \frac{\sum_j \sum_i x_{ij} y_{ij} / r}{\sum_j \sum_i x_{ij}^2 / r \sum_j \sum_i y_{ij}^2 / r} \right)$$





➤ L'indice de fixation  $F_{ST}$  (**Wright, 1968**) évoqué précédemment, a aussi pu être utilisé comme une distance génétique. Il est calculé à partir de la formule suivante :

$$F_{ST} = \frac{\left( \sum_j \sum_i x_{ij}^2 / r + \sum_j \sum_i y_{ij}^2 / r \right) / 2 - \sum_j \sum_i x_{ij} y_{ij} / r}{1 - \sum_j \sum_i x_{ij} y_{ij} / r}$$

➤ La distance de **Reynolds**, Reynolds *et al* (1983) ont développé à partir de l'indice de fixation  $F_{ST}$ , une distance appropriée à des temps de divergence courts, en utilisant la formule suivante :

$$D_L = -\ln(1 - F_{ST})$$

A partir des matrices des distances calculées, les arbres ont été établis en utilisant deux méthodes en général :

➤ La méthode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages*) (**Sokal et Michener, 1958**). Cette méthode suppose que les vitesses d'évolution sont identiques entre les différentes branches de l'arbre (hypothèse de l'horloge moléculaire) et donc que la distance mesurée sur l'arbre entre deux populations est proportionnelle au temps de divergence entre ces deux populations.

➤ La méthode NJ (*Neighbor-Joining*) (**Saitou et Nei, 1987**). Elle consiste à minimiser la longueur totale de l'arbre. Cette méthode n'impose aucune contrainte dans les vitesses d'évolution entre les lignées (pas d'horloge moléculaire) et permet l'élaboration d'arbres non racinés ou réseaux. En effectuant des tirages au sein des allèles et en calculant la fréquence de chaque regroupement à partir des arbres ainsi constitués (*bootstraps*), il est possible de tester la stabilité des embranchements obtenus au sein d'un arbre.

La comparaison entre les différentes méthodes a permis de démontrer que l'hypothèse de l'horloge moléculaire était rarement respectée pour des populations ayant divergées récemment, et donc soumises à la dérive génétique plus qu'aux mutations. Dans ces conditions, l'UPGMA pouvait générer des arbres incorrects (**Bennett *et al*, 1997**). En ce qui concerne les distances, les études de comparaisons ont tendance à favoriser les distances de Reynolds qui serait la plus appropriée puisqu'elle est basée sur la dérive génétique qui est considérée comme le processus évolutif le plus probablement responsable de l'évolution de ces populations à cause du temps réduit de leur divergence (**Takezaki et Nei, 1996**).



Ainsi, dans la présente étude, les relations phylogénétiques entre toutes les populations ont été évaluées par l'établissement d'arbre phylogénétique de type « *Neighbor-Joining* » basée sur la distance de Reynolds à l'aide du programme POPULATION version 1.2.30 (Langella, 2002).

#### 2.4.1.4. Analyses factorielles des correspondances

Une analyse factorielle des correspondances (*AFC* ; selon les recommandations de She *et al.* (1987)) a été réalisée afin de représenter graphiquement les relations génétiques entre individus. L'espace formé par les axes les plus informatifs permet d'apprécier la structure génétique des populations. D'une manière générale un code couleur permet de visualiser l'appartenance de chaque individu à sa population d'origine.

Une analyse factorielle des correspondances (*AFC*) a été aussi effectuée à l'aide du logiciel GENETIX version 4.04 (Belkhir *et al.* 2002).

#### 2.4.1.5. Méthodes de clustering

Afin de mettre en évidence l'existence de groupes génétiquement distincts à l'intérieur d'une population, Pritchard *et al.* (2000) ont développé un algorithme basé sur des méthodes Bayésiennes de Clustering à l'aide de STRUCTURE version 2.3.3 (Pritchard *et al.* 2000). Cette approche définit «*K*» sous-populations, en assignant les individus à un ou plusieurs groupes «clusters» avec un certain pourcentage, sans information a priori sur leur appartenance à une population.

Les analyses de STRUCTURE sont lancées, avec un '*burn-in*' de 50000 suivi de 100000 itérations. En fixant *K* entre 2 et 9 suivie d'un jeu de vingt simulations MCMC (*Markov Chain Monte-Carlo*).

Pour la détermination de la valeur de *K* la plus vraisemblable et donc le nombre de sous populations le plus probable, la courbe d'évolution du log-likelihood en fonction de *K* peut montrer dans certains cas un maximum ou un plateau à un point donné, que l'on considère alors comme la valeur de *K* optimale (Pritchard *et al.* 2000). Cette méthode n'est pas toujours efficace, ce qui a motivé le développement d'une autre méthode pour le choix de *K* (Evanno *et al.* 2005). Cette deuxième méthode est basée sur la variation de second ordre du log-likelihood, qui semble plus efficace pour certaines données (Camus-Kulandaivelu, 2007).



Dans notre étude, nous avons évalué la valeur la plus probable de  $K$  en utilisant le taux de changement de second ordre  $L''(K)$  selon **Evanno *et al.* (2005)** à l'aide de l'application en ligne de *Structure Harvester* version.0.6.1 (**Earl and Vonholdt, 2011**).

#### 2.4.2. Méthodes d'affectation des individus à une population

La possibilité d'affecter un individu à une population constitue une approche particulière de l'étude de la diversité génétique inter-populations, puisqu'elle permet à partir d'un échantillon d'ADN, d'identifier la race d'un individu de manière fiable à cent pour cent. L'affectation a aussi une application beaucoup plus pratique, lors de l'inscription à titre initial d'un individu de généalogie inconnue à une race (**Leroy *et al.*, 2008**).

##### 2.4.2.1. Test d'affectation individuel

Dans un deuxième temps, la probabilité d'affectation d'un individu à une race a été calculée selon l'algorithme proposé par **Paetkau *et al.* (2004)**. Le principe est d'ignorer l'information sur l'origine raciale des animaux, de les classer en fonction de leur ressemblance sur la base des génotypes aux marqueurs, de calculer la fiabilité de ce classement sur un grand nombre de répétitions (10000) et de comparer ensuite ce classement avec leur origine raciale.

Le logiciel utilisé est GENECLASS2 (**Piry *et al.*, 2004**). Le critère retenu pour l'affectation est celui de **Rannala et Mountain (1997)**, un individu est classé dans la population pour laquelle la probabilité d'affectation est la plus élevée.

##### 2.4.2.2. Arbre individuel

En évaluant les distances entre individus plutôt qu'entre populations, il est possible de voir comment les individus sont regroupés et si certains membres présumés d'une population sont placés en dehors de cette dernière. Dans ces cas-là, des arbres individuelles de type «*Neighbor-Joining* » ont été construits, et sont basés sur le «*model free shared allele distances* » (distance des allèles partagées,  $D_{AS}$ ). Cette distance est recommandée pour des populations fortement apparentées, ainsi que pour l'analyse des microsatellites de l'ADN nucléaire d'une manière générale (**Takezaki and Nei, 1996**).

La réalisation de cette arbre est effectuée en utilisant le package *APE* de logiciel **R** (**R Development Core Team, 2011**).



### 2.4.2.3. Méthode de clustering

L'approche développée par **Pritchard *et al.* (2000)** et présentée précédemment, peut, par définition, être employée pour affecter les individus à une population. Dans cette approche, chacune des races constituait un unique cluster (groupe de population).

## 2.5. Les contrôles de filiation

La qualité de l'information généalogique est un élément majeur de la fiabilité des programmes de sélection (**Verrier *et al.*, 2005**). L'enregistrement des généalogies ou les filiations des animaux a débuté au siècle dernier avec les premiers livres Généalogiques (herd-books bovins et porcins, flock-books ovins et stud-books équins). Même pour ces espèces où les généalogies sont relativement bien établies, la loi de l'élevage et l'amélioration génétique des animaux a exigé le contrôle de filiation pour s'assurer de l'exactitude des généalogies enregistrées dans les fichiers des chaînes nationales d'identification.

Le contrôle de filiation consiste à évaluer l'ascendance d'un individu en comparant le profil de marqueurs de la descendance à celui des parents potentiels. On choisit à cette fin des marqueurs très informatifs distribués sur l'ensemble du génome pour établir l'empreinte génétique de chaque individu.

Depuis plusieurs années, la mise en place des marqueurs moléculaires a permis de réaliser des tests de contrôle des filiations avec une grande exactitude. Pour la filière équine des réglementations internationales sont obligatoires pour les contrôles de la filiation des chevaux :

✓ Lors de l'exportation ou de l'importation d'un reproducteur ou d'un embryon, un certificat d'identification génétique et de contrôle de filiation est obligatoirement échangé entre le laboratoire du pays de départ et celui d'accueil. Ce document servira à effectuer les contrôles de filiation sur les descendants de cet animal.

✓ Pour tous les équidés produits par insémination artificielle.

✓ Ainsi que pour tous les chevaux de sport (Pur-sang Anglais, Arabe, Barbe et Trotteur Français).

L'ISAG a établi un panel international de typage composé de 9 microsatellites. Ce panel est utilisé aujourd'hui par plus de 60 laboratoires à travers le monde. Les laboratoires d'analyse ont toute liberté d'ajouter des microsatellites à ce panel.



Dans la présente étude nous avons choisi le même panel de la caractérisation génétique (14 marqueurs microsatellites), afin de vérifier leur fiabilité dans les tests de contrôle des filiations. Ainsi, les analyses ont été testées sur les mêmes échantillons précédents pour caractérisation génétique pour les trois races : Arabe-Barbe, Pur-sang Arabe, et Barbe (les races pour lesquelles on a besoin de réaliser des contrôles de filiation en Algérie).

La vérification de l'efficacité de ce panel est fondée sur le calcul de la probabilité d'identité entre deux individus sélectionnés au hasard et la probabilité d'exclusion d'un père ou d'une mère choisi au hasard à titre de parents potentiels.

#### a. Probabilité d'exclusion $P_E$

Cet indice permet de chiffrer le pourcentage de fausses filiations que l'on peut détecter. Pour un locus marqueur donné, il est calculé selon la formule suivante (**Hanset, 1975**) :

$$P_E = \sum_{i < j} p_i p_j (1 - p_i p_j) + 3 \sum_{i < j < k} p_i p_j p_k (1 - p_i p_j - p_j p_k - p_k p_j)$$

La généralisation à n locus est donnée par la formule :

$$P_{E_{Totale}} = 1 - (1 - P_{E_1})(1 - P_{E_2}) \dots (1 - P_{E_n})$$

#### b. Probabilité d'identité $P_I$

Le deuxième indice est la probabilité d'identité ( $P_I$ ), qui correspond à la probabilité de tirer deux individus au hasard ayant le même génotype. Pour un locus donné,  $P_I$  est obtenue par la formule (**Hanset, 1975**) :

$$P_I = \sum_i p_i^4 + 4 \sum_{i < j} (p_i p_j)^2$$

Et pour l'ensemble des n locus étudiés :

$$P_{I_{Totale}} = P_{I_1} \times P_{I_2} \times P_{I_3} \dots \times P_{I_n}$$

L'efficacité du contrôle dépend directement du nombre de marqueurs étudiés, du degré de polymorphisme et de la répartition des allèles dans la population.

# *Résultats & Discussion*

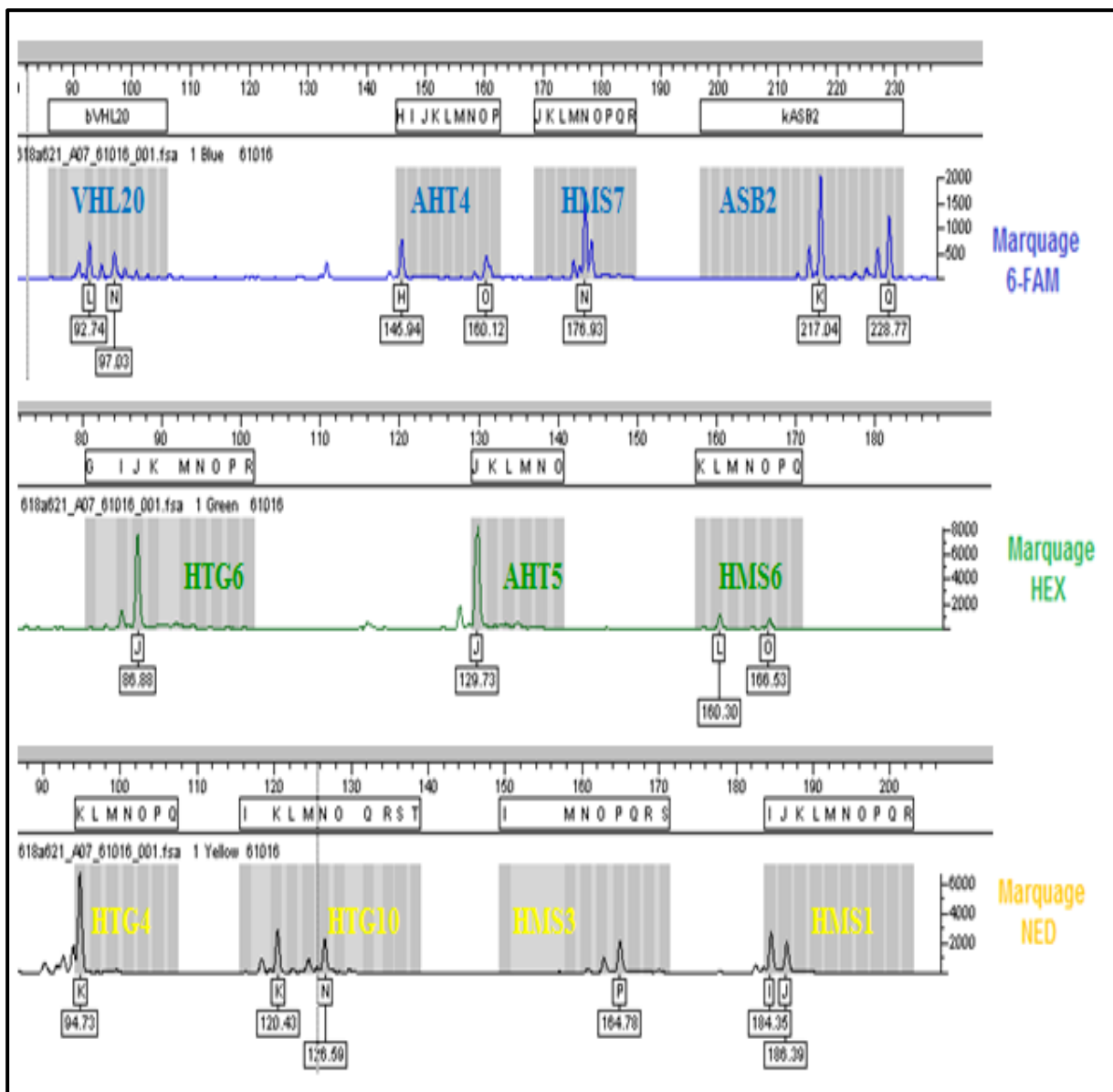
---



## I. RESULTATS D'ANALYSES GENETIQUES

### 1. Résultat du génotypage des microsatellites

L'analyse du génotypage des microsatellites nous a permis de distinguer les individus homozygotes des hétérozygotes pour les quatorze microsatellites étudiés. La figure 18 montre un exemple de résultat de génotypage obtenu pour onze microsatellites marqués différemment (*VLH20*, *AHT4*, *HMS7*, *ASB2*, *HTG6*, *AHT5*, *HMS6*, *HTG4*, *HTG10*, *HMS3*, *HMS1*). Chaque marqueur est représenté par deux formes alléliques possédant une taille propre en paire de bases (pb) ou par nomination en lettre distinctif spécifique à chaque allèle.

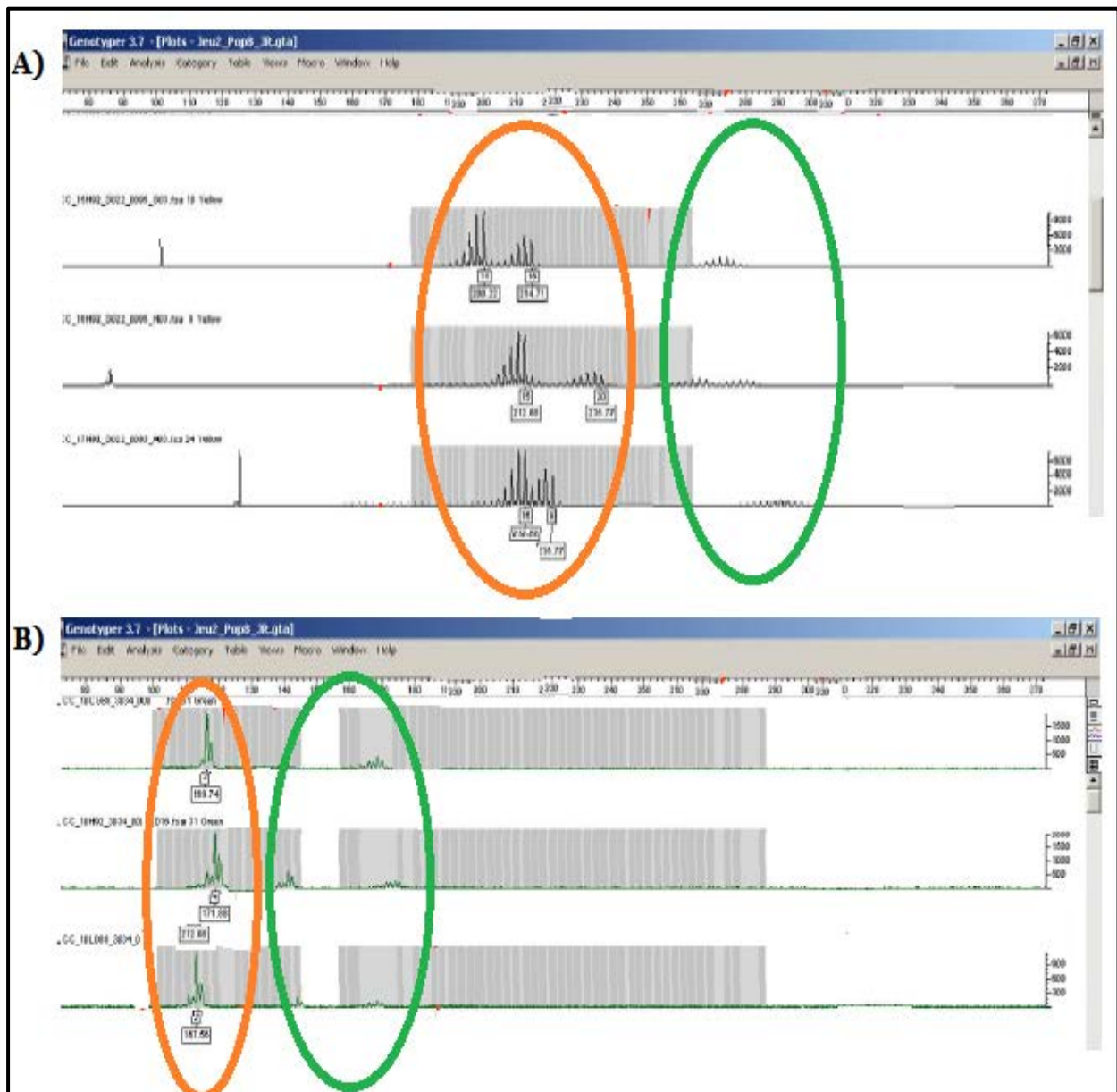


**Figure 18.** Exemple d'un électrophérogramme obtenu pour onze microsatellites marqués par les fluorophores (6-Fam, Hex et Ned). Pour chaque marqueur la visualisation de 2 pics représente un individu hétérozygote et un seul pic un individu homozygote. La taille de chaque allèle est donnée soit en paire de bases (pb) ou bien par une nomination en lettre distinctif.



## 2. Erreur de génotypages des microsatellites

L'ensemble des génotypages ont été effectués en présence des témoins négatifs pour estimer le taux d'erreur. Au cours des lectures des 2814 profils génotypiques, on a pu observer que certains profils présentaient un nombre d'allèles supérieurs à 2, avec 3 ou 4 allèles (**Figure 19**). Ces profils tri ou tétra-alléliques pourraient provenir d'une simple contamination. Cependant, lorsque on se retrouve avec deux zones d'amplifications différentes, dont l'une à une intensité plus faible, ceci semblerait être le résultat des artefacts lors de l'amplification, liée à des conditions d'hybridation moins strictes.



**Figure 19.** Exemple des profils tri ou tétra-alléliques pour certains microsatellites. **A)** Cas de contamination de l'ADN. **B)** Cas des artefacts liés à des conditions d'hybridation moins strictes lors de l'amplification.





## II. RESULTATS D'ANALYSES STATISTIQUES

### 1. Equilibre de Hardy Weinberg

L'estimation de l'équilibre de Hardy Weinberg de chaque population a été déterminé d'après la comparaison des valeurs de la probabilité non biaisée  $P$  avec la valeur alpha après la correction de Bonferroni ( $P$ -value inférieures à  $\alpha = 0.0035$ ) en utilisant le logiciel GENEPOP 4.0 (Raymond et Rousset, 1995).

Deux tests ont été réalisés : le premier est un test d'excès d'hétérozygotes alors que le deuxième est un test de déficit en hétérozygotes. Les races qui ne présentent ni un excès ni un déficit en hétérozygotes sont considérées en équilibre de Hardy-Weinberg.

Dans notre étude, l'équilibre de Hardy Weinberg a été vérifié à différents niveaux : a) par locus pour l'ensemble des races, et b) par locus pour chaque race. Les résultats de ces tests montrent la présence d'un déséquilibre de Hardy Weinberg qui est dû à un déficit en hétérozygotes (Tableau 3).

L'existence d'un tel déficit en hétérozygotes peut être expliquée par de nombreux facteurs. Il est possible que le mode d'union des reproducteurs ne soit pas panmictique (unions entre apparentés, sélection des reproducteurs se fait selon un mode homogame). La population peut aussi être structurée en sous-groupes (effet Wahlund). Enfin, ce déficit peut être dû à l'existence des allèles nuls (allèles ne donnant lieu à aucune amplification par PCR). Une mutation dans les séquences flanquantes du microsatellite pourraient empêcher la Taq polymérase d'amplifier l'ADN entraînant la présence d'allèles nuls (Laliberté, 1998).

- a) A l'échelle du test global, les résultats indiquent que quatre populations sur les cinq étudiées présentent un déficit en hétérozygotes (Arabe-Barbe, Pur-sang Arabe, Barbe, Pur-sang Anglais), dont les valeurs de  $P$  sont largement inférieures à  $\alpha$  (0,05) et cela même après correction de Bonferroni  $\alpha = 0,0035$ . Parmi ces races, c'est la race Pur-sang Anglais qui présente le plus faible nombre de marqueurs en déficit (*AHT5*, *HMS1* et *HMS3*). Par contre la race Arabe-Barbe présente le plus de marqueurs en déficit (*AHT5*, *HMS1*, *HMS3*, *VLH20* et *HTG4*). La race Trotteur Français est la seule population qui ne présente ni excès ni déficit en hétérozygotes en prenant en considération l'ensemble des 14 microsatellites. Elle est la seule race en équilibre pour les marqueurs analysés.



b) En analysant les résultats du test de chaque population pour chaque marqueur, nous observons que six loci *AHT5*, *HMS1*, *HMS3*, *HTG4*, *HTG6* et *VLH20* présentent un écart significatif à l'équilibre de Hardy-Weinberg (EHW), les marqueurs *AHT5*, *HMS1* et *HMS3* dévient significativement de cet équilibre pour la majorité des populations. Les résultats issus par le logiciel MICROCHECKER (Oosterhout *et al.* 2004) confirment la présence d'allèles nuls pour le locus *HMS1* au niveau de la population Arabe-Barbe, et pour le locus *HMS3* au niveau des deux populations Pur-sang Arabe et Pur-sang Anglais. Lorsqu'on retire ces deux loci de l'analyse les quatre populations présentent encore un écart significatif à l'EHW pour les marqueurs *AHT5*, *HTG4*, *HTG6* et *VLH20*.

Le fait de trouver pour quatre populations (Arabe-Barbe, Pur-sang Arabe, Barbe et Pur-sang Anglais) un certain nombre de microsatellites en déséquilibre de Hardy Weinberg (*AHT5*, *HTG4*, *VLH20* et *HTG6*), malgré le retrait des deux loci (*HMS1* et *HMS3*) celui-ci pourrait être expliqué par le mode de gestion de l'élevage des races équines en Algérie :

- ✓ Mode d'union par un appariement consanguin des géniteurs, puisque le croisement consanguin est très fréquents dans les stations du monte algériennes.
- ✓ Reproduction homogame, les microsatellites en déséquilibre peuvent être localisés dans des régions du génome qui joueraient un rôle important dans l'expression des caractères pour lesquels il y a homogamie.



**Tableau 3.** Microsatellites en déséquilibre de Hardy-Weinberg ( $p < 0.0035$ ) pour les cinq populations étudiées. Les couleurs servent seulement à identifier les mêmes marqueurs dans différentes populations.

<i>Population</i>	<i>Marqueur à l'écart de HW</i>	<i>P -value</i>	<i>Total</i>
<i>Arabe-Barbe</i>	<i>AHT5</i>	<i>0.0015</i>	<b>5</b>
	<i>HMS1</i>	<i>0.0004</i>	
	<i>HMS3</i>	<i>0.0025</i>	
	<i>VLH20</i>	<i>0.0003</i>	
	<i>HTG4</i>	<i>0.0022</i>	
<i>Arabe</i>	<i>AHT5</i>	<i>0.0017</i>	<b>4</b>
	<i>HMS1</i>	<i>0.0009</i>	
	<i>HMS3</i>	<i>0.0029</i>	
	<i>HTG6</i>	<i>0.0013</i>	
<i>Barbe</i>	<i>HMS3</i>	<i>0.0010</i>	<b>4</b>
	<i>AHT5</i>	<i>0.0013</i>	
	<i>HMS1</i>	<i>0.0023</i>	
	<i>VLH20</i>	<i>0.0008</i>	
<i>Pur-sang Anglais</i>	<i>AHT5</i>	<i>0.0028</i>	<b>3</b>
	<i>HMS1</i>	<i>0.0006</i>	
	<i>HMS3</i>	<i>0.0018</i>	

## 2. Déséquilibre de liaison

Dans notre étude, nous avons analysé le déséquilibre de liaison entre les paires de marqueurs à deux niveaux : a) à l'échelle des cinq populations étudiées, et b) à l'échelle globale des populations (on considère toute les populations comme une seule race).

- a) L'analyse du déséquilibre d'association à l'échelle des cinq populations étudiées (Arabe-Barbe, Pur-sang Arabe, Barbe, Pur-sang Anglais et Trotteur Français) a révélé un nombre de 46 cas de déséquilibre d'association parmi les 420 combinaisons possibles entre les 14 microsatellites utilisés.

Les résultats de ce test montre que la race qui présente le plus de locus en déséquilibre d'association ( $P$  value  $< 0,0035$ ) est la race Arabe-Barbe, cette race présente un nombre de 45 cas de déséquilibres d'associations. La race Barbe est présente un seul cas de déséquilibre d'associations entre les deux paires de locus *HMS2* et *HMS7*. Pour les autres races aucun déséquilibre d'association n'a été trouvé entre les marqueurs.



- b) A l'échelle du test global, où l'ensemble des races est considéré comme une seule population, nous a permis d'identifier 28 cas de déséquilibres d'association ( $P$  value < 0,0035).

Le fait de trouver des déséquilibres d'associations différents d'une race à une autre, cela nous permet de tirer les remarques suivantes:

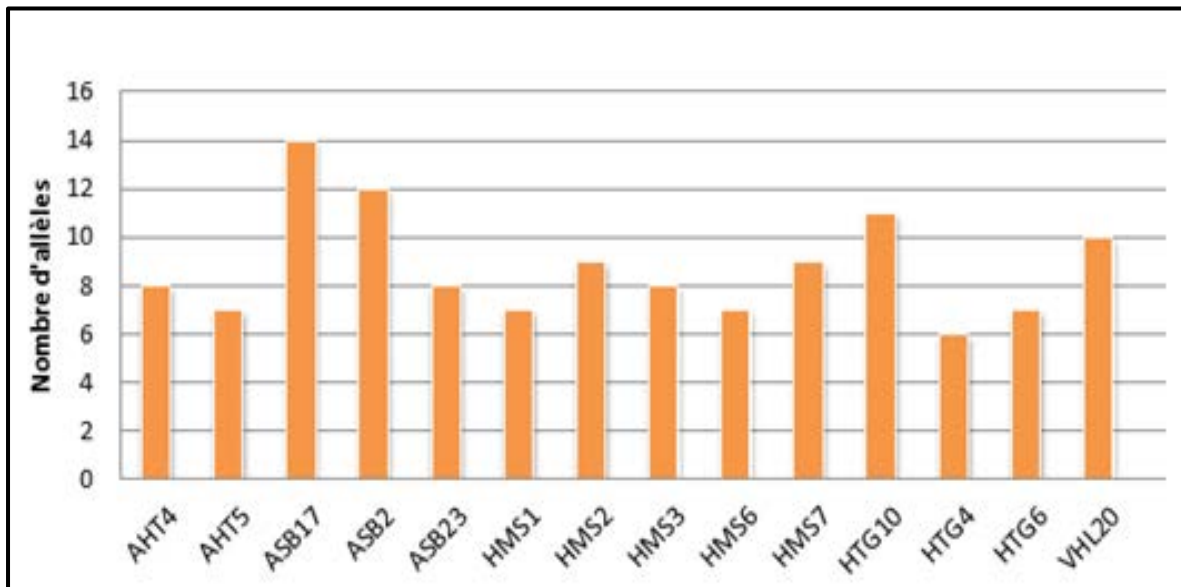
- Ce déséquilibre de liaison ne peut pas être dû à une liaison physique entre loci (la majorité des microsatellites en déséquilibre de liaison cartographiés sur des chromosomes différents), ni par des conditions d'élevages spécifiques à chaque race de la filière équine. En effet le système d'élevage est presque le même pour toutes les races étudiées, alors que seulement la race Arabe-Barbe présente un taux élevé de déséquilibre de liaison.
- La race Arabe-Barbe est une race composite (hybride), créée récemment par la jumenterie de Tiaret en 1888. Ainsi, les mâles reproducteurs responsables de la création de cette race sont des produits sélectionnés et issus des croisements consanguins dans la jumenterie de Tiaret, ce qui explique le taux élevé de déséquilibre de liaison chez cette race.

### 3. Variabilité génétique intra-population

#### 3.1. Taux de polymorphisme des marqueurs microsatellites

Au total, nous avons trouvé 123 allèles différents, pour les cinq populations étudiées sur l'ensemble des 14 microsatellites utilisés. Tous les marqueurs ont montré un polymorphisme génétique important (**Figure 20**) avec une moyenne de 8.79 allèles différents par marqueur. Le marqueur le plus polymorphe est le marqueur *ASB17* avec 14 allèles différents et le marqueur le moins polymorphe est *HTG4* qui n'a révélé que 6 allèles distincts.

Notre valeur du nombre moyen d'allèles est presque similaire à celle rapportée par **Solis et al (2005)** qui est de (9.1). Mais elle est plus importante que la valeur 5.2 trouvée dans l'étude de **Behl et al (2007)**, 5.8 trouvée par **Tozaki et al (2003)**, 6.0 observée par **Canon et al (2000)**, et de 6.6 obtenue par **Kusza et al (2013)**. Ces différences de valeurs entre les races étudiées peuvent être dues soit par le nombre des microsatellites utilisés, le nombre d'individus analysés dans chaque étude, ou bien par des particularités liées à la structuration des populations équines étudiées.



**Figure 20.** Nombre d'allèles mis en évidence pour chaque marqueur microsatellite dans les cinq populations étudiées.

### 3.2. Fréquences alléliques

La composition allélique et les distributions des fréquences alléliques observées pour chaque locus dans les cinq populations étudiées ont été calculées par le logiciel GENETIX 4.04 (Belkhir *et al*, 2002) et sont représentées dans l'annexe 3. L'analyse de ces fréquences conduit aux observations suivantes :

- Au sein d'un même marqueur, les fréquences des différents allèles sont très variables d'une population à l'autre. C'est le cas du marqueur *HMS6* dont l'allèle 132 est présent avec une forte fréquence au niveau de toutes les populations (fréquence supérieure à 42%). Alors que les allèles 122 et 128 sont faiblement représentés (fréquence inférieure à 9%) dans les populations étudiées et parfois même absents (**voir annexe 3**).

- Au niveau d'un marqueur, pour des allèles différents, les fréquences alléliques les plus élevées et les plus basses peuvent s'observer dans une même population équine. C'est le cas du marqueur *HMS2* dont l'allèle 124 présente une fréquence allélique de 73% chez la race Pur-sang Anglais (PS). Par contre, l'allèle 136 présente la plus faible fréquence allélique (5%) pour la même race (**voir annexe 3**).

- Un total de 12 allèles privés (allèle spécifique d'une race donnée) a été identifié dans le présent travail (**Tableau 4**). La majorité des allèles privés (9/12) se présentent avec de très basses fréquences, inférieures à 6%. Par contre, trois allèles spécifiques ont montré une fréquence supérieure à 15%, ce sont les allèles : *ASB23-142* pour la race Barbes, *HTG6-118* pour la race Pur-sang Anglais, et l'allèle *VHL20-132* pour la race Trotteur Français.



➤ Toutes les races possèdent un ou plusieurs allèles privés pour un microsatellite. Les microsatellites *AHT4*, *AHT5*, *HMS2*, *HMS3*, *HTG4* et *HTG10* ne possèdent pas d'allèles spécifiques pour aucune des populations analysées.

L'analyse de l'ensemble des fréquences alléliques pour chaque race donne une idée sur la variabilité génétique au sein de chacune d'entre elles, mais cette information reste trop vague et ne donne pas une idée précise sur la différenciation des races. L'analyse des autres indicateurs de variabilité va révéler plus d'information sur leur diversité génétique intra-populations.

**Tableau 4.** Les allèles privés ainsi que leurs fréquences pour les cinq populations étudiées.

<i>Microsatellite</i>	Allèle	Fréquence	Population
<b>ASB2</b>	132	2.4%	AB
	116	5.3%	BA
	122	5.6%	PS
	138	1.9%	TF
<b>ASB17</b>	132	2.5%	AB
<b>ASB23</b>	128	4.6%	AB
	142	15.9%	BA
<b>HMS1</b>	130	5.7%	BA
<b>HMS6</b>	130	3.2%	BA
<b>HMS7</b>	118	1.9%	BA
<b>HTG6</b>	118	16.9%	PS
<b>VLH20</b>	132	16%	TF

### 3.3. Taux d'hétérozygoties

Les valeurs des taux d'hétérozygoties attendues non biaisé  $H_{nb}$  et observées  $H_o$  sont présentées dans le tableau 5. Les valeurs de  $H_{nb}$  varient de 0.4630 pour le locus *HMS2* dans la population PS à 0.9268 pour le locus *ASB17* dans la population BA. Celles de  $H_o$  varient de 0.3462 pour le locus *HTG6* dans la population TF, à 0.9756 pour le locus *VLH20* dans la population BA. Les valeurs moyennes de  $H_o$  varient de 0.717 (SE=0.161) à 0.752 (SE=0.109), respectivement pour les populations PS et BA. Alors le plus faible taux d'hétérozygotie non biaisé est enregistré chez la race PS (0.719, SE=0.109), tandis que le taux le plus important est celui de la race AB (0.772, SE = 0.078). Le taux élevé d'hétérozygotie



non biaisé pour la race Arabe-Barbe peut être expliqué par le fait que cette dernière est une race composite.

**Tableau 5.** Taux d'hétérozygotie par microsatellite et par population.

Locus	Hétérozygotie	AB	AR	BA	PS	TF
AHT4	H <sub>o</sub>	0.7636	0.7544	0.8293	0.7273	0.7692
	H <sub>nb</sub>	0.7833	0.7340	0.7651	0.7611	0.6275
AHT5	H <sub>o</sub>	0.7091	0.6316	0.7561	0.5455	0.6538
	H <sub>nb</sub>	0.7740	0.6532	0.7416	0.7283	0.7738
ASB17	H <sub>o</sub>	0.8589	0.7861	0.8588	0.7918	0.7210
	H <sub>nb</sub>	0.7818	0.7895	<b>0.9268*</b>	0.8636	0.8077
ASB2	H <sub>o</sub>	0.7273	0.7719	0.6585	0.9091	0.8462
	H <sub>nb</sub>	0.8072	0.6997	0.7447	0.8689	0.8265
ASB23	H <sub>o</sub>	0.7636	0.7895	0.7317	0.8636	0.8077
	H <sub>nb</sub>	0.8217	0.7856	0.7648	0.7801	0.8341
HMS1	H <sub>o</sub>	0.4364	0.5789	0.6585	0.7727	0.8077
	H <sub>nb</sub>	0.6330	0.6729	0.5974	0.6670	0.7051
HMS2	H <sub>o</sub>	0.8182	0.7368	0.7317	0.3636	0.8077
	H <sub>nb</sub>	0.8147	0.7027	0.8151	<b>0.4630*</b>	0.8273
HMS3	H <sub>o</sub>	0.8182	0.5965	0.8049	0.5000	0.5000
	H <sub>nb</sub>	0.8240	0.8334	0.7811	0.7463	0.6229
HMS6	H <sub>o</sub>	0.6727	0.7544	0.6585	0.7273	0.7692
	H <sub>nb</sub>	0.6507	0.7359	0.6444	0.6311	0.7081
HMS7	H <sub>o</sub>	0.8182	0.7895	0.7805	0.9091	0.7391
	H <sub>nb</sub>	0.8172	0.8079	0.7398	0.8076	0.8145
HTG10	H <sub>o</sub>	0.8545	0.8596	0.7805	0.8182	0.8846
	H <sub>nb</sub>	0.8237	0.7788	0.8226	0.8129	0.7994
HTG4	H <sub>o</sub>	0.5818	0.6491	0.6585	0.6364	0.5769
	H <sub>nb</sub>	0.6572	0.6047	0.6847	0.6184	0.7179
HTG6	H <sub>o</sub>	0.6545	0.5263	0.5854	0.7273	<b>0.3462*</b>
	H <sub>nb</sub>	0.6952	0.6286	0.6817	0.6047	0.3891
VHL20	H <sub>o</sub>	0.8000	0.8246	<b>0.9756*</b>	0.6818	0.8077
	H <sub>nb</sub>	0.8499	0.8128	0.8711	0.7875	0.7572
Total	H <sub>o</sub>	0.738 (0.113)	0.718 (0.072)	<b>0.752 (0.109)*</b>	<b>0.717 (0.161)*</b>	0.723 (0.151)
	H <sub>nb</sub>	<b>0.772 (0.078)*</b>	0.731 (0.078)	0.751(0.078)	<b>0.719 (0.109)*</b>	0.723 (0.118)

\*Valeurs soulignées correspondent aux valeurs minimales et maximales des taux d'hétérozygoties observées Ho et attendues non biaisé Hnb.

Dans notre étude, on remarque que l'ensemble des cinq races (Arabe-Barbe, Pur-sang Arabe, Barbe, Pur-sang Anglais et Trotteur Français) présentent des taux très élevés d'hétérozygotie non biaisés, respectivement : 0.77, 0.73, 0.75, 0.71 et 0.72. Ces valeurs d'hétérozygotie sont plus importantes que celles rapportées dans autres populations équines (Luis *et al*, 2007; Leroy *et al*, 2009; Khanshour *et al*, 2013), qui ont utilisés ces mêmes marqueurs microsatellites.



### 3.4. Nombre total d'allèles et richesse allélique

Les valeurs du nombre total d'allèles ( $N_a$ ) et la richesse allélique ( $A_R$ ) ont été calculées pour chaque race à partir de l'analyse des génotypes obtenus pour les 14 microsatellites analysés.

Le nombre total d'allèles par population, varie entre 85 pour la race Pur-sang Anglais (PS) et 134 pour la race Arabe-Barbe (AB), il est de l'ordre de 113, 126, et 96 respectivement pour les races Pur-sang Arabe (AR), Barbe (BA) et Trotteur Français (TF).

La richesse allélique varie de 5.71 pour la race de Pur-sang Anglais (PS) à 7.86 pour l'Arabe- Barbe (AB), elle est de l'ordre de 6.43, 7.64 et 6.07, respectivement pour les races Arabe (AR), Barbe (BA) et Trotteur Français (TF). Dans notre étude la richesse allélique est de l'ordre de 6.39 pour l'ensemble des cinq populations étudiées, ce qui est relativement important dans les études de la caractérisation équine.

## 4. Variabilité génétique inter-populations

### 4.1. Étude des liens génétiques entre populations

#### 4.1.1 Paramètres de différenciation des populations

La méthode la plus classique de caractérisation des populations, et peut-être la plus ancienne, est celle des indices de fixation proposée par **Wright (1969)**. En effet, les  $F$ -statistiques permettent de décrire la structure des populations, la répartition de la variabilité génétique entre et au sein des populations en estimant la variance standardisée des fréquences alléliques entre les sous populations (**Wright, 1978**). Les  $F$ - statistiques de Wright permettent aussi de connaître la structure génétique d'une espèce grâce à l'estimation, d'une part, de la fixation des allèles dans l'ensemble des populations ( $F_{IT}$ ) et à l'intérieur des sous-populations ( $F_{IS}$ ) et, d'autre part, de la différenciation génétique entre les sous populations ( $F_{ST}$ ).

Pour ces trois coefficients, les interprétations que nous pouvons avoir après leurs calculs sont les suivantes :

#### a) $F_{IS}$

$F_{IS}$  est théoriquement compris entre  $[-1; +1]$ ,  $F_{IS} < 0$  signifie que la sous-population présente un excès d'hétérozygotes qui peut être dû :

- A un régime de reproduction hétérogame (entre individus différents) ou,
- A une sélection des hétérozygotes au locus considéré.





Alors que, si le  $F_{IS} > 0$ , cela signifie que la sous population présente un déficit d'hétérozygotes dû :

- A un régime de reproduction fermé (consanguinité ou homogamie) ou à une sous structuration lors de l'échantillonnage,
- A la présence d'allèles nuls ou,
- A une sélection des individus homozygotes au locus considéré.

Dans notre étude, les valeurs moyennes de  $F_{IS}$  calculées pour l'ensemble des loci par population (**Tableau 6**), sont :

- ✓ Significativement supérieures à zéro dans toutes les populations Arabe-Barbe, Pur-sang Arabe et Pur-sang Anglais. Ces populations présentent donc un déficit global en hétérozygotes.
- ✓ Égale à zéro pour la race Trotteur Français, donc cette population est en équilibre de Hardy-Weinberg.
- ✓ Inférieure à zéro pour la race Barbe, mais avec une valeur non significative statistiquement.


**Tableau 6.** Valeurs des  $F_{IS}$  par locus et par population

Locus	AB	AR	BA	PS	TF
<i>AHT4</i>	0.025**	-0.028	-0.085	0.045**	-0.232
<i>AHT5</i>	0.085**	0.033**	-0.020	0.256**	0.158*
<i>ASB17</i>	0.090**	-0.004	-0.080	-0.093	-0.123
<i>ASB2</i>	0.100**	-0.104	0.117*	-0.047	-0.024
<i>ASB23</i>	0.071**	-0.005	0.044*	-0.110	0.032*
<i>HMS1</i>	0.313**	0.141*	-0.104	-0.163	-0.149
<i>HMS2</i>	-0.004	-0.049	0.103*	0.219**	0.024*
<i>HMS3</i>	0.007**	0.286**	-0.031	0.335**	0.200*
<i>HMS6</i>	-0.034	-0.025	-0.022	-0.157	-0.088
<i>HMS7</i>	-0.001	0.023**	-0.056	-0.129	0.094*
<i>HTG10</i>	-0.038	-0.105	0.052*	-0.007	-0.109
<i>HTG4</i>	0.116*	-0.074	0.039*	-0.030	0.200*
<i>HTG6</i>	0.059**	0.164**	0.143*	-0.209	0.112*
<i>VHL20</i>	0.059**	-0.015	-0.122	0.137**	-0.068
<b>Moyenne</b>	<b>0.057**</b>	<b>0.018**</b>	<b>-0.002</b>	<b>0.002**</b>	<b>0.000</b>

Signification statistique: \* :  $P < 0.05$ ; \*\* :  $P < 0.01$ .

### b) $F_{ST}$

Le  $F_{ST}$  mesure la différenciation entre groupes ou sous populations. Ce paramètre est compris entre 0 et 1. Un  $F_{ST} > 0$  reflète une différenciation entre les populations. Le minimum 0 indique une absence de divergence génétique entre les populations. Wright (1978) propose certains critères pour une interprétation qualitative des  $F_{ST}$  à savoir :

- ✓ L'intervalle de 0 à 0,05 indique une faible différenciation génétique qui est toutefois non négligeable,
- ✓ L'intervalle de 0,05 à 0,15 indique une différenciation génétique modérée,
- ✓ L'intervalle de 0,15 à 0,25 indique une grande différenciation génétique,

Le tableau 7 donne les valeurs de  $F_{ST}$  entre les différentes populations équines étudiées. D'une manière générale, il existe une faible différenciation génétique entre les cinq



populations étudiées. La valeur minimale de  $F_{ST}$  (0,001) est enregistrée entre les populations de Barbe et Arabe-Barbe, elle indique une absence de divergences génétiques entre ces deux populations. Ceci signifie que la race Arabe-Barbe est plutôt influencée par le génome de la race Barbe, plutôt que celui de la race Pur-sang Arabe.

Les populations Pur- sang Arabe et Trotteur Français présentent la plus forte valeur de  $F_{ST}$  (0,086), indiquant une différenciation génétique modérée entre ces deux populations. Ainsi, notre estimation de  $F_{ST}$  entre ces deux races est similaire à celle rapportée par l'étude de Leroy *et al* (2008), qui confirme l'absence de l'influence du sang Arabe sur le Trotteur Français.

**Tableau 7.** Valeurs de  $F_{ST}$  entre les paires de cinq populations.

Breed	<i>AB</i>	<i>AR</i>	<i>BA</i>	<i>PS</i>	<i>TF</i>
<i>AB</i>	-	0.035	<u>0.001*</u>	0.065	0.060
<i>AR</i>		-	0.048	0.072	<u>0.086*</u>
<i>BA</i>			-	0.078	0.060
<i>PS</i>				-	0.057
<i>TF</i>					-

\*Valeurs soulignées correspondent à la valeur minimale et maximale de  $F_{ST}$  entre les cinq populations étudiées.

### c) $F_{IT}$

Le  $F_{IT}$  est une composante des  $F_{IS}$  et  $F_{ST}$ . Le tableau 8 montre les valeurs des paramètres de  $F$ -statistiques obtenues pour l'ensemble des cinq populations équines étudiées et pour chaque microsatellite. Les valeurs de  $F_{IT}$  varient de 0.011 au locus *HTG10* à 0.196 pour le locus *HTG6*. La valeur de  $F_{IT}$  indique un déficit global d'hétérozygotes de 7% en tenant compte des cinq populations étudiées.

Ainsi, nous avons obtenu une valeur de  $F_{ST}$  égale à 0.050 indiquant une différenciation génétique modérée entre les cinq populations équines étudiées. En effet, 5% de la variabilité totale est ainsi due à des différences entre population alors que les différences intra populations expliquent 95 % de la variabilité totale.



**Tableau 8.** Paramètres  $F$ -statistiques selon la méthode de Weir & Cockerham (1984).

Locus	$F_{IS}$	$F_{ST}$	$F_{IT}$
<i>AHT4</i>	-0.038	0.049***	0.013**
<i>AHT5</i>	0.078	0.061***	0.134***
<i>ASB17</i>	-0.016	0.039***	0.024**
<i>ASB2</i>	0.015*	0.023***	0.038***
<i>ASB23</i>	0.020	0.044***	0.063**
<i>HMS1</i>	0.067	0.026***	0.091***
<i>HMS2</i>	0.027	0.089***	0.114***
<i>HMS3</i>	0.138	0.042***	0.174***
<i>HMS6</i>	-0.048	0.015***	0.033**
<i>HMS7</i>	-0.007	0.037***	0.030***
<i>HTG10</i>	-0.043	0.052***	0.011**
<i>HTG4</i>	0.046*	0.054***	0.097**
<i>HTG6</i>	0.085	0.122***	0.196**
<i>VLH20</i>	-0.007	0.047***	0.0402**
<b>Moyenne</b>	0.021*	0.050***	0.070***

Signification statistique : \* :  $P < 0.05$ ; \*\* :  $P < 0.01$ ; \*\*\* :  $P < 0.001$ .

Notre valeur globale de  $F_{ST}$  est légèrement inférieure à celle rapportée par Behl *et al* (2007) ( $F_{ST} = 6.5\%$ ), dans leur étude portant sur cinq races de chevaux Indiens (Marwari, Spiti, Bhutia, Manipuri et Zanskari). Cependant, elle reste très inférieure par rapport à celles précédemment trouvées dans les races polonaises ( $F_{ST} = 10\%$ , Zabek *et al*, 2005), et les races brésiliennes ( $F_{ST} = 11,7\%$ , Lippi et Mortari, 2003), ainsi que les races norvégiennes ( $F_{ST} = 12\%$ , Bjørnstad *et al*, 2000). La comparaison de ces résultats montre un faible niveau de différenciation génétique aux niveaux de races équines algériennes, ce qui est probablement dû à un degré relativement élevée de flux génétique entre les cinq races étudiées (reproduction inter-raciale).



#### 4.1.2. Flux des gènes

Les flux des gènes ( $N_m$ ) entre les paires des populations étudiées (**Tableau 9**) présentent une valeur relativement très importante (253.02) entre Barbe et Arabe-Barbe, et faible entre les autres populations. Ces résultats confirment l'influence plus prononcée de la race Barbe au niveau du génome de la race Arabe-Barbe.

**Tableau 9.** Flux des gènes entre les paires des cinq populations équines.

Population	AB	AR	BA	PS	TF
AB	-	6.92	<b>253.02</b>	3.61	3.85
AR		-	4.89	3.23	2.67
BA			-	2.93	3.88
PS				-	4.08
TF					-

#### 4.1.3. Distances génétiques et établissement des relations phylogéniques

La distance génétique de Reynolds (1983) est calculée grâce au logiciel PHYLIP (**Felsenstein, 1989**) entre les cinq populations étudiées (**Tableau 10**). Les résultats obtenus varient de 0.0013 entre Arabe-Barbe et Barbe à 0.0896 entre Pur-sang Arabe et Trotter Français. Ainsi, une distance intermédiaire est trouvée entre Barbe et Pur-sang Arabes (0.0499), et entre Arabe-Barbe et Pur-sang Arabe (0.0358).

**Tableau 10.** Distance génétique de Reynolds ( $D_R$ ) entre les paires des cinq populations équines étudiées.

Breed	AB	AR	BA	PS	TF
AB	-				
AR	0.0358	-			
BA	<b>0.0013*</b>	0.0499	-		
PS	0.0676	0.0747	0.0819	-	0.2255
TF	0.0635	<b>0.0896*</b>	0.0625	0.0595	-

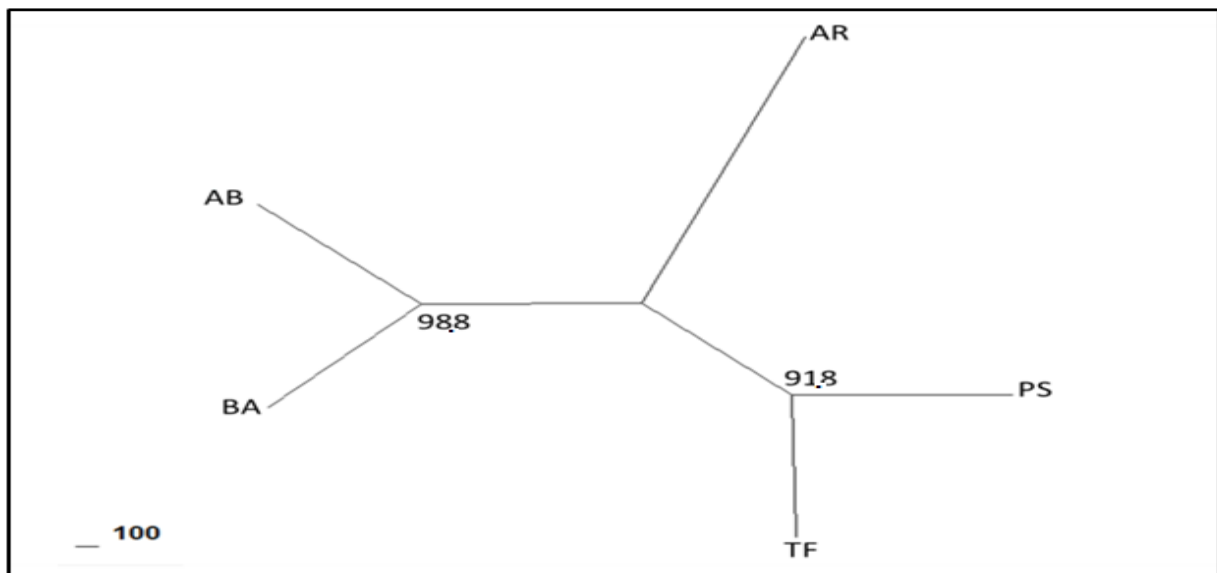
\*Valeurs soulignées correspondent à la valeur minimale et maximale de ( $D_R$ ) entre les cinq populations étudiées.

La représentation arborée de Neighbour-Joining (**Nei, 1978**) a été utilisée pour construire les dendrogrammes à partir de la matrice des distances calculées selon Reynolds (**Reynolds, 1983**). La figure 21 représente le dendrogramme des cinq populations équines étudiées obtenu à partir du polymorphisme des 14 microsatellites utilisés. L'analyse de la



robustesse des arbres a été réalisée par le test de bootstrap après 1000 permutations des marqueurs.

L'arbre obtenu montre une nette subdivision des races, et deux groupes peuvent être distingués. Les races Barbe et Arabe-Barbe constituent un groupe isolé avec une valeur très élevée de bootstrap (98,8%). Cependant, le Pur-sang Anglais et le Trotteur Français forment un deuxième groupe avec une valeur de bootstrap de 91,8%. La race Pur-sang Arabe se positionne entre ces deux groupes. Cette classification génétique confirme bien les données historiques de ces races équine et l'utilisation de la race Arabe comme un améliorateur des autres races (à l'exception de la race Trotteur Français).



**Figure 21.** Arbre Neighbour-Joining basé sur la distance de Reynolds pour les cinq races équine étudiées. Les nombres sur les branches représentent les pourcentages obtenus avec 1000 bootstraps.

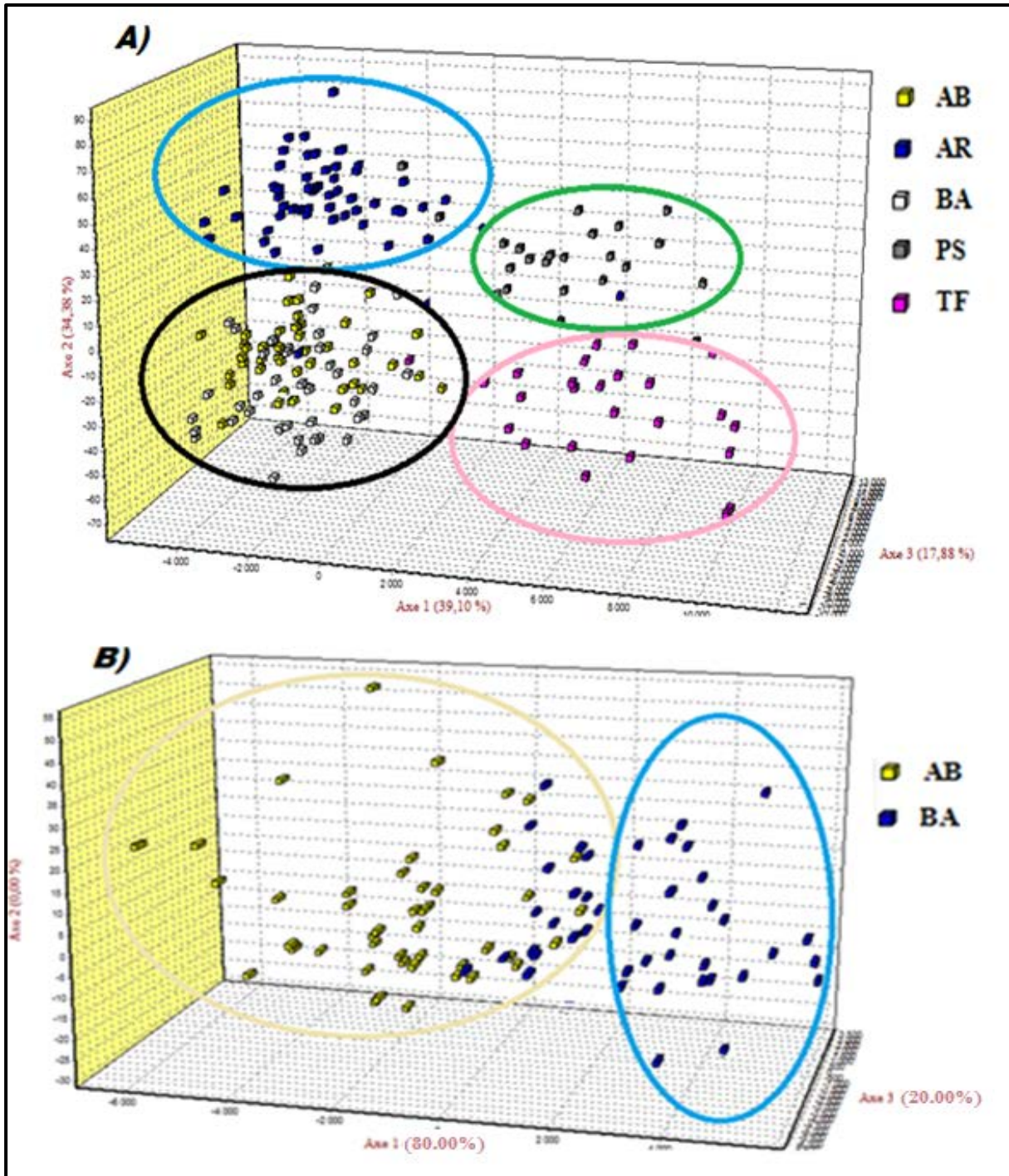
#### 4.1.4. Analyse factorielle des correspondances

Les relations génétiques entre les cinq populations étudiées à partir d'analyses factorielles des correspondances (AFC) sont présentées en figure 22. Durant notre étude, nous avons relancé des AFC sur les deux jeux de données suivants afin de mieux exploiter les données:

- A) **Le premier jeu de données** (l'ensemble des cinq populations étudiées). À partir des résultats d'AFC (**Figure 22.A**) nous pouvons distinguer nettement quatre groupes (PS, TF, AR, et AB-BA). Une séparation nette est visible entre la race Pur-sang Arabe et les autres races par les deux axes 1 et 2, le Trotteur Français et le pur-sang Anglais par les deux axes 2 et 3. Alors que les races autochtones se regroupent ensemble.



B) **Le deuxième jeu de données** (seulement les deux populations autochtones). Après avoir retiré les races importées, la figure 22.B montre une légère séparation entre les deux races Barbe et Arabe-Barbe. Par contre, une grande majorité des échantillons de la race Barbe sont regroupés avec la race Arabe-Barbe.

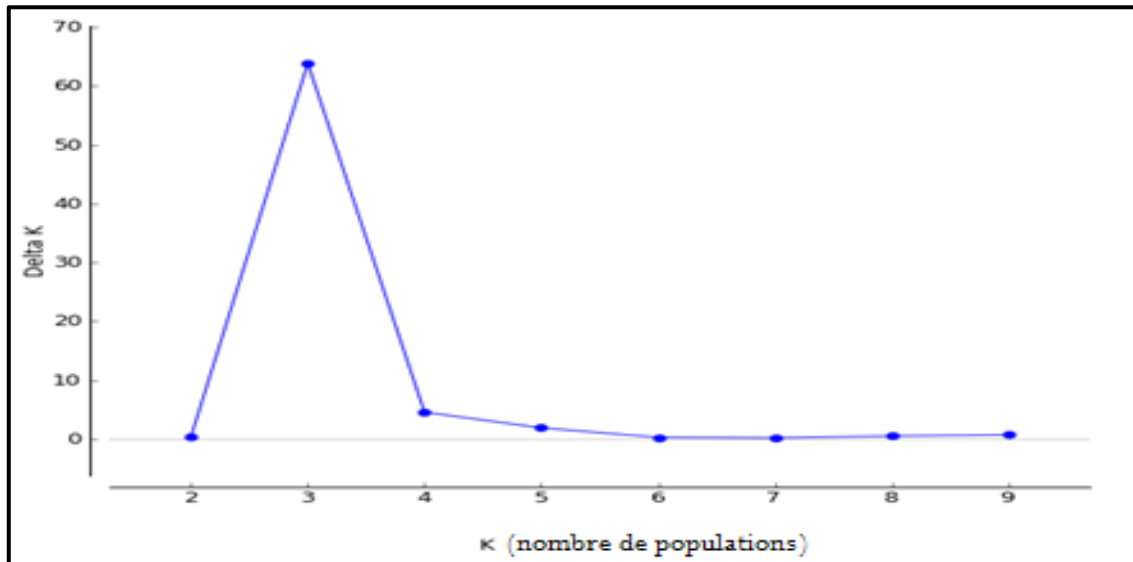


**Figure 22.** Représentation par AFC dans l'espace de 3-dimensions des échantillons de cinq races équinées étudiées. L'appartenance des individus à une population est symbolisée par un code couleur. **A)** Représentation des cinq populations équinées; **B)** Représentation des deux races autochtones Barbe et Arabe-Barbe.



#### 4.1.5. Méthodes de clustering

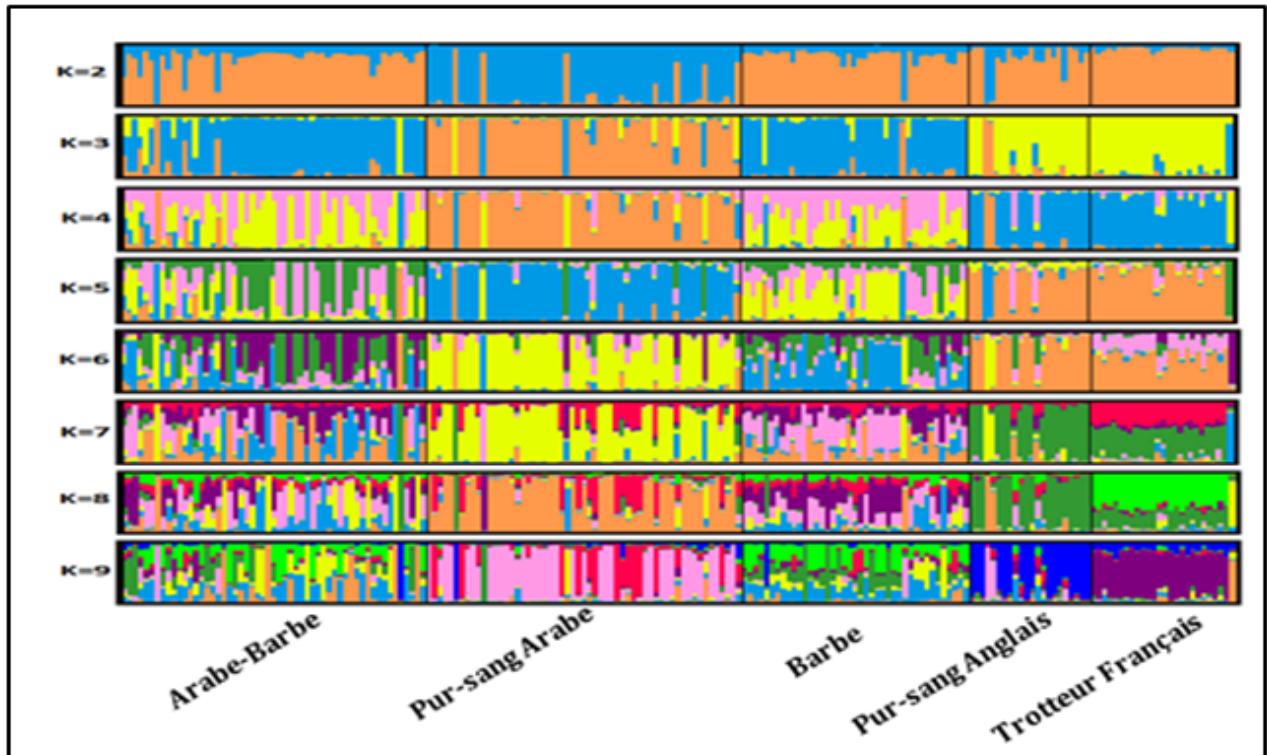
Les analyses Bayésiennes réalisées par le logiciel Structure (Pritchard *et al*, 2000), sur l'ensemble des échantillons, a permis de regrouper les différentes populations en  $K$  catégories. La valeur de la variation de second ordre du log-likelihood  $K$  ( $\Delta K$ ) montre un seul pic à  $\Delta K=3$ , indiquant une structuration en trois populations dans le jeu de données (Figure 23).



**Figure 23.** Détermination de la valeur de  $K$  la plus vraisemblable selon la méthode Evanno *et al.* (2005). La variation de second ordre du log-likelihood  $K$  ( $\Delta K$ ) suggère l'existence de trois populations dans le jeu de données.

Les échantillons de la race Pur-sang Arabe se détachent clairement pour former un cluster distinct à  $K=2$  (Figure 24). Tandis qu'à  $K=7$  deux clusters différents se distinguent de façon claire, il s'agit des deux populations Pur-sang Anglais et Trotteur Français. Cependant, elles n'apparaissent pas comme des populations complètement homogènes, chacune d'elle présente un certain nombre de génotypes n'appartenant pas au pool génétique natif de la race. Au-delà de  $K=8$  le logiciel Structure n'a révélé aucune différenciation entre les populations Barbe et Arabe-Barbe. Cette structuration montre que ces deux populations sont fortement proches sur le plan génétique.





**Figure 24.** Analyse par le logiciel Structure des cinq populations équines Algériennes étudiées. Montrant la structuration des génotypes pour des valeurs de K comprise entre 2 à 9.

## 4.2. Méthodes d'affectation des individus à une population

### 4.2.1. Affectation des animaux par GENE CLASS 2

L'affectation des animaux aux cinq populations étudiées a été réalisée en utilisant les résultats du génotypage pour les 14 microsatellites utilisés. Les résultats de cette affectation ont été obtenus à l'aide du logiciel GENECLASS2 (Piry *et al*, 2004). Nous avons remarqué que la majorité des animaux ont été affectés à 100% à leur race d'origine à cause du nombre important de marqueurs utilisés. Les animaux mal classés pourraient être affectés le plus souvent soit à la race Pur-sang Arabe ou à la race Pur-sang Anglais. Ces deux races sont souvent utilisées en élevage pour l'amélioration des produits chevalins.

#### Arabe-Barbe :

- ❖ 50 animaux sur les 55 analysés sont affectés à leur race avec un pourcentage qui est de 100% ;

- ❖ Les animaux E28, E 30, E34, E 64 et E192 restant sont affectés à leur race avec un pourcentage qui dépasse les 98,98%, ces animaux sont aussi affectés aux races Arabe, Pur-sang Anglais et Trotteur Français mais avec de très faible pourcentage qui n'excède pas les 1,78%.

**Arabe :**

- ❖ 55 animaux sur les 57 analysés sont affectés à leur race avec un pourcentage qui est de 100%;
- ❖ Deux animaux sont affectés à leur race avec un pourcentage de 96,64%, ce qui reste du total est répartie entre les races Arabe-Barbe et Pur-sang Anglais.

**Barbe :**

- ❖ 20 animaux sur les 41 analysés sont affectés à leur race avec un pourcentage qui dépasse les 98,99%. Ces animaux sont aussi affectés aux races Arabe-Barbe, Arabe et Pur-sang Anglais mais avec de très faible pourcentage qui n'excède pas les 1,58%;
- ❖ Les animaux restant sont affectés plutôt à la race Arabe-Barbe avec un pourcentage qui dépasse les 97,61%.

**Pur-sang Anglais :**

- ❖ 15 animaux sur les 22 analysés sont affectés à leur race avec un pourcentage qui est de 100%;
- ❖ Les animaux restant sont affectés à leur race avec un pourcentage de 94,61%. Ces animaux sont aussi affectés aux races Arabe-Barbe et Arabe, mais avec de faible pourcentage qui n'excède pas les (5,67%).

**Trotteur Français :**

- ❖ 17 animaux sur les 26 analysés sont affectés à leurs race avec un pourcentage qui est de 100%;
- ❖ Les animaux restant sont affectés à leur race avec un pourcentage qui dépasse les 96,59%. Ces animaux sont aussi affectés aux races Arabe-Barbe, Arabe et Pur-sang Anglais, mais avec de très faible pourcentage qui n'excède pas les (3,83%), seul l'individu E161 a un pourcentage d'affectation de 30,40% à la race Arabe-Barbe.

Nous constatons que la race qui a présenté le plus faible pourcentage d'affectation à 100% est la race Barbe, avec un pourcentage de 48,78%. La race, qui a présenté le plus grand pourcentage d'animaux affectés à 100%, est la race Arabe avec 96,5% d'animaux affectés sans ambiguïté. Le reste des races sont classées dans un ordre croissant comme suit : Trotteur Français (65,38%), Pur-sang Anglais (68,18%), Arabe-Barbe (90,90%).

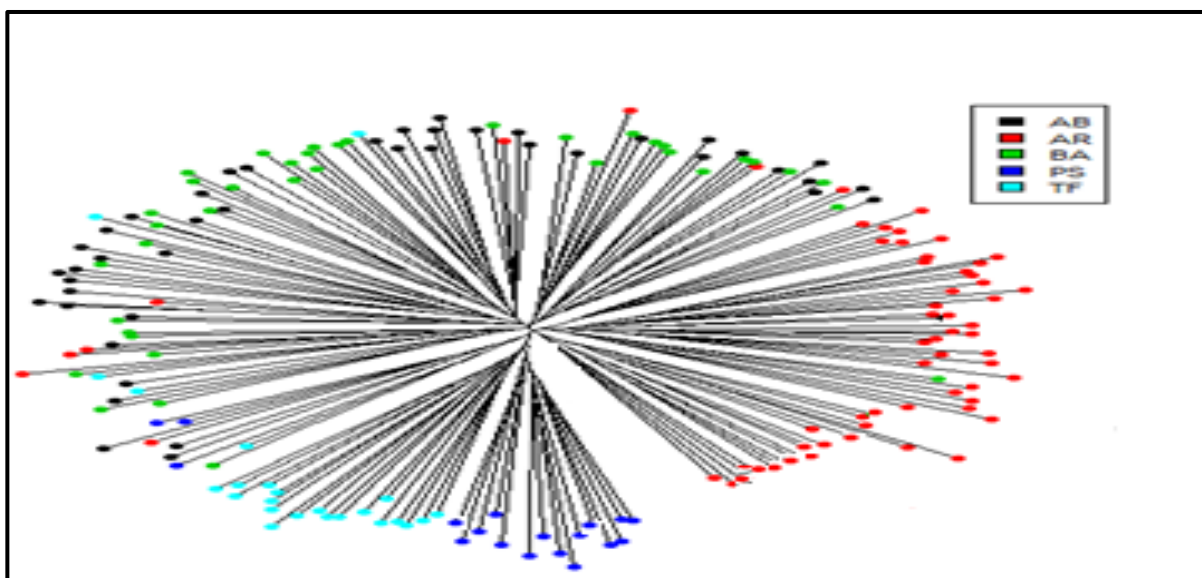


Le faible pourcentage d'affectation des animaux à 100% pour la race Barbe est dû à des fausses inscriptions de ces animaux dans le stud book Algérien de la race Barbe, à cause des ressemblances morphologique ente cette race et la race Arabe-Barbe. La plupart du temps les vétérinaires et les experts d'élevage n'arrivent pas à faire des différences entre des produit de la race Barbe et Arabe-Barbe. Les chevaux de la race Arabe- Barbe sont très hétérogènes à cause de degré de sang arabe infus, qui varie entre 25 et 75%. Cette variation de sang arabe a donné lieu parfois à des chevaux Arabe-Barbes dont la morphologie est très proche de celle du cheval Barbe.

#### 4.2.2. Affectation des animaux par arbre individuel

Enfin, un arbre de classification individuelle a été réalisé afin de visualiser les populations les plus homogènes (où tous les individus de la même race sont regroupés ensemble), ainsi que les populations hétérogènes (où certains individus d'une race donnée se regroupent indépendamment dans d'autres races).

Dans notre étude, l'analyse de cet arbre individuel (**Figure 25**), montre que la majorité des animaux au sein de chaque population sont étroitement assemblés dans des branches distinctes. Mais on observe quelques exceptions pour certains individus (quelques échantillons des races AR, PS et TF sont affectés à d'autres races). Les animaux de la race Barbe et Arabe-Barbe semblaient mélangés, et cela peut s'expliquer par la proximité génétique entre ces deux races.



**Figure 25.** Arbre de classification des individus basé sur les distances génétiques par paire entre les animaux estimées par le logarithme de la proportion d'allèles partagés. Chaque pointe représente un seul animal, et les races se distinguent par des couleurs différentes comme le montre la légende.



## 5. Validation du panel de 14 microsatellites pour le contrôle des filiations

Le tableau 11 présente les résultats des paramètres de contrôle de filiation (probabilité d'exclusion  $P_E$  et probabilité d'identité  $P_D$ ) chez les trois races équines Barbe, Arabe-Barbe et Arabe, à partir du jeu des quatorze marqueurs microsatellites utilisés.

Par l'analyse des résultats de ce panel, nous avons trouvé que la valeur moyenne de probabilités d'exclusion  $P_E$  est de l'ordre de 0.999989 pour les trois races étudiées, Nos valeurs sont supérieures à celles reportées par **Rognon *et al* (1999)** dans des populations équines marocaines (Barbe, Arabe-Barbe et Arabe) par l'utilisation de 9 microsatellites, qui présentent des valeurs de probabilités de l'ordre de 0.98, 0.96, respectivement pour les races Barbe, Arabe-Barbe et Arabe. Alors que, notre valeur observée est similaire de celle trouvée par **Fornal *et al.* (2013)** qui a utilisé un panel de 17 microsatellites, dans des populations équines polonaises ( $P_E = 0.999889$ ).

Nos résultats confirment l'efficacité de ce panel de 14 microsatellites en augmentant les valeurs des probabilités d'exclusion et d'identification, ce qui améliore l'efficacité des contrôles de filiations et assure une qualité avec une grande exactitude sur l'information généalogique.



**Tableau 11.** Paramètres génétiques du panel de microsatellites de contrôle de filiation.

Microsatellites	Paramètres	AB	AR	BA
<i>AHT4</i>	$P_E$	0.97	0.97	0.98
	$P_I$	0.008	00.08	0.007
<i>AHT5</i>	$P_E$	0.97	0.97	0.98
	$P_I$	0.003	00.07	0.008
<i>ASB17</i>	$P_E$	0.99	0.86	0.99
	$P_I$	0.009	0.002	0.001
<i>ASB2</i>	$P_E$	0.97	0.96	0.99
	$P_I$	0.005	0.001	0.001
<i>ASB23</i>	$P_E$	0.99	0.95	0.99
	$P_I$	0.002	0.009	0.0001
<i>HMS1</i>	$P_E$	0.98	0.98	0.98
	$P_I$	0.0002	0.003	0.001
<i>HMS2</i>	$P_E$	0.98	0.96	0.99
	$P_I$	0.001	0.009	0.001
<i>HMS3</i>	$P_E$	0.98	0.96	0.98
	$P_I$	0.003	0.002	0.001
<i>HMS6</i>	$P_E$	0.96	0.97	0.99
	$P_I$	0.001	0.004	0.001
<i>HMS7</i>	$P_E$	0.99	0.97	0.99
	$P_I$	0.001	0.002	0.001
<i>HTG10</i>	$P_E$	0.99	0.98	0.99
	$P_I$	0.001	0.001	0.0001
<i>HTG4</i>	$P_E$	0.99	0.98	0.98
	$P_I$	0.001	0.003	0.002
<i>HTG6</i>	$P_E$	0.99	0.97	0.98
	$P_I$	0.001	0.007	0.001
<i>VHL20</i>	$P_E$	0.99	0.99	0.99
	$P_I$	0.004	0.003	0.002
<b>Total</b>	<b><math>P_E</math></b>	<b>0.999989</b>	<b>0.999989</b>	<b>0.999989</b>
	<b><math>P_I</math></b>	<b><math>1.1 \cdot 10^{-8}</math></b>	<b><math>1.11 \cdot 10^{-8}</math></b>	<b><math>0.51 \cdot 10^{-11}</math></b>

L'ensemble des résultats de l'étude de caractérisation génétique des races équine en Algérie par l'utilisation des microsatellites a fait l'objet d'un article original intitulé «**Molecular characterization and differentiation of five horse breeds raised in Algeria using polymorphic microsatellite markers**». Cet article a été publié dans la revue «*Journal of Animal Breeding and Genetics*» Volume 131, N° 05, Avril 2014 (Berber et al, 2014).



## ORIGINAL ARTICLE

# Molecular characterization and differentiation of five horse breeds raised in Algeria using polymorphic microsatellite markers

 N. Berber<sup>1</sup>, S. Gaouar<sup>2</sup>, G. Leroy<sup>3,4</sup>, S. Kdidi<sup>5,6</sup>, N. Tabet Aouel<sup>7</sup> & N. Saidi Mehtar<sup>1</sup>

1 Laboratoire de Genétique Moléculaire et cellulaire, Université des sciences et de la technologie d'Oran – mohamed Boudiaf- USTOMB, BP 1505 El M'naouer, Oran, Algeria

2 Département de biologie, Université de Tlemcen, Tlemcen, Algeria

3 AgroParisTech, UMR1236 Génétique et Diversité Animales, Paris, France

4 INRA, UMR1236 Génétique et Diversité Animales, Jouy-en-Josas, France

5 Livestock &amp; Wildlife Laboratory, Arid Lands Institute, Medenine, Tunisia

6 Laboratory of Genetics, Immunology and Human Pathology, Faculty of Sciences, Tunis-El Manar University, Tunisia, Tunisia

7 Département de biotechnologie, Université d'Oran Es-senia, Oran, Algeria

## Keywords

Barb; Arab-Barb; genetic distances; factorial correspondence analysis; structure analysis.

## Correspondence

N. Berber, Laboratoire de Génétique Moléculaire et cellulaire, Université des sciences et de la technologie d'Oran – mohamed Boudiaf- USTOMB, BP 1505 El M'naouer, Oran, Algeria.

Tel: +213 64 60 15 24;

E-mail: nima.berber@gmail.com

Received: 7 February 2014;

accepted: 16 April 2014

## Summary

In this study, genetic analyses of diversity and differentiation were performed on five horse breeds raised in Algeria (Barb, Arab-Barb, Arabian, Thoroughbred and French Trotter). All microsatellite markers were highly polymorphic in all the breeds. A total of 123 alleles from 14 microsatellite loci were detected in 201 horses. The average number of alleles per locus was the highest in the Arab-Barb horses (7.86) and lowest in the thoroughbred breed (5.71), whereas the observed and expected heterozygosities per breed ranged from 0.71 (Thoroughbred) to 0.752 (Barb) and 0.71 (Thoroughbred) to 0.77 (Arab-Barb), respectively. The genetic differentiation between the breeds was significant ( $p < 0.01$ ) based on the infinitesimal model ( $F_{ST}$ ). Three different approaches for evaluating the genetic relationships were applied. Genetic distances, the factorial correspondence analysis and structure analysis showed that a significant amount of genetic variation is maintained in the native horse populations and the other breeds. The Barb and Arab-Barb breeds seem to be the most genetically related and support the decision to consider the breeds as same population.

## Introduction

In Algeria, the horse occupies an important space in the history, the culture and tradition of the society. Horses also represent an important market, with nearly 100 000 horses according to the data of the Algerian Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (Rahal 2005). The great majority of these horses are commonly identified as Barb and Arab-Barb. These two breeds are from the coastal regions of North Africa. They are generally used in the fantasia (traditional exhibition of horsemanship in the Maghreb

performed during cultural festivals), as well as in the equestrian sports. There are an approximately of 10 000 heads belonging to the Barb breed and 80 000 Arab-Barb (Kadri 2006).

In 1886, the first Algerian studbook of the Barb horse has been established. The Tunisian and Moroccan studbooks have followed in 1896 and 1914, respectively (Kadri 2006). Currently, there is an international commitment to promote and preserve the Barb breed. As well, Algeria created the World Organization of the Barb Horse OMCB in June 1987. This organization counts today eight countries that are, in



addition to the countries of origin (Algeria, Morocco and Tunisia), France, Belgium, Germany, Switzerland and Luxembourg (Kadri 2006). The Arab-Barb is the predominant breed in Algeria. This breed is the creation of Tiaret broodmares in 1877, by crossing between Barb and Arabian horses (Rahal 2005). The breed is raised to combine the hardiness, the endurance and the stamina of the Barb, to the elegance and the speed of the Arabian.

In addition to these two autochthonous breeds, we also distinguish Arabian breed, Thoroughbred and the French trotters, mainly used in equestrian sporting events of dressage and show jumping. For several decades, these imported breeds distributed unevenly on the Algerian territory and they adapt the most in mountainous regions and arid territories of North Africa (Kadri 2006).

In animal breeding, genetic characterization is the first step in breed conservation and may have implications for future breeding strategies and management plans. Among molecular markers, microsatellites are considered suitable for biodiversity evaluation, owing to their ubiquitous presence throughout the mammalian genome, codominant inheritance and high degree of polymorphism, and these markers have been successfully used in parentage and relatedness tests in horses (Bowling et al. 1997).

Genetic diversity within and among horse breeds around the world has been analysed by microsatellites, including the Spanish Celtic breeds (Canon et al. 2000), Polish breeds (Zabek et al. 2005), Brazilian breeds (Lippi & Mortari 2003), Portuguese breeds. (Luis

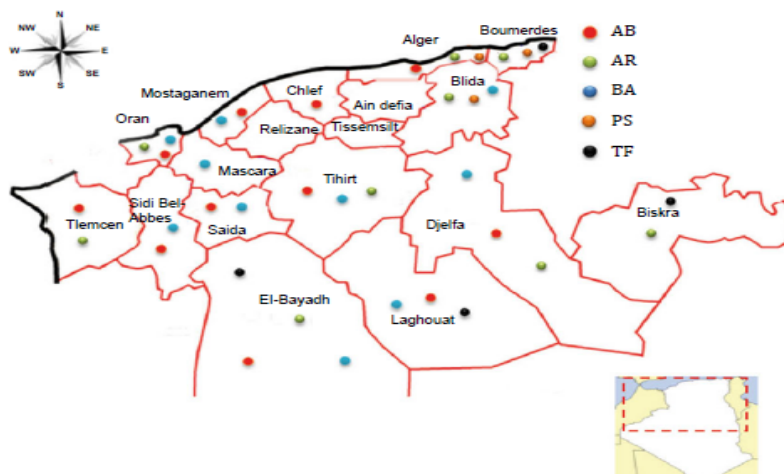
et al. 2007), French breeds (Leroy et al. 2009) and Indian horse breeds (Behl et al. 2007). However, the genetic relationships of horse populations in Algeria have not been investigated using microsatellites.

This research is the first applying molecular markers to characterize the horse breeds in Algeria. The aim of this study was to (i) analyse the genetic diversity of five horse breeds raised in Algeria using a set of microsatellite markers, (ii) determinate their genetic relationship and (iii) characterize geographical and genetic differentiation between Barb and Arab-Barb breeds at different spatial sites in Algeria.

## Materials and methods

### Population samples and DNA isolation

Blood samples from 201 animals were collected from five domesticated horse breeds from their respective areas of distribution (Figure 1). The breeds involved and their sample sizes were as follows: Arab-Barb (AB, N = 55), Arabian (AR, N = 57), Barb (BA, N = 41), Thoroughbred (PS, N = 22) and French Trotter (TF, N = 26). The individuals chosen were registered in the breed's studbook, and we avoided closely related animals. Approximately 10 ml of blood per animal was collected aseptically into EDTA (0.5 mM, pH 8.0) coated vacutainers, and genomic DNA was extracted from whole blood following the salting out procedure (Miller et al. 1988). DNA samples of these animals were provided by the laboratory of genetics molecular and cellular, Oran, Algeria.



**Figure 1** Geographical location of five horse breeds sampled in this study. Population abbreviations are found in Table 1.



### Microsatellite markers

Fourteen microsatellite markers were selected for this study. These microsatellite markers have been recommended for individual identification and parentage verification of equines by the International Society for Animal Genetics (ISAG). The genotyping assays of microsatellites were performed in LABOGENA Laboratory, Paris, France.

### Multiplex PCR conditions

In our study, we amplified fourteen microsatellites in two multiplex using fluorescently labelled primers. The first multiplex MP1 included microsatellites AHT4, AHT5, ASB2, HMS1, HMS3, HMS6, HMS7, HTG4, and HTG6, HTG10, VHL20. And the second MP2 was composed of ASB17, ASB23, HMS2 and HTG10. The thermocycling conditions included an initial denaturation at 95°C for 15 min, followed by 30 cycles of 30 s at 94°C, 90 s at 58°C annealing temperature and 1 min at 72°C. A final elongation step was carried out at 60°C for 30 min. The amplified products were denatured with formamide, and PCR products were detected by capillary electrophoresis using an ABI Prism 3730 DNA Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA). Size analyses of DNA fragments separated were performed with GENOTYPE software Ver.3.7 (Applied Biosystems). The internal size standard GENESCAN-LIZ 500 (Applied Biosystems) was used for sizing alleles.

### Computation and statistical analysis

Allelic frequencies and number of alleles per locus observed heterozygosity ( $H_o$ ) and unbiased expected heterozygosity ( $H_e$ ) were calculated across loci and populations using the GENETIX software version 4.04 (Belkhir et al. 2001). Representation of the genetic relationships among tested populations was performed using FCA approach (Lebart et al. 1984) as implemented by the same software. Wright F-statistics ( $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$  and  $F_{IS}$ ) and allelic richness ( $R_t$ ) were calculated for each locus and across the genome using FSTAT 2.9.3 (Goudet 2001). A hierarchical analysis of variance was carried out using an analysis of molecular variance (AMOVA) approach implemented in the software ARLEQUIN version 3.01 package (Excoffier et al. 2005).

The Hardy–Weinberg equilibrium test (HWE) was performed with the GENEPOP 4.0 software (Raymond & Rousset 1995) using exact tests and sequential Bonferroni correction. The gene flow value ( $N_m$ ) was also computed using the same software. PHYLIP 3.5 statistical package (Felsenstein 1989) was used to calculate

genetic distances and to obtain bootstrap procedures and trees. Bootstraps' values were computed more than 1000 replicates, and SPLITSTREE 4.0 software (Huson & Bryant 2006) was used to visualize the diagrams.

The genetic structure of the populations was analysed by Bayesian clustering methods developed by Pritchard using the software STRUCTURE 2.1 (Pritchard et al. 2000). An admixture model and correlated allele frequency model were used to analyse the dataset without prior population information for K ranging from 2 to 10. The program was run 20 times independently, and each run consisted of 1 000 000 Markov chain Monte Carlo (MCMC) iterations, after a burnin period of 100 000 steps. Subsequently, an ad hoc quantity based on the second-order rate of change in the likelihood function with respect to K (K) was used for estimating the number of clusters from structure analysis (Evanno et al. 2005). STRUCTURE HARVESTER v.0.6.1 (Earl & VonHoldt 2011) was used to process the structure result files, and a graphical bar plot of membership coefficients for populations and individuals was generated using the DISTRUCT program (Rosenberg 2004).

To investigate an eventual spatial structure related to genetic differentiation considering Barb, Arab-Barb and both breeds together, a principal component analysis (PCA) was performed on allele frequencies averaged by regions (see Figure 1). On the basis of value for axis 1 of the PCA, results were then interpolated spatially, directly and using a Kriging approach, using the R procedure described by Francois ([http://membres-timc.imag.fr/Olivier.Francois/admix\\_display.html](http://membres-timc.imag.fr/Olivier.Francois/admix_display.html)). Overall spatial correlation of PCA axis 1 was quantified and tested using Moran's I coefficient (Moran 1950), connecting regions with a Gabriel neighbouring graph.

## Results

### Microsatellite markers

All the equine microsatellites loci reported in this study have been amplified successfully in all breeds. A total number of 123 different alleles were detected across the 14 loci analysed. The number of alleles per locus ( $A_t$ ) varied between 6 (HTG4) and 14 (ASB17) with a mean of 8.78 alleles (see Table S1). Moreover, the lower and higher values of allelic richness overall samples per locus ( $R_t$ ) were showed in HTG6 (4.47) and ASB17 (9.72) loci, respectively, with a mean of 6.86.





The expected heterozygosity across the breeds varied from 0.669 (HMS1) to 0.853 (VLH20), while the observed heterozygosity across the breeds ranged from 0.568 (HTG6) to 0.839 (HTG10).

Values for the Wright's F-statistics were determined after 10 000 permutations (see Table S1), and multilocus  $F_{ST}$  values indicate that around 5% of the total genetic variation was attributed to significant differences between the horse breeds, with the remaining 95% corresponding to differences between individuals. Genetic differentiation among breeds was highly significant ( $p < 0.01$ ) for all loci. A significant excess of homozygotes across all breeds ( $p < 0.05$ ) was found for HTG4 and ASB2 loci. On average, breeds had a 2.1% ( $p < 0.05$ ) deficit of heterozygotes, whereas the total population had a 7% ( $p < 0.01$ ) deficit of heterozygotes.

#### Genetic diversity within breeds

Parameters characterizing the polymorphism of all the horse breeds tested are listed in Table 1. The observed and expected heterozygosities per breed ranged from 0.72 (PS) to 0.752 (BA) and 0.71 (PS) to 0.77 (AB), respectively. The mean number of alleles MNA was the highest in the Arab-Barb horses (7.86) and lowest in the Thoroughbred breed (5.71).  $F_{IS}$  value within populations varied between -0.002 in the Barb and 0.057 in the Arab-Barb, although  $F_{IS}$  was statistically significant only for Arab-Barb and Arabian breeds due to a deficiency of heterozygosity.

A total of 12 private alleles were identified in the present work, and most of the private alleles (eight) were at very low frequencies of below 2%. Three alleles unique to Barb horses and one to a Thoroughbred horse showed a frequency that exceeded 2%.

The HWE was tested for all breed-locus combinations. Significant ( $p < 0.05$ ) deviations from a HWE were observed for 6 (8.6%) of 70 breed-locus

combinations. However, heterozygote deficiency analysis revealed that all the five populations exhibited significant deviation from HWE ( $p < 0.05$ ) at many loci, The Arab-Barb horse showed the maximum number of loci in disequilibrium (5 loci), followed by Thoroughbred (three loci).

#### Genetic variation and the relationship between Breeds

The AMOVA test revealed that the higher variation (92.99%) is within the individual, 2% among individuals within populations and 5% among populations.

All  $F_{ST}$  values calculated by pairwise breed combinations using  $F_{STAT}$  and after 5000 permutations were significantly different from zero ( $p < 0.05$ ). The highest level of differentiation was observed between Arabian and French Trotter breeds ( $F_{ST} = 0.086$ ) and the lowest one between Arab-Barb and Barb breeds ( $F_{ST} = 0.001$ ) (Table 2).  $N_m$  represents the number of effective migrants exchanged per generation, Table 2 shows that the  $N_m$  values for pairs of breeds varied from 2.67 to 253.02 for the AR-TF pair and the AB-BA pair, respectively. However, the effective number of migrants per generation ( $N_m = 253.02$ ) between the Barb-Arab-Barb pair was very high in comparison with the values for the other pairs of breeds.

A neighbour-joining NJ tree was constructed on the basis of the  $D_R$  genetic distances with relatively high bootstrap values (Figure 2). The tree showed a clear subdivision of the breeds and two groups can be distinguished. The first consisted of the AB and the BA identified with a high bootstrap value (98.8%), and the second identified with a bootstrap value of 91.8% and was formed by PS and TF. The AR breed was identified between these two groups.

The factorial correspondence analysis FCA strongly confirmed the genetic distinctiveness of the five horse breeds. Results of the three-dimensional plot factorial correspondence analysis (Figure 3) clearly separated

Table 1 Basic information and values for parameter of polymorphism observed for each breed on the five populations studied

Population	Code	Sample size	MNA	Heterozygosity			Breed-specific alleles	
				$H_o$ (SE)	$H_e$ (SE)	$F_{IS}$	Breed	NPA
Arab-Barb	AB	55	7.86	0.738 (0.113)	0.772 (0.078)	0.057**	AB	3
Arabian	AR	57	6.43	0.718 (0.072)	0.731 (0.078)	0.018*	AR	0
Barb	BA	41	7.64	0.752 (0.109)	0.751 (0.078)	-0.002	BA	5
Thoroughbred (Pur sang)	PS	22	5.71	0.717 (0.161)	0.719 (0.109)	0.002	PS	2
French Trotter	TF	26	6.07	0.723 (0.151)	0.723 (0.118)	0.000	TF	2

$H_o$ , observed heterozygosity;  $H_e$ , expected heterozygosity; MNA, mean number of allele;  $F_{IS}$ , heterozygote deficiency coefficient; NPA, number of private alleles; \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .



Table 2  $F_{ST}$  estimates (below the diagonal) as a measure of genetic distance between horse breeds and the number of effective migrants per generation  $N_m$  (above the diagonal)

Breed	AB	AR	BA	PS	TF
AB	–	6.92	253.02	3.61	3.85
AR	0.035	–	4.89	3.23	2.67
BA	0.001	0.048	–	2.93	3.88
PS	0.065	0.072	0.078	–	4.08
TF	0.060	0.086	0.060	0.057	–

AB, Arab-Barb; AR, Arabian; BA, Barb; PS, Thoroughbred (Pur sang); TF, French Trotter.

the native populations from the other breeds. Simultaneously, the Barb and Arab-Barb were clustered together.

Bayesian clustering methods have proven to be powerful analytical tools for identifying genetic structure in data sets, Evanno et al. (2005) method, which is based on the second-order rate of change in the likelihood function with respect to  $K$  (DK), showed a clear peak at  $K = 3$ . The Arabian (AR) breed was separated from the other populations after the first calculation clusters ( $K = 2$ ). The Arab-Barb (AB) and Barb (BA) breeds as well as the Thoroughbred (PS) and French Trotter (TF) breeds clustered together at  $K = 3$ , when considering larger  $K$  values, all breeds were separated into their own clusters (Figure 4), except for Barb and Arab-Barb.

PCA and spatial interpolation of the results

First axis of PCA performed on allele frequencies explained 17.8%, 18.7% and 16.7% of total inertia when considering Arab-Barb, Barb and both breeds grouped, respectively. Results of spatial interpolation

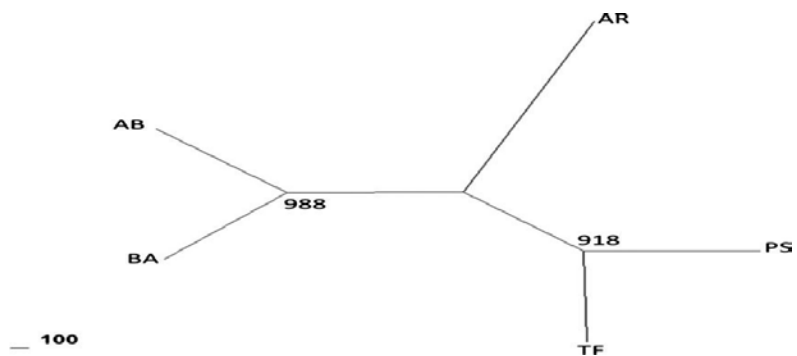
based on first axis results are shown in Figure 5, indicating relative similarities between horses sampled Mascara, Saida and Tiaret (Tihirt). Note, however, that when computing spatial autocorrelation, Moran's  $I$  index was found significantly different from 0 only when considering both breed together ( $p = 0.01$ ), with a value of 0.34.

Discussion

In this paper, we carried out the first study applying molecular markers to characterize genetic variability of five horse breeds raised in Algeria. In addition, we resolved their genetic relationships, especially between autochthonous horse breeds Barb and Arab-Barb.

All loci evaluated in the present work considered highly informative. The heterozygosities for all loci analysed were lower than expected (exception HMS6), which could be attributed to within-population inbreeding or by population subdivision (Wahlund's effects) (Arora & Bhatia 2004). Rare alleles, with frequencies below 5%, were found in all the breeds, exception the Arabian (Table 2). We have also observed a relatively large number of breed-specific alleles in Barb and Arab-Barb breeds. It was interesting to observe that while in Barb breed,  $F_{IS}$  value was found non-significantly different from zero, in Arab-Barb breed,  $F_{IS}$  was found significantly positive, which could be related to different breeding management methods in both breeds. Indeed, while in Barb breed, most of the stallions used are raised in one place (Haras national Tiaret), in Arab-Barb breed, mating is managed independently by breeders all over the country, which could have led to some Wahlund's effects.

Figure 2 Neighbour-joining tree obtained from the  $D_R$  distance between the studied populations (1000 bootstrap).



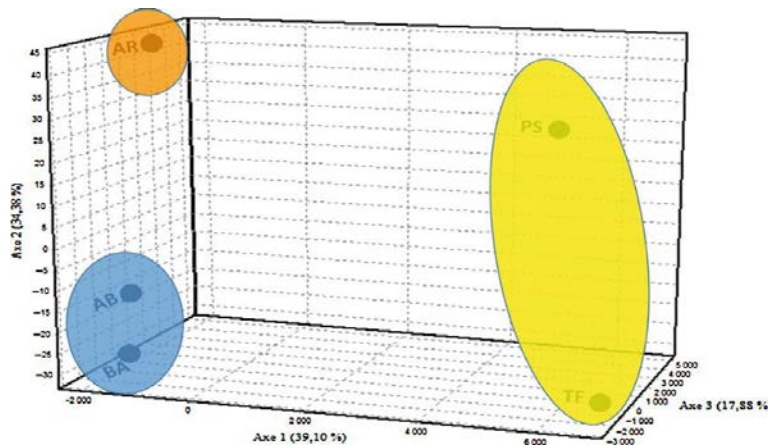


Figure 3 Factorial correspondence analysis of the 14 microsatellite loci analysed in the five horse breeds. Each individual was plotted in a three-dimensional plot. Axis 1 accounts for 39.10% of the variation.

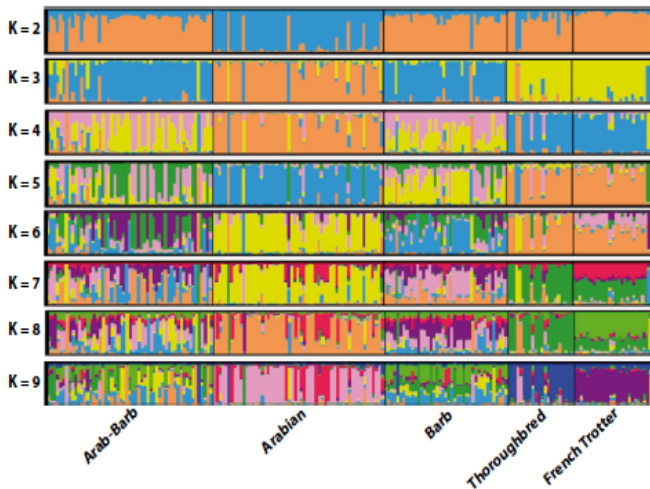


Figure 4 Proportion of membership for 201 individuals from Arab-Barb, Arabian, Barb, Thoroughbred and French Trotter horses.

Our results showed genetic differentiation for all but Barb/Arab-Barb pairs of breeds. The level of differences explained 5% of the total genetic variation, and all loci contribute to this differentiation with  $F_{ST}$  values being moderately low and similar for all systems studied, but very significant ( $p < 0.001$ ). Our overall  $F_{ST}$  value was similar to but slightly lower than the 6.5% reported by Behl et al. (2007) for five Indian horse breeds (Marwari, Spiti, Bhutia, Manipuri and Zanskari). However, it was smaller than those previously found in Polish breeds ( $F_{ST} = 10\%$ , Zabek et al. 2005), Brazilian breeds ( $F_{ST} = 11.7\%$ , Lippi & Mortari 2003) and Norwegian breeds ( $F_{ST} = 12\%$ , Bjørnstad et al. 2000). The difference here is probably related to the fact that those studies investigated breeds from different origins (race/riding horse, heavy horses, ponies. . .), while here, all breeds analysed were all race horses explaining the lower  $F_{ST}$  value.

All five populations (Arab-Barb, Arabian, Barb, Thoroughbred and French Trotter) had high heterozy-

gosity values (0.77, 0.73, 0.75, 0.71 and 0.72, respectively). These values are among the highest heterozygosity values reported for other horse populations (Lu<sub>is</sub> et al. 2007; Leroy et al. 2009; Khanshour et al. 2013), although these values are not directly comparable with these studies because of differences in the microsatellite sets used.

The divergence between the studied horse breeds was evaluated using different approaches (genetic distances, factorial correspondence analysis FCA and

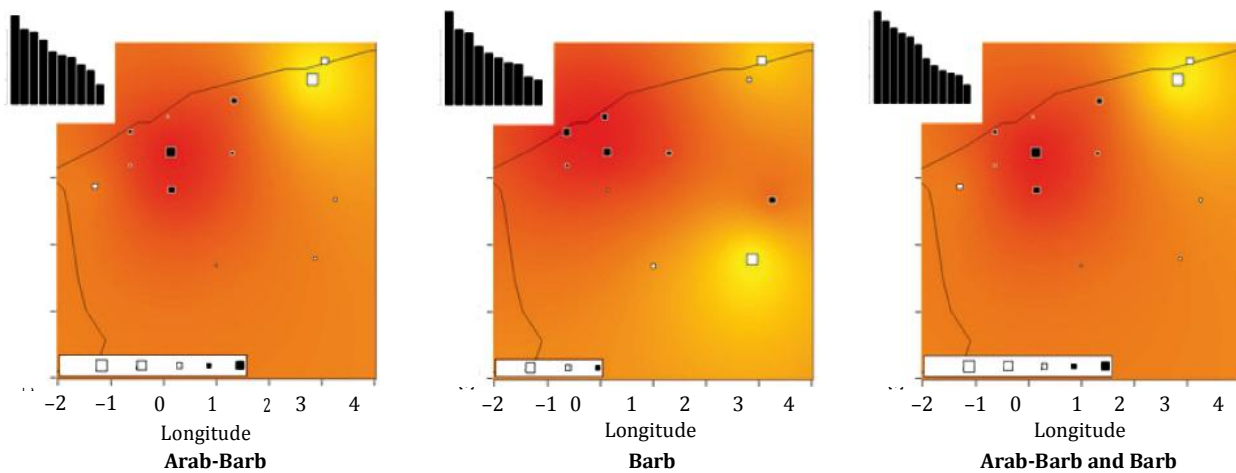


Figure 5 Geographical interpolation of principal component analysis (PCA) results for axis 1, considering Arab-Barb and Barb breeds independently or grouped (for each graph, eigenvalues for the 10 first axis are indicated).

clustering methods). All these three classical estimates based on genetic relationships gave similar results. There is a genetic differentiation between Algerian autochthonous horses and other breeds.

The neighbour-joining tree (DR) showed a clear subdivision of the breeds, and Arab-Barb horse was more closely related to Barb Breed than the Arabian (Figure 2). Thoroughbred and French trotter breeds are clearly separated from the autochthonous breeds, and the Arabian horses assumed an intermediate position. This result could be explained by some influence from Arabian breed in the original breed formation in more recent years. The genetic proximity of both autochthonous breeds BA and AB was also demonstrated using the FCA and the Bayesian clustering approach, which gives more precise information on breed relationships. However, our estimates for the native breeds (BA and AB) are similar to this reported by Ouragh et al. (1994), pointed out using biochemical polymorphisms.

Spatial interpolation may indicate some genetic differentiation related with geographical origins, even if those results should be taken with caution, as (i) Moran's index was found significantly different from 0, only when considering Barb and Arab-Barb together, and (ii) first PCA's axis explained only <20% of total inertia. A larger sampling considering the number of horses and markers used could provide more precise data on this question.

## Conclusion

Summarizing the information above, we can conclude the genetic differentiation between Algerian autochthonous horses and other breeds. The BA and AB breeds appeared to be genetically related and considered as the same population. If these two breeds do not seem to show real differentiation based on microsatellite markers, which can be related to continuous gene flows between both populations, the different in genetic structure within both breeds may be eventually related to contrasted management methods. The data and information found here represent a preliminary to accomplish the genetic characterization of Algerian horse breeds.

## Acknowledgements

We would like to thank the partners who have provided samples: the Haras National CHAOUCHAOUA of Taret and the National Office of the Development of Equine and Camel Livestock (ONDEEC), and we thank Mr. Benabdelmoumene S., Dr. Rahal K, Dr. Bouziane Z., Dr. K\_ebali A., Pr. Aumassip Kadri G. for their kind collaboration.

## References

- Arora R, Bhatia S. (2004) Genetic structure of Muzzafarnagri sheep based on microsatellite analysis. *Small Rumin. Res.*, 54, 227-230.
- Behl R., Behl J., Gupta N., Gupta S.C. (2007) Genetic relationships of five Indian horse breeds using microsatellite markers. *Animal*, 1, 483-488.
- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N., Bonhomme F. (2001) GENETIX 4.04, Logiciel sous Windows TM pour



- la Genetique des Populations. Laboratoire Genome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université<sup>0</sup> de Montpellier II, Montpellier, France.
- Bjørnstad G., Gunby E., Røed K.H. (2000) Genetic structure of Norwegian horse breeds. *J. Anim. Breed. Genet.*, 117, 307–317.
- Bowling A.T., Eggleston Stott M.L., Byrns G., Clark R.S., Dileanis S., Wictum E. (1997) Validation of microsatellite markers for routine horse parentage testing. *Anim. Genet.*, 28, 247–252.
- Canon~ J., Checa M.L., Carleos C., Vega-Pla J.L., Vallejo M., Dunner S. (2000) The genetic structure of Spanish Celtic horse breeds inferred from microsatellite data. *Anim. Genet.*, 31, 39–48.
- Earl D.A., VonHoldt B.M. (2011) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.*, 4, 359–361.
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: a simulation study. *Mol. Ecol.*, 14, 2611–2620.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. (2005) Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online*, 1, 47–50.
- Felsenstein J. (1989) PHYLIP—Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics*, 5, 164–166.
- Francois O. How to display admixture coefficients (Q matrix) spatially? (available at: [http://membres.timc.imag.fr/Olivier.Francois/admix\\_display.html](http://membres.timc.imag.fr/Olivier.Francois/admix_display.html)).
- Goudet J. (2001) FSTAT, A Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices (Version 2.9.3). Université<sup>0</sup> de Lausanne, Lausanne, Suisse (available at: <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> last accessed 1 October 2011).
- Huson D.H., Bryant D. (2006) Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Mol. Biol. Evol.*, 23, 254–267.
- Kadri A. (2006) Le cheval barbe, cheval du Nord de l'Afrique, son rôle en Algérie. *Organis. Mond. Cheval Barbe*, 9, 45.
- Khanshour A., Conant E., Juras R., Cothran E.G. (2013) Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Arabian horse populations. *J. Hered.*, 3, 386–398.
- Lebart L., Morineau A., Warwick K. (1984) *Multivariate Descriptive Statistical Analysis*. John Wiley, New York.
- Leroy G., Verrier E., Meriaux J.C., Ricard A., Danchin Burge C., Rognon X. (2009) Genetic diversity of a large set of horse breeds raised in France assessed by microsatellite polymorphism. *Genet. Sel. Evol.*, 41, 5.
- Lippi A.S., Mortari N. (2003) Studies of blood groups and protein polymorphisms in the Brazilian horse breeds Mangalarga Marchador and Mangalarga (*Equus caballus*). *Genet. Mol. Biol.*, 26, 431–434.
- Lu<sub>is</sub> C., Juras R., Oom M.M., Cothran E.G. (2007) Genetic diversity and relationships of Portuguese and other horse breeds based on protein and microsatellite loci variation. *Anim. Genet.*, 38, 20–27.
- Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.*, 16, 12–15.
- Moran P.A.P. (1950) Notes on continuous stochastic phenomena. *Biometrika*, 37, 17–23.
- Ouragh L., Meriaux J.C., Braun J.P. (1994) Genetic blood markers in Arabian, Barb and Arab-Barb horses in Morocco. *Anim. Genet.*, 25, 45–47.
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945–959.
- Rahal K. (2005) Le barbe en Algérie, un acteur de développement durable des régions rurales. *Le monde hippique*, 48, 27–29.
- Raymond M., Rousset F. (1995) GENEPOP (version 1.2). Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.*, 86, 248–249.
- Rosenberg N.A. (2004) DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Mol. Ecol. Notes*, 4, 137–138.
- Zabek T., Nogaj A., Radko A., Nogaj J., Slota E. (2005) Genetic variation of Polish endangered Bilgoraj horses and two common horse breeds in microsatellite loci. *J. Appl. Genet.*, 46, 299–305.

### Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

Table S1 Descriptive statistics of the 14 microsatellite marker loci for all the studied breeds.

# *Conclusion & Perspectives*

---



Les ressources génétiques animales représentent un élément important dans la croissance économique, alimentaire, environnemental et socioculturel d'un pays. En Algérie, les ressources génétiques équines font partie de notre héritage national et ont une grande valeur économique et socio-culturelle. Toutefois, l'information sur la diversité génétique des races équines algériennes est essentielle pour l'établissement des stratégies de conservation et de gestion durable de races équines algériennes, essentiellement pour les deux races autochtones Barbe et Arabe-Barbe.

Durant cette étude originale, nous avons contribué à la première caractérisation génétique de cinq races équines élevées sur le territoire algérien et nous avons entamé l'étude de leurs variabilités et leurs relations phylogénétiques. Le polymorphisme génétique de ces races a été étudié par l'analyse des 14 microsatellites, sur un échantillon de 201 animaux non apparentés. Au cours de ce travail, plusieurs logiciels ont été employés pour évaluer des critères de diversité des populations équines.

Les résultats obtenus ont montré une variabilité génétique assez importante chez les races équines étudiées. En effet, sur l'ensemble des 201 animaux génotypés, un total de 123 allèles différents a été mis en évidence avec les 14 microsatellites étudiés. Le taux d'hétérozygotie non biaisé moyen obtenu pour l'ensemble des races est de 0,76. La comparaison des races a permis de constater que c'est la race Arabe-Barbe qui présente la variabilité génétique intra-race la plus importante avec **110** allèles et un taux d'hétérozygotie théorique non biaisé élevé, égal à **0,772**. Par contre, la race Pur-sang Anglais présente la variabilité génétique intra-race la plus faible avec **80** allèles et le taux d'hétérozygotie théorique non biaisé le plus faible (**0,719**). Ceci est probablement dû à la taille réduite de l'échantillon analysé et au fait que cette race est de faible effectif dans notre pays.

Afin d'estimer la variabilité inter-race, une analyse de la structuration des cinq populations étudiées a été réalisée. Cette analyse a montré que la diversité totale de l'ensemble des cinq races est dûe majoritairement à la diversité intra-population (95%), Le taux de diversité inter-populations a été estimé à 5%, ce qui est en faveur d'une différenciation modérée entre ces populations.

Plusieurs approches ont été employées pour évaluer les relations génétiques entre les cinq races équines algériennes : les distances génétiques, l'analyse factorielle des correspondances et les méthodes de clustering. Les informations obtenues par ces approches ont montré une nette séparation entre les races autochtones du pays et les races importées, Ces



résultats sont en accord avec les découvertes historiques qui montrent l'existence d'une souche locale de chevaux Barbe en Afrique du Nord, grâce à des fouilles archéologiques effectuées en Algérie. Ces fouilles ont abouti à l'identification des restes osseux de l'espèce *Equus algericus*, situés au Sud Est de Tiaret et à Hydra aux environs d'Alger (**Chaid-Saoudi, 1988**).

Une proximité génétique entre les deux races Barbe et Arabe-Barbe a également été démontrée. Ainsi, notre constatation concernant ces deux races autochtones est similaire à celle rapportée par l'étude d'**Ouragh et al. (1994)**, qui à l'aide du polymorphisme biochimique, a montré une proximité génétique entre ces deux races autochtones marocaines (Barbe et Arabe-Barbe).

Par ailleurs, pour les gestionnaires de la filière équine en Algérie l'identification des chevaux d'origine inconnue, ainsi que leur inscription à titre initial dans le stud-book est un défi permanent, puisque la majorité des chevaux autochtones ne sont pas affiliés et d'origine inconnue. Dans cette thèse, nous avons employé plusieurs approches pour évaluer la structure et les relations génétiques entre les cinq races élevées en Algérie. Il apparaît difficile de mettre en évidence des groupes homogènes entre les deux races autochtones génétiquement proches (Barbe et Arabe Barbe) basant sur le nombre des individus analysé et le panel de 14 microsatellites utilisé au cours de ce travail.

En revanche, Au cours des lignes qui vont suivre, nous tenterons d'apporter un certain nombre de recommandations, qui pourraient participer à court et moyen terme, à préserver la variabilité génétique de nos races équines et d'améliorer les méthodes de gestion de l'élevage, en particulier par :

- *La gestion des croisements afin de minimiser les risques de la consanguinité*: en effet, la limitation des unions entre apparentés et l'utilisation de reproducteurs d'origines étrangères constitueront une source pour faire chuter la consanguinité et accroître la variabilité génétique au sein d'une population, en particulier pour les races à effectif réduit principalement la race Barbe.

- *L'établissement de généalogie et contrôle de filiation*: en matière de contrôle de filiation, l'utilisation du panel de 14 microsatellites pour la vérification annuelle des généalogies de notre production équine, assurera l'origine des chevaux d'origine douteuse et confirmera leurs parenté, ce qui augmentera la fiabilité de notre stud-book des races autochtones Barbe et Arabe-Barbe (le WAHO ne reconnaît plus les stud-books s'il n'y a pas de typage ADN, et les





pays membres de l'OMCB ont recommandé de généraliser le génotypage d'ADN pour la vérification des filiations).

- *La sensibilisation des organismes gouvernementaux*: une sensibilisation devra mettre en place vis-à-vis de l'intérêt de la variabilité génétique équine et des risques encourus si cette variabilité venait à disparaître. Il est aussi du devoir des organisations de la filière équine (ONDEEC, OMCB, ...) de généraliser et officialiser les pratiques cités dans cette étude de de référence sur tous le territoire national.

La présente étude nous a permis notamment de faire un premier pas vers la caractérisation génétique du cheptel équin algérien. Il n'en reste pas moins qu'à la suite de ce travail, un certain nombre d'éléments méritent d'être approfondis au cours de futures recherches.

-*Elargissement des échantillonnages*: dans nos perspectives, nous envisageons d'élargir notre étude sur un plus grand nombre d'effectif par races, notamment par l'échantillonnage d'animaux au niveau des autres régions réparties sur le territoire national, afin de réaliser une caractérisation complète du cheptel équin algérien.

-*Utilisation de nouveaux marqueurs*: si les 14 microsatellites ont permis d'obtenir un certain nombre de résultats intéressants, concernant la variabilité intra- raciale, la faiblesse des informations obtenues à l'échelle des deux races autochtones montre les limites de ce panel. L'utilisation de SNPs en grand nombre devrait permettre d'obtenir des résultats beaucoup plus informatifs sur les deux races autochtones : Barbe et Arabe-Barbe.

-*Mise en application des affectations raciales*: nous avons évoqué le fait qu'à la suite des analyses de la diversité inter- raciale, il apparaissait tout à fait envisageable d'utiliser les affectations des animaux à une race, comme outil et support de l'inscription des chevaux d'origine inconnue à titre initial dans le stud-book. Ceci en particulier pour la race Barbe, afin de donner une fiabilité au stud-book de cette race, qui est basé pour le moment, seulement sur les critères morphologiques.

# *Annexes*

---

Annexe1**Questionnaire d'échantillonnage**

<b>Fiche remplie par :</b> Berber Naima	<b>Wilaya :</b>	
<b>Echantillon N° :</b>	<b>Date de prélèvement :</b>	
Type de l'institut : <input type="checkbox"/> Centre d'équestre	<input type="checkbox"/> Haras prévit	<input type="checkbox"/> Jumentrie

<b>Propriétaire</b>  Nom et Prénom:  Date de naissance:  Type d'éleveur :	Photo de l'animal
---	-------------------

**INFORMATION RELATIF A L'ANIMAL :**

<b>CHEVAL</b>	Nom	
	Race	
	Sexe	
	Age	
	Allure générale	Taille :
		Poids :
	Couleur de la robe	
	Forme de tête	
	Résistance aux maladies	
Vitesse et qualité		
<b>Jument (Mère)</b>	Nom	
	Race	
<b>Etalon (Père)</b>	Nom	
	Race	
<b>Paramètres de reproduction</b>	1- Est il issu d'une insémination artificiel ou pas ??	
	2- L'âge du premier mis bas ?	
	3- L'âge du premier saille	
	4-Quel est le nombre des naissances ?	
	5-Y a-t-il des naissances jumellaires	
	6-Quel est le taux d'avortement ?	

**INFORMATION RELATIF AU TROPEAU D'ELEVAGE :**

<b>Taille du troupeau</b>	<b>Total (poulains+ adultes) =</b>			
	<b>Sexe ratio</b>	Male	Total= 100	/Poulains = Adultes =
		Femelle	Total=	/Poulains = Adultes=

Types des races existants	Nombres d'animaux par races	
Barbe : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
Arabe –barbe : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
Pur sang arabe : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
Pur sang anglais : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
Trotteur français : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		

**La conduite d'élevage :**

- Que représente pour vous la possession d'un cheval :
  - ✓ Est-ce que c'est une valeur culturelle ?
  - ✓ Est-ce que c'est une puissance ?
  - ✓ Est-ce que c'est une revenue monétaire ?
  
- Quel est l'alimentation de votre cheptel ?
  
- Quelle sont les maladies fréquentes chez le cheval ?
  
- Quelles sont les maladies spécifiques à cette région ?
  
- Quel sont selon vous les problèmes liés à ce type d'élevage ?
  
- Comment voyez-vous la prise en charge pour son développement ?
  
- Observation ou remarque :

## Annexe 2

### **Protocole d'extraction d'ADN à partir du sang total par la technique NaCl**

#### **« Salting Out »**

Les premières étapes de toute étude de biologie moléculaire nécessitent l'extraction d'ADN génomique. Cette extraction peut se faire à partir de tissus de différents organes, de la peau. Cependant, le sang est le matériel biologique duquel l'ADN est le plus souvent extrait car il est plus simple à utiliser.

#### **1-Principe :**

L'extraction d'ADN à partir du sang par la technique de NaCl nécessite d'abord une lyse des globules rouges par une solution hypotonique, suivie d'un choc thermique dans la glace (ceci permettra leur élimination). Ensuite, on procède à la lyse des lymphocytes afin que l'ADN soit libéré. Cet ADN sera ensuite traité par la protéase K qui le débarrassera de toutes les protéines qui lui sont liées. Enfin, l'ADN pur sera dissout dans un tampon adéquat.

#### **2- Étapes de l'extraction de l'ADN**

L'extraction de l'ADN au NaCl nécessite les étapes suivantes :

##### **a) Lyse des globules rouges**

Dans un tube Falcon contenant 15ml de sang total, on ajuste avec le tampon TE10/10 (Tris/HCL 10mM, EDTA 10mM, pH =8) jusqu'à un volume final de 30 ml.

Après une délicate homogénéisation, le tube est mis dans la glace pendant 30mn (Ceci provoquera un choc thermique qui fragilisera les membranes des globules rouges. Ainsi, la solution hypotonique de TE provoquera l'éclatement de celles-ci) suivie d'une centrifugation à 2500 tours/mn pendant 15mn, le surnageant est éliminé et le culot obtenu est suspendu dans 30ml de TE. Pour une élimination maximale des globules rouges et une obtention d'un culot blanchâtre correspondant aux globules blancs, on procède à plusieurs lavages.

##### **b) Lyse des globules blancs**

Au culot de lymphocytes obtenu, 1500 µl de solution de lyse (SLB :Tris/Hcl 10mM, EDTA 0.1M, SDS 0.5% , pH=8) sont ajoutés. Le SDS (Sodium Dodécyl Sulfate) contenu dans cette solution a pour rôle de solubiliser les lipides des membranes plasmiques afin de déstructurer ces dernières, inhiber les nucléases et dénaturer les protéines. Après resuspension de

ce culot par une agitation rapide, 251 µl de protéinase K à 20mg/ml sont ajoutés afin qu'elle digère toutes les protéines associées à l'ADN.

### c) précipitation de l'ADN

Une fois le tube retiré du bain-marie, 500 µl de solution NaCl 5M sont ajoutés à celui-ci. Ce qui permettra une séparation de deux phases :

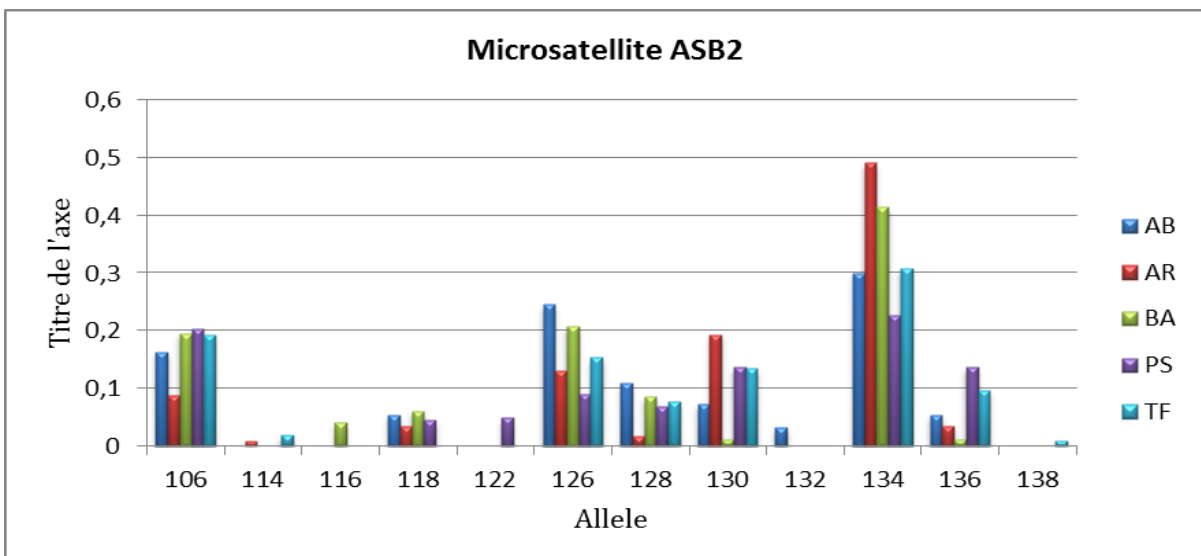
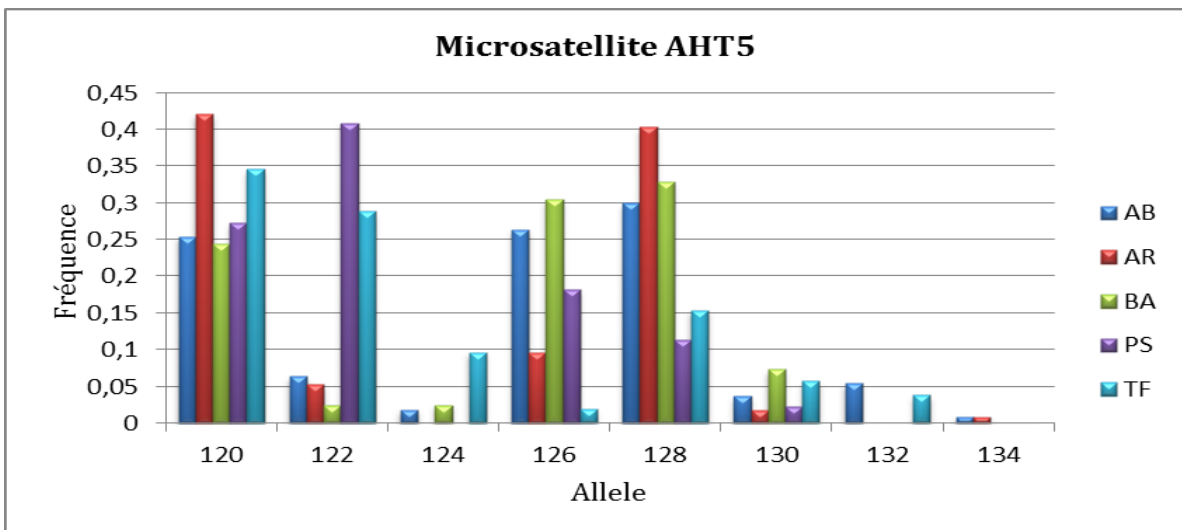
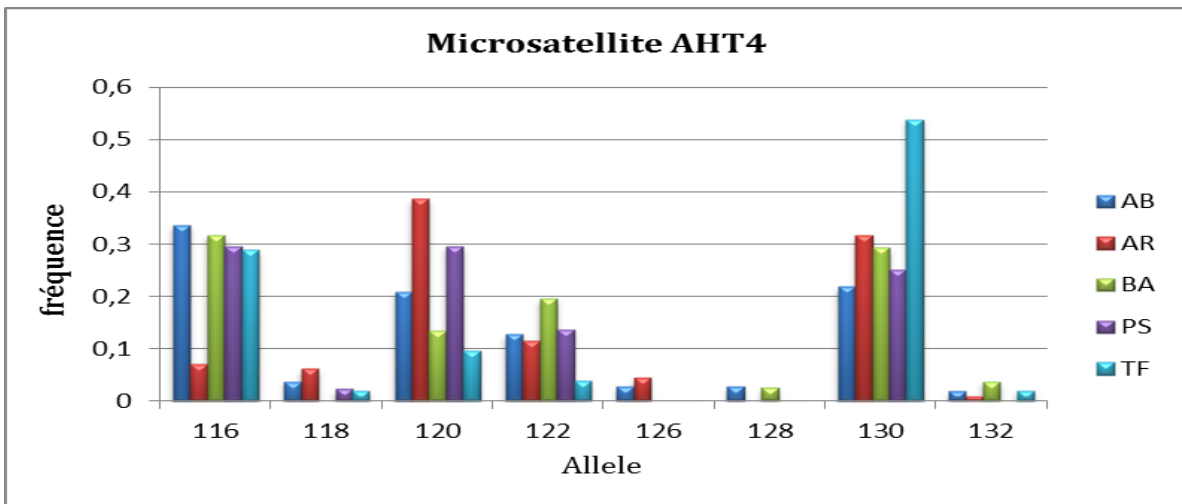
- ✓ Une phase contenant de l'ADN
- ✓ Une phase contenant les débris membranaires des globules blancs.

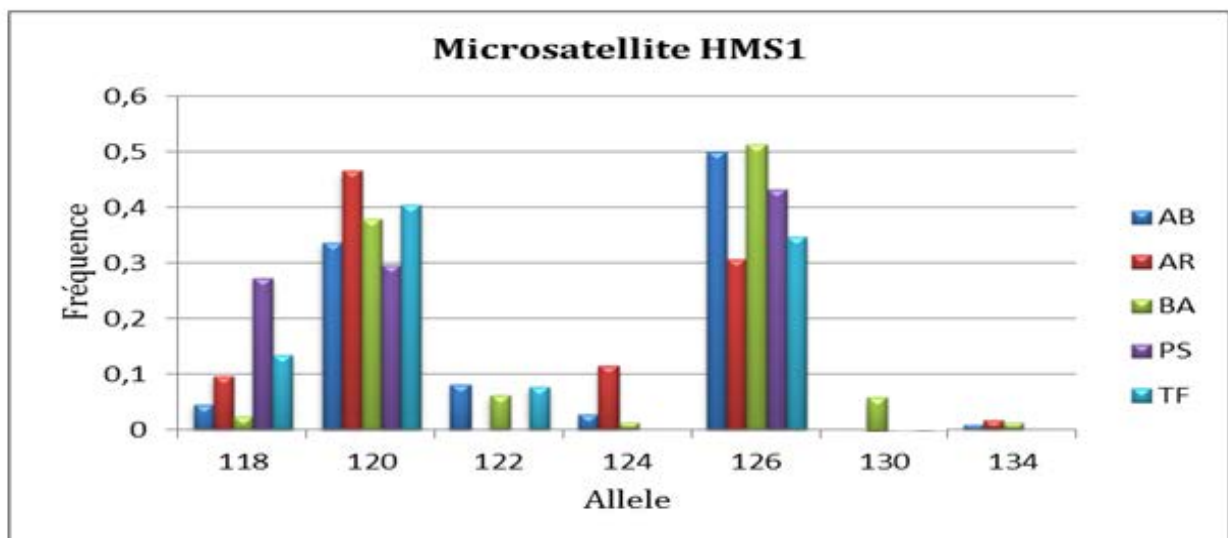
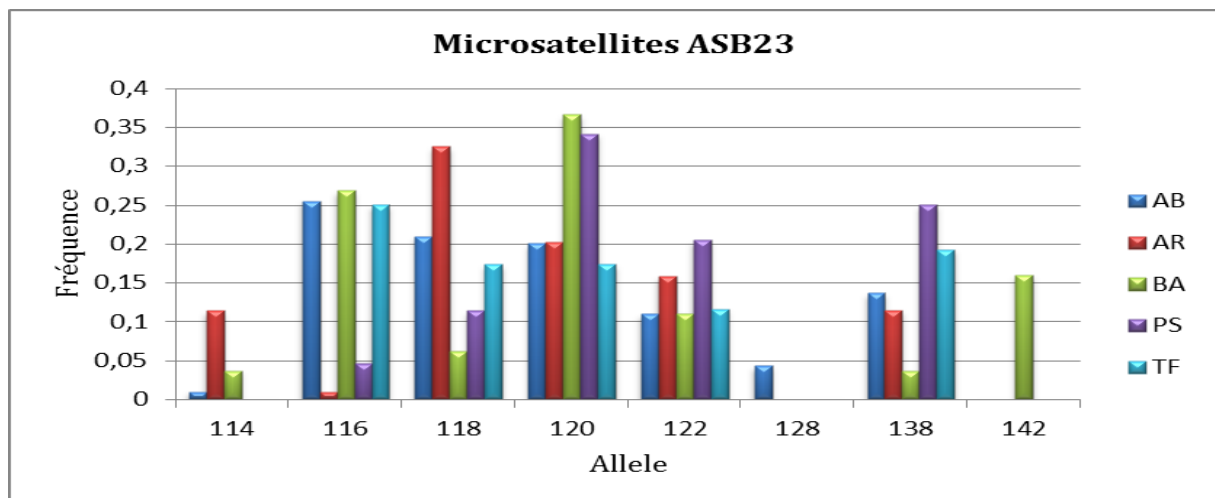
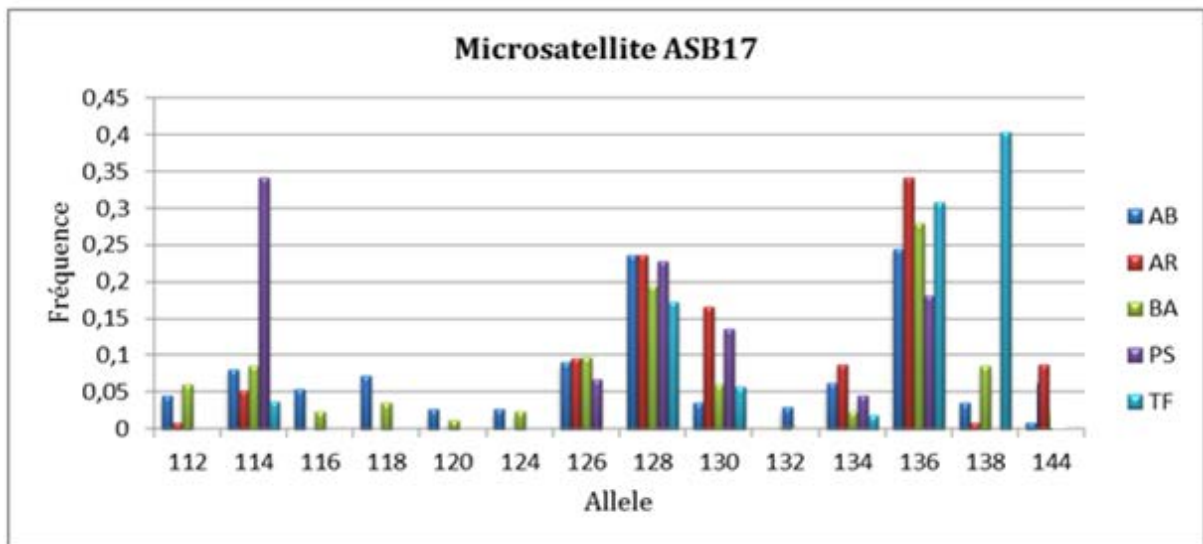
Ceci est dû essentiellement à la compétition entre les ions salins ajoutés et les autres solutés dissous par la solvation des molécules. Ainsi beaucoup de protéines indésirables (PK+ Débris cellulaires) sont éliminées de la solution après avoir été entraînées vers le fond du tube. Le surnageant ainsi formé contient de l'ADN. C'est le phénomène de **Salting-Out (précipitation saline)**. Après une agitation vigoureuse suivie d'une centrifugation à 4000tours/mn pendant 15 mn (pour que les deux phases soient séparées), le surnageant résultant est transféré dans un autre tube en évitant de décoller le culot. Deux volumes d'éthanol absolu froid de celui du surnageant sont ajoutés dans le tube.

On remarque que dès l'ajout de l'éthanol, la solution devient blanchâtre et l'ADN commence à se précipiter (l'éthanol condense l'ADN). Après une agitation douce, l'ADN se précipite sous forme de filaments qui se compactent rapidement en une masse blanchâtre visible à l'œil nu appelée méduse qui sera ensuite récupérée dans un tube eppendorf stérile, puis lavée à l'éthanol froid à 70% et à 100% et séchée. La dissolution de la méduse se fait dans 200 à 500 µl de tampon TE 10/1 (Tris/HCl : 10mM ; EDTA : 1mM ; pH=8.0) selon la taille de la méduse et à une agitation douce à température ambiante pendant au moins 24h pour avoir enfin un ADN complètement dissout prêt à être utilisé (dosage, PCR...).

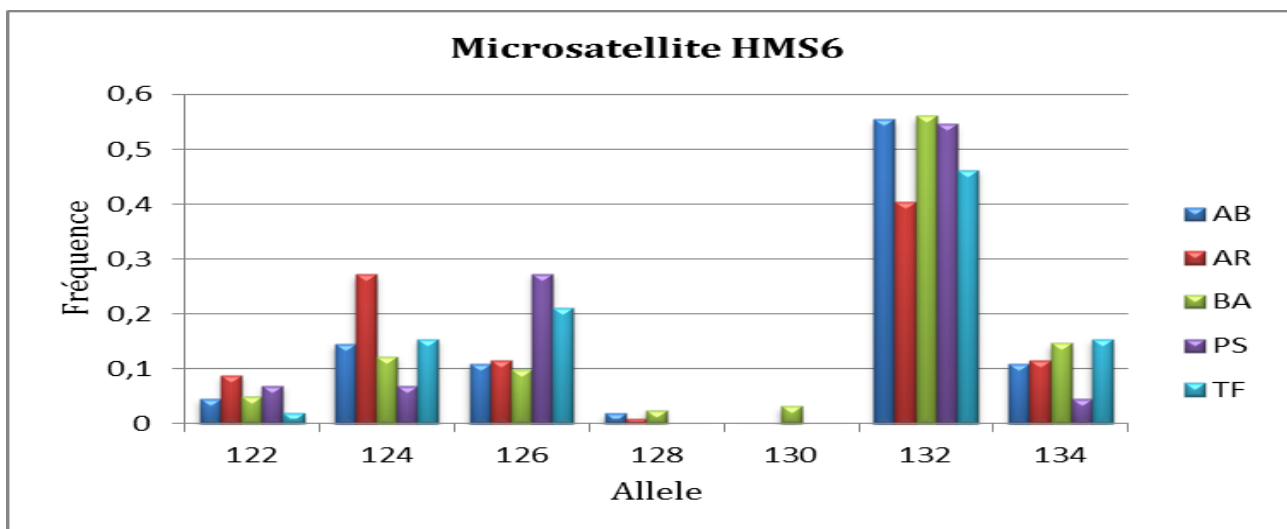
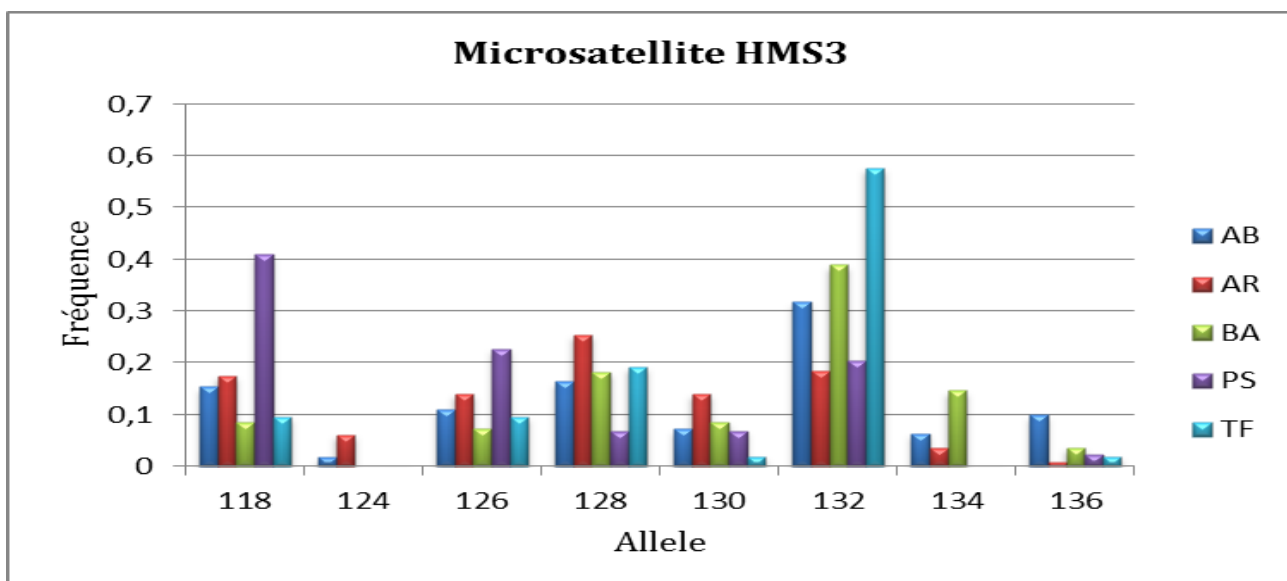
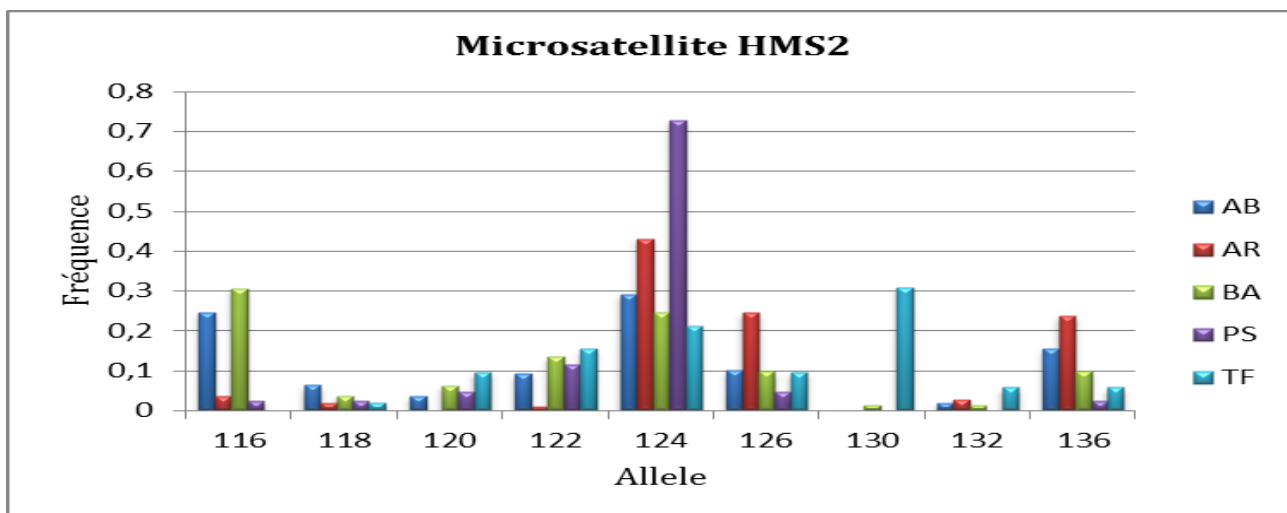
### Annexe 3

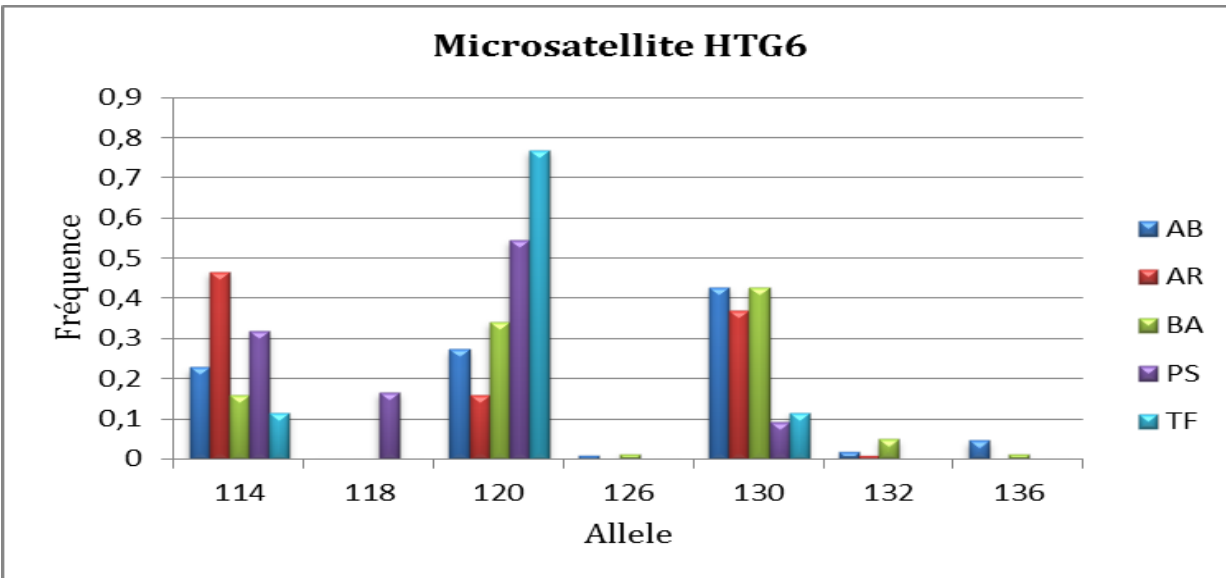
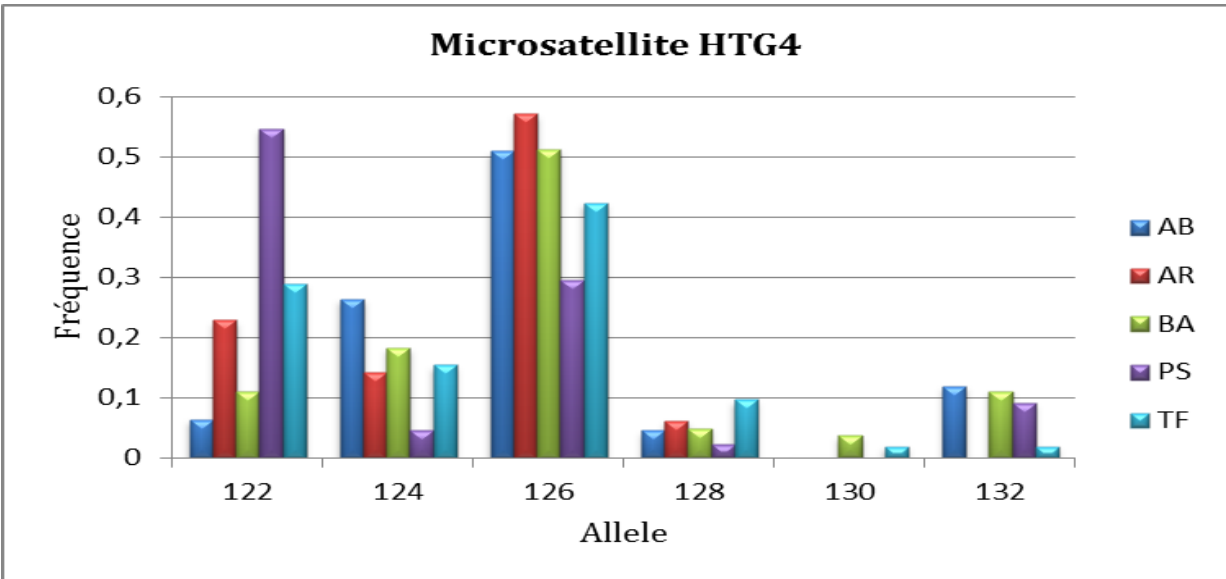
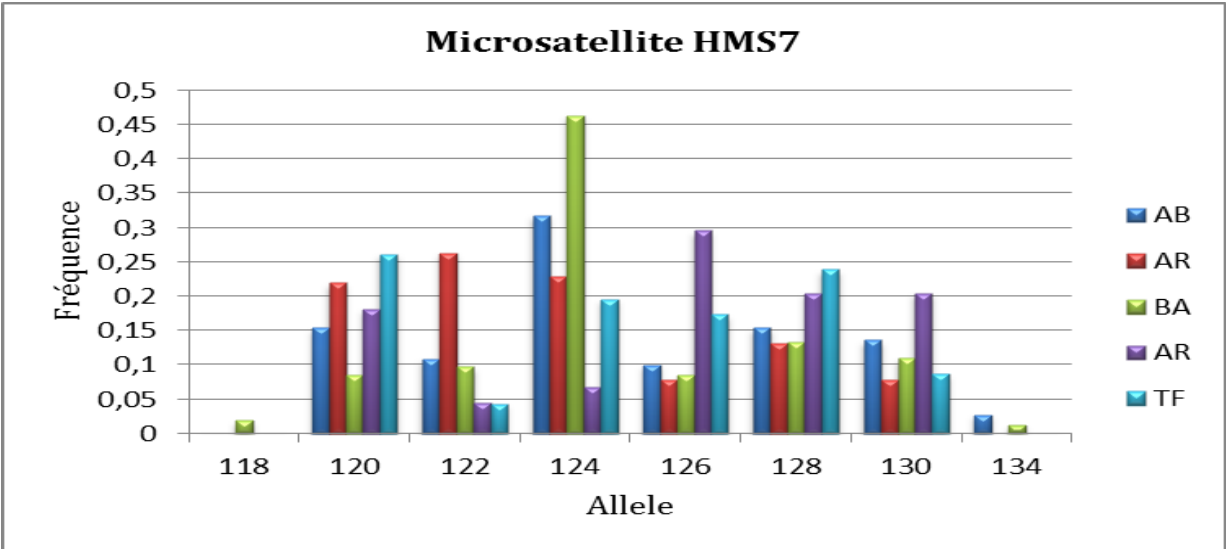
#### Distribution des fréquences alléliques par population et par locus.

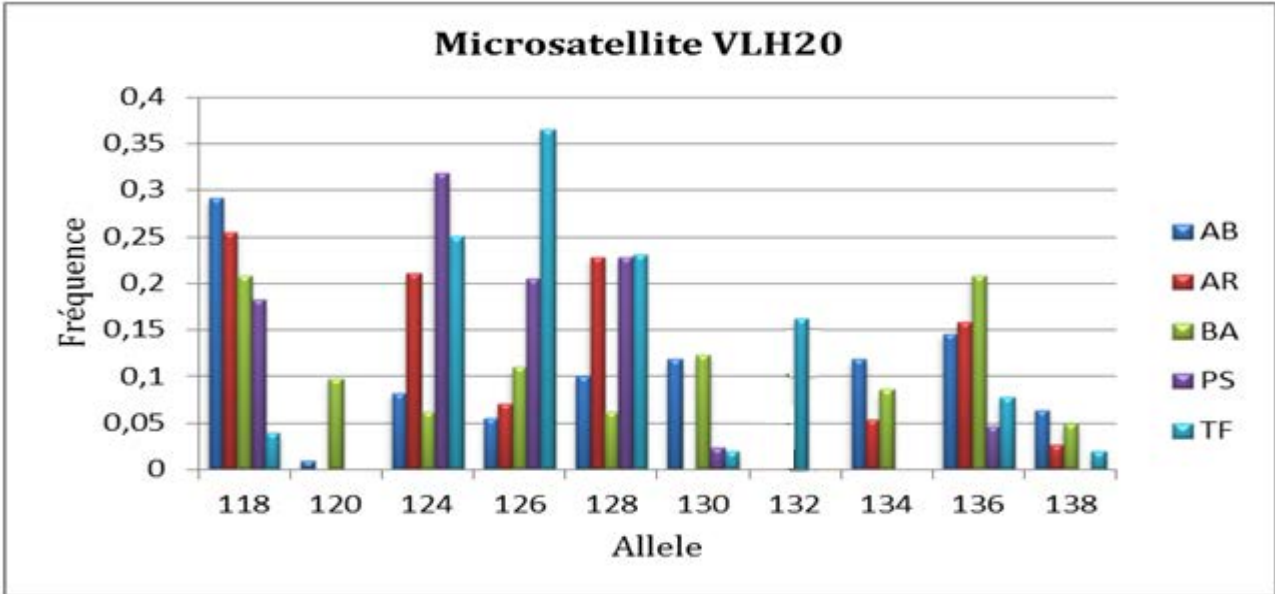
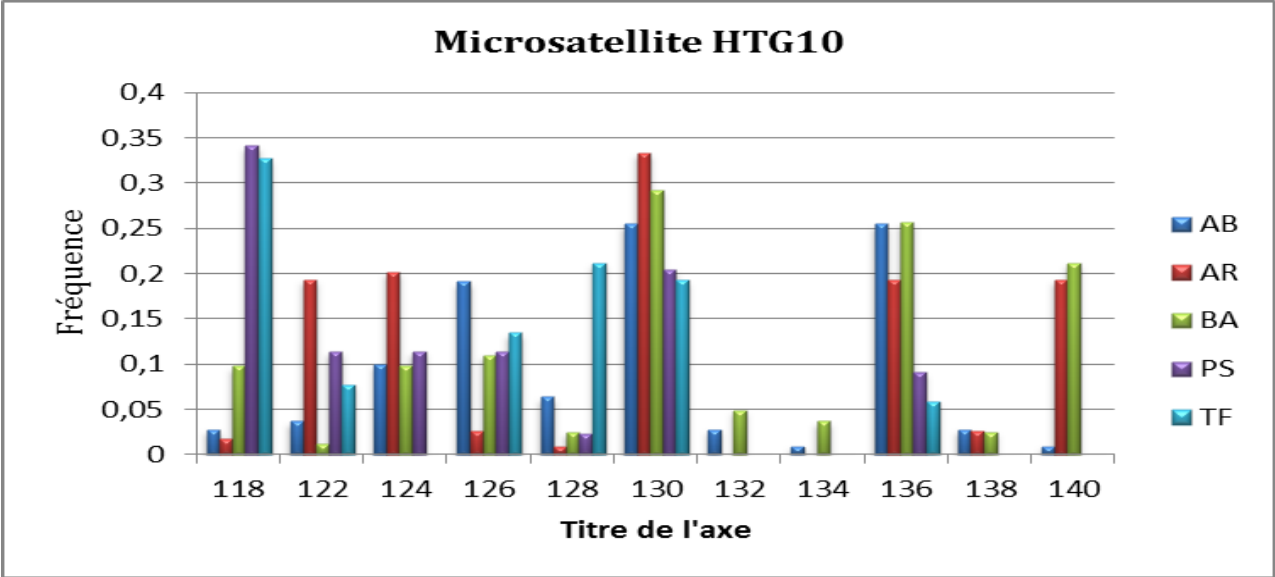












# *Références Bibliographiques*

---

- Ajmone-Marsan P., Valentini A., Cassandro M., Vecchiotti-Antaldi G., Bertoni G., et Kuiper M.T.R. (1997) AFLP markers for DNA fingerprinting in cattle. *Animal Genetics*. 28, 418-426.
- Alimen H. (1955) Le cheval in : Préhistoire de l'Afrique. *Edition Bondé et Cie*, Paris. 35-40.
- Association Belge du Cheval Barbe. (2003) Règlement technique et d'ordre intérieur du stud-book cheval barbe et arabe-barbe. *Caracole Lausanne*. 3, 63 -82.
- Baumung R., Simianer H. et Hoffmann I. (2004) Genetic diversity studies in farm animals a survey. *J Anim Breed Genet*. 121, 361-373.
- Beckman J.S., Weber J.L. (1992) Survey of human and rat microsatellites. *Genomics*, 12, 627-631.
- Behl R., Behl J., Gupta N., Gupta S.C. (2007) Genetic relationships of five Indian horse breeds using microsatellite markers. *Animal*. 1, 483-488.
- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N., Bonhomme F. (2002) GENETIX 4.04, Logiciel sous Windows TM pour la Genetique des Populations. Montpellier (France): Laboratoire Genome, Populations, Interactions, *CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II*.
- Bennett L.B., Shriver M.D., Bowcock A.M. (1997) Markers and Methods for Reconstructing Modern Human History. *DNA Seq*. 8, 329-341.
- Berber N., Gaouar S., Leroy G., Kdidi S., Tabet Aouel N. and Saïdi Mehtar N. (2014) Molecular characterization and differentiation of five horse breeds raised in Algeria using polymorphic microsatellite markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 131, 387-394.
- Bjørnstad G., Gunby E., Røed K.H. (2000) Genetic structure of Norwegian horse breeds. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 117, 307-317.
- Black W. (1993) PCR with arbitrary primers: approach with care. *Insect Molecular Biology*, 2, 1-6.
- Boichard D., Le Roy P., Levéziel H. et Elsen J.M. (1998) Utilisation des marqueurs moléculaires en génétique animale. *INRA Prod. Anim*. 11, 67-80.
- Bostein D., White R.L., Skolnick M. et Davis R. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*. 32, 314-331.

- Bowling A. T., Del Valle A., Bowling M.** (2000) A pedigree- based study of mitochondrial D-loop DNA sequence variation among Arabian horses. *Anim. Genet.* 31, 1-7.
- Bruford M.W., Wayne R. K.** (1993) Microsatellites and their application to population genetic studies current opinion in Genetics and Development. *Molecular Biology and Evolution.* 3, 939 -943.
- Campanes L.P.** (1983) Early horse domestication and the evolution of human-equine relationships, *Agricultural History Society.*14, 81-113.
- Camus-Kulandaivelu** (2007) Évolution génomique du maïs durant son adaptation aux conditions européennes. *Thèse de doctorat en génétique végétale. UMR 8120 (Gif-sur-Yvette, France).* 145-159.
- Canon J., Checa M.L., Carleos C., Vega-Pla J.L., Vallejo M., Dunner S.** (2000) The genetic structure of Spanish Celtic horse breeds inferred from microsatellite data. *Anim Genet,* 31, 39-48.
- Chabchoub A.** (1998) Le standard du cheval barbe tel qu'il est défini par l'OMCB. *Al Baytari.* 24, 6-7.
- Chabchoub A., Landolsi F., Jary Y.** (2004) Étude des paramètres morphologiques de chevaux barbes de Tunisie. *Rev Méd Vét.* 155, 31-37.
- Chaid-Saoudi Y.** (1988) La préhistoire du cheval en Afrique du Nord. *Maghreb vétérinaire.* 3,14, 7.
- Chambers G. K. et Mac Avoy E. S.** (2000) Micro satellites, consensus and controversy. *Comparative Biochemistry and Physiology.* *Anim. Genet.*126, 455-476.
- Cooper D. N., Krawczak M. et Antonorakis S. E.** (1995) The nature and mechanisms of human gene mutation, metabolic and molecular bases of inherited disease, 7th ed. *McGraw-Hill, New-York,* 259-261.
- Cribiu J.M., Senius C., Cristian L.C., Ono S.** (1998) Chromosomes of the horse, the donkey and the mule. *Chromosoma.* 13, 243-248.
- Crow J.F., Kimura M.** (1970) An Introduction to Population Genetics Theory. *Harper & Row, New York.* 1160-1164.
- Délacrétaiz-Wolff A.S.** (1997) Étude génétique et sérologique des systèmes de groupes sanguins du mouton. *Thèse de Doctorat, L'Ecole Polytechnique Fédérale de Zurich.*

- Earl D.A., Von Holdt B.M.** (2011) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*. 4, 359–361.
- Eisemann K.L.** (1980) Domestication Features in Animals as Functions of Human Society. *Agricultural History Society*. 29, 137–146.
- EL-Kohen M.** (2006) Le cheval barbe : présentation. *Rev Organism Mond Cheval Barbe*. 3, 7–8.
- El Mousadik A., Petit R.J.** (1996) High level of genetic differentiation for allelic richness among populations argan tree [*Argania spinosa* (L. Skeels)] endemic to Morocco. *Theor.Appl. Genet.* 92, 832–836.
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J.** (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: a simulation study. *Molecular Ecology*. 14, 2611–2620.
- FAO.** (1984) Animal genetic resource conservation by management, databanks and training. *Animal Production and Health Paper*, No. 44/1.
- FAO.**(1992) The management of global animal genetic resources. Proceedings of an Expert Consultation, Rome, Italie. *Animal Production and Health*, No.104.
- FAO.** (2008) L'état des ressources zoogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture dans le monde, édité par Barbara Rischkowsky et Dafydd Pilling. Rome. Page 3888.
- FAO.** (2011) Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. No.9. Rome (disponible à l'adresse Internet <http://www.fao.org/docrep/014/i2413e/i2413e00.htm>).
- FAO/PNUE.** (2000) Liste mondiale d'alerte pour la diversité des animaux domestique, 3ème édition édité par B.D. Scherf. Rome.
- Felsenstein J.** (1989) PHYLIP—Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics*. 5, 164–166.
- Foulley J.L., Ollivier L.** (2006) Estimating allelic richness and its diversity. *Livest. Sci.* 101, 150–158.
- Fornal A., Radko A., Kajtoch A.P.** (2013) Genetic polymorphism oh Hucul horse based on 17 microsatellite loci. *Acta Biochimika Polonica*. 60, 761–765.
- Frankham R.** (2005) Genetics and extinction. *Biological Conservation*. 126, 131–140.

- Genory J.** (1977) Le cheval rapport sur l'élevage équin. *Paris Presse Universitaire de France*. 34, 119-126.
- Goudet J.** (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (ver 2.9.3). *Université de Lausanne*. <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.
- Hamrick J.L., Murawski D.A., Nason J.D.** (1993) The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. *Plant Ecology* 108, 281-297.
- Hanset R.** (1975) Les paramètres génétiques des caractères d'engraissement et de carcasse chez le porc Piétrain. *Ann Génét Sél.* 4, 451-467.
- Hartl D.L.** (1988) Génétique des populations. *Médecine-Science Flammarion, Paris*, 305.
- Hill E. W., Bradley D. G., Al-Barody M., Ertugol O., Splan R.K., Zakharov I et Cunningham E. P.** (2002) History and integrity of thoroughbred dam lines revealed in equine mtDNA variation. *Anim. Genet.* 33, 287-294.
- Haupt M.S., Willis D.K.** (2001) Races et élevage du cheval. *France Agricole Éditions*. 2, 351.
- Joly D.** (2005) analyse de la diversité génomique des populations de *cronartiumribicola*, agent responsable de la rouille vésiculeuse du pin blanc. *Faculté des études supérieures, Université Laval*. 7, 298.
- Jussiau R. , Papet A. , Rigal J. , Zanchi E.** (2013) Amélioration génétique des animaux d'élevage. Educagri Editions, page 365.
- Kadri A.** (2006) Le cheval barbe, cheval du Nord de l'Afrique, son rôle en Algérie. *Rev Organis Mond. Cheval Barbe*.7, 9-45.
- Karp A., Seberg O., Buiatti M.** (1996) Molecular Techniques in the Assessment of Botanical Diversity. *Annals of Botany*. 78, 143-149.
- Kavar T., Brem G., Habe F., Sölkner J. et Dovc P.** (2002) History of Lipizzan horse maternal lines as revealed by mtDNA analysis. *Genet.* 34, 635-648.
- Khanshour A., Conant E., Juras R., Cothran E.G.** (2013) Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Arabian horse populations. *Journal of Heredity*. 3, 386-398.
- Kimura M.** (1983) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*. 16, 111-120.



- Klasset J.** (2006) Le lait de jument. *Revue de presse éditée par Lactarium Parallèle Vitale*. 2, 5 - 8.
- Klungland H., Vage D. I., Gomez-Raya L., Adalsteinsson S. et Lien S.** (1995) The role of melanocyte stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. *Mammalian Genome*. 6, 636-639.
- Kusza S., Priskin K., Ivankovic A., Jedrzejewska B., Podgorski T., Javor A., Mihók S.** (2013) Genetic characterization and population bottleneck in the Hucul horse based on microsatellite and mitochondrial data. *Biological Journal of the Linnean Society*, 109, 54-65.
- Lagziel A., DeNise S., Hanotte O., Dhara S., Glazko V., Broadhead A., Davoli R., Russo V. et Soller M.** (2000) Geographic and breed distribution of an Msp I PCR-RFLP in bovine growth. *Mammalian Genome*. 5, 536-539.
- Laliberte Y.H.** (1998) Caractérisation de la variabilité et des distances génétiques des bovins de race canadienne, Suisse-brune et Holstein à l'aide du polymorphisme des caséines et de marqueurs microsatellites. *Université de Sherbrooke, Québec, Canada*.
- Langella O.** (2002) Population genetic software, POPULATIONS  
1.2.30. <http://bioinformatics.org/~tryphon/populations>.
- Lee M. A., Keane O. M., Glass B. C., Manley T. R., Cullen N. G., Dodds K. G., McCulloch A. F., Morris C. A., Schreiber M., Warren J., Zadissa A., Wilson T. et Mcewan J.C.** (2006) establishment of a pipeline to analyse non-synonymous SNPs in *Bos Taurus*. *BMC Genomics*. 7, 298.
- Lehmann P., Stepan K.** (2000) Cheval dictionnaire historique du monde. *CRZ- 15RA*. 24, 109-116.
- Leroy G., Danchin Burge C., Meriaux J.C., Verrier E., Rognon X.** (2008) Diversité et relations génétiques entre les races de chevaux élevées en France, conséquences pratiques pour la gestion des races. In 35<sup>ème</sup> journées de la recherche équine, les Haras Nationaux. Le Pin-au-Haras. 141-160.
- Leroy G., Verrier E., Meriaux J.C., Ricard A., Danchin Burge C., Rognon X.** (2009) Genetic diversity of a large set of horse breeds raised in France assessed by microsatellite polymorphism. *Genetics Selection Evolution*. 41, 5.
- Levinson G. et Gutman G. A.** (1987) Evidence for two independent domestications of cattle. Proceedings. *Molecular Biology and Evolution*. 4, 203-221.

- Lippi A.S., Mortari N.** (2003) Studies of blood groups and protein polymorphisms in the Brazilian horse breeds Mangalarga Marchador and Mangalarga (Equuscaballus). *Genetics and Molecular Biology*. 26, 431- 434.
- Luis C., Juras R., Oom M.M., Cothran E.G.** (2007) Genetic diversity and relationships of Portuguese and other horse breeds based on protein and microsatellite loci variation. *Animal Genetics*. 38, 20-27.
- Maudet C.** (2001) Diversité et caractérisation génétique des races bovines et caprines originaires de la région Rhône-Alpes. *Thèse Doctorat. Biologie, Labo. Bio. De Grenoble*. 275-305.
- Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F.** (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 16, 1215.
- Nei M.** (1972) Genetic distance between populations. *American Naturalist*. 106, 283-292.
- Nei M.** (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89, 583-590.
- Nei M.** (1987) Molecular evolutionary genetics. *Colombia University Press, New York. USA*. 70, 3321-3323.
- Nei M., Roychoudhury A.K.** (1974) Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*. 76, 379-390.
- Nijman I.J., Otsen M., Verkaar E.L., Ruijter C., Hanekamp E.** (2003) Hybridization of banteng (*Bos javanicus*) and zebu (*Bos indicus*) revealed by mitochondrial DNA, satellite DNA, AFLP and microsatellites. *Heredity*. 90, 10-16.
- Ollivier L., Chevalet C. et Fouley J.L.** (2000) Utilisation des marqueurs pour la caractérisation des ressources génétiques. *INRA Prod. Anim.* 12, 247-252.
- Oosterhout C.V., Hutchinson W.F., Wills D.P.M., Shipley P.** (2004) MICROCHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*. 4, 535-538.
- Organisation Mondiale du Cheval Barbe.** (1989) Recueil de tous les textes officiels sur le cheval barbe. *Caracole Lausanne*, 165-189.
- Ouragh L., Meriaux J.C., Braun J.P.** (1994) Genetic blood markers in Arabian, Barb and Arab-Barb horses in Morocco. *Animal Genetics*. 25, 45-47.

- Paetkau D., Slade R., Burden M., Estoup A.** (2004) Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Mol Ecol.* 13, 55-65.
- Parker H.G., Kim L.V., Sutter N.B., Carlson S., Lorentzen T.D., Malek T.B., Johnson G.S., DeFrance H.B., Ostrander E.A., Kruglyak L.** (2004) Genetic structure of the purebred domestic dog. *Science.* 304, 1160-1164.
- Piry S., Alapetite A., Cornuet J. M., Paetkau D., Baudouin L., Estoup A.** (2004) GeneClass2 : A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection. *Journal of Heredity.* 95, 536-539.
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P.** (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 155, 945-959.
- R Development Core Team.** (2011) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Rahal K., Guedioura A., Oumouna M.** (2009) Paramètres morpho métriques du cheval barbe de Chaouchaoua. *Rev Méd Vét.* 160, 586-589.
- Rannala B., Mountain J.L.** (1997) Detecting immigration by using multilocus genotypes. *PNAS.* 94, 9197-9201.
- Raymond M., Rousset F.** (1995) GENEPOP (version 1.2). Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity.* 86, 248-249.
- Rege J.E.O.** (1992) Background to ILCA's animal genetic resources characterization project, objectives and agenda for the research planning workshop. Research planning workshop. *International Livestock Centre for Africa. Addis Ababa, Ethiopie,* 55-59.
- Reynolds J., Weir B., Cockerham C.** (1983) Estimation for the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics.* 105, 767-779.
- Rice W.R.** (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution.* 43, 223-225.
- Rognon X., Bowling A.T., Ricard A., Ouragh L.** (1999) phylogenetic relationships between French, Moroccan horse breeds. International Society for Animal Genetics "XXV international conference on animal genetics", Section B, 57.

- Rognon X., Verrier E.** (2007) Caractérisation et gestion des ressources génétiques. Les outils et méthodes de la génétique pour la caractérisation, le suivi et la gestion de la variabilité génétique des populations animales. *UMR INRA/AgroParisTech « Génétique et Diversité Animales », Rabat.*
- Rothfels K.M., Axelrad A.A., Chtiminovi L., Chmlcl E.A., Rapker R.C.** (1959) The origin of altered cell lines from mouse, monkey and man as indicated by chromosome and transplantation studies. *Can. Cancer Conf.* 3, 189-214.
- Roux I.** (1987) Le cheval barbe. Destrier de l'antique Libye et de la Conquête musulmane. Sa descendance et son expansion en Amérique, son harnachement. *Paris*, ISBN 173, 2-7.
- Saitou N., Nei M.** (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol.* 4, 406-425.
- Salwa S., Abdel L., Soheir W et al.** (2003) Efficacy of IgG, Fab, and F(ab')<sub>2</sub> fragments of horse antivenom in the treatment of local symptoms. *African Journal of Biotechnology.* 2, 189-193.
- She, J.X., Autem, M., Kotulas, N., Pasteur, N., and Bonhomme, F.** (1987) Multivariate analysis of genetic exchanges between *Soleaegyptiaca* and *Soleasenegalensis*. *Biological Journal of the Linnean Society.* 32, 357-371.
- Slatkin M.** (1985) Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics.* 16, 393-430.
- Slatkin M., Barton N. H.** (1989) A comparison of three indirect methods for estimating the average level of gene flow. *Evolution.* 43, 1349-1368.
- Sokal G.G., Michener C.D.** (1958) A statistical method for evaluating systematic relationships. *Kans. Univ Sci Bull.* 28, 1409-1438.
- Solis A., Jugo B.M., Mériaux J.C., Iriondo M., Mazon L.I., Aguirre A.I., Vicario A., Estomba A.** (2005) Genetic diversity within and among four south European native horse breeds based on microsatellite DNA analysis: implications for conservation. *J Hered.* 96, 670-678.
- Takezaki N., Nei M.** (1996) Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics.* 144, 389-399.
- Tamzali Y.** (1989) La situation du cheval barbe en Algérie. In : Recueil de tous les textes officiels sur le cheval barbe. *Organisation mondiale du Cheval Barbe. Caracole Lausanne*, 107-115.

- Thiongane A.I.** (1977) Fiches de recherches zootechniques pour origine et l'évolution d'espèce équin. *CRZ- 15RA*, 15, 15-19.
- Toro M.A., Caballero A.** (2004) Characterisation and conservation of genetic diversity between breeds. *55th EAAP Annual meeting*, Bled, Slovenia.
- Tozaki T., Takezaki N., Hasegawa T., Ishida N., Kurosawa M., Tomita M., Saitou N., and Mukoyama H.** (2003) Microsatellite Variation in Japanese and Asian Horses and Their Phylogenetic Relationship Using a European Horse Outgroup. *Journal of Heredity*, 94, 374-380.
- Verrier E., Moureaux S., Tribout T., Delaunay I., Palhière I., Rochambeau H., Colleau J.J.** (2005) Overview of the genetic variability in French selected livestock populations and management approaches. *Options and strategies for the conservation of farm animal genetic resources, Agropolis international workshop*, Montpellier.
- Vignal A., Milan D., SanCristobal M. et Eggen A.** (2002) A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*. 34, 275-305.
- Vignerot S.B.** (1968) Essai de mise au point sur la place du cheval dans l'Antiquité tardive. *Actes des Journées internationales d'étude*. 12, 15-23.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Van De Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. et Zabeau M.** (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23, 4407-4414.
- Wang R.L., Stec A., Hey J., Lukens L., Doebley J.** (1999) The limits of selection during maize domestication. *Nature*. 398, 236-239.
- Weir B.S. Cockerham C.C.** (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*. 38, 1358-1370.
- Williams J.G.K., Kublik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A. et Tingey S.V.** (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids research*.18, 6531-6535.
- Wright S.** (1931) Evolution in mendelian populations. *Genetics*. 16, 97-159.
- Wright S.** (1968) Evolution and the genetics of populations. *University of Chicago Press, Chicago*. 358-370.

- Wright S.** (1969) Evolution and the genetics of populations. *University of Chicago press, Chicago, USA.*
- Wright S.** (1978) Evolution and the Genetics of populations. Variability within and Among Natural Population. *University of Chicago Press.*
- Yang Y. H., Kim K.I., Cothran E.G et Flannery A. R.** (2002) Genetic diversity of Cheju Horses (*Equus caballus*) determined by using mitochondrial DNA D-loop polymorphism. *Biochem Genet.* 40, 175-186.
- Zabek T., Nogaj A., Radko A., Nogaj J., Slota E.** (2005) Genetic variation of Polish endangered Bilgoraj horses and two common horse breeds in microsatellite loci. *Journal of Applied Genetics.* 46, 299-305.

# *Résumé*

La filière équine occupe une place importante dans l'histoire et l'économie de l'Algérie. Afin d'apporter des outils efficaces à la gestion des races équines algériennes, nous avons réalisé une étude de caractérisation génétique par l'utilisation d'un panel de 14 marqueurs microsatellites. Cette étude préliminaire est la première du genre dans notre pays.

Les marqueurs microsatellites ont été utilisés pour génotyper 201 chevaux appartenant à cinq races (55 Arabe- Barbe, 57 Pur-sang Arabe, 41 Barbe, 22 Pur-sang Anglais et 26 Trotteur français). Les résultats obtenus ont montré que tous les marqueurs microsatellites utilisés étaient fortement polymorphes avec un nombre d'allèles par locus variant de 6 pour le marqueur *HTG4* à 14 pour le marqueur *ASB17*. Une forte diversité génétique a été observée avec des valeurs d'hétérozygoties variant de 0.71 chez le Pur-sang Anglais à 0.77 chez l'Arabe-Barbe. Nos résultats ont permis de bien distinguer les races autochtones Barbe et Arabe-Barbe, des autres races, et de montrer que l'Arabe-Barbe était génétiquement plus proche des Barbes que des Pur- sang Arabes. D'une façon concordante, les analyses de structuration (AFC, approche bayésienne de groupement) donnent des informations plus précises sur les relations entre les différentes races, et montrent une proximité génétique entre les deux races autochtones (Barbe et Arabe-Barbe).

En conclusion, les données et les informations apportées par cette étude, représentent une base de référence, afin de préserver la variabilité génétique de nos races équines et d'améliorer les méthodes de gestion de l'élevage équin en Algérie.

**Mots clés :** Algérie; races équines; marqueurs microsatellites ; variabilité génétique.