



UNIVERSITE de TLEMCEEN  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers  
Laboratoire physiologie, physiopathologie et biochimie de la nutrition (PpBioNut)

**Département : Biologie**

## **Thèse de Doctorat**

Présenté par

**BENHAMADI Mohammed El Amine**

En vue de l'obtention du

**Diplôme de Doctorat.**

Spécialité : **Génétique**

Intitulé **Génétique Appliquée**

**Thème**

# **Caractérisation et nouvelle identification de la race Barbe et Selle Algérien**

Soutenu le 27 /02/2021, devant le jury composé de :

<b>Qualité</b>	<b>Nom et prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Université</b>
<b>Présidente</b>	MERZOUK Hafida	Prof.	Abu-Bakr Belkaied. Tlemcen
<b>Encadreur :</b>	GAOUAR Sémir.Béchir.Suheil	Prof.	Abu-Bakr Belkaied. Tlemcen
<b>Examineur1 :</b>	TABET-AOUL Nacera	Prof.	USTOMB (Oran)
<b>Examineur2 :</b>	TEFIEL Hakim	MCA	Ahmed Ben Yahia El Wancharisi, Tissmsilt
<b>Examineur3:</b>	AMEUR AMEUR AbdelKader	MCA	Abu-Bakr Belkaied. Tlemcen

# *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 mon encadreur, le Professeur Gaouar Semir Bechir Suheil, qui m'a donné l'opportunité de me lancer dans cette aventure qu'est la recherche scientifique, et qui a toujours été de bon conseil pour me faire évoluer. Merci pour votre confiance et votre patience.

Je remercie le Professeur Gaouar Semir Bechir Suheil pour la confiance qu'il m'a témoigné en acceptant de diriger mon travail de doctorat, le soutien et les conseils qu'il m'a prodigués tout au long de ce parcours de recherche et pour tous les efforts qu'il a fait pour que je puisse réaliser mon travail. J'ai été particulièrement touché par la priorité qu'il n'a jamais cessé d'accorder à mes multiples sollicitations malgré ses nombreuses obligations. Vous m'avez conseillé et soutenu depuis mon inscription au niveau de la spécialité génétique appliquée. Travailler avec vous est une expérience passionnante.

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

Je remercie le Professeur MERZOUK Hafida, professeur dans le Département de Biologie à l'université Abu-Bakr Belkaied Tlemcen d'avoir accepté de présider ce jury.

C'est également avec plaisir que je remercie le Professeur TABET-AOUL Nacera de l'Université Oran 1 ; pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'examiner ce travail, pour sa disponibilité et sa gentillesse.

Un grand merci également à Mr. TEFIEL Hakim (MCA) d'Ahmed Ben Yahia El Wancharisi, Tissmsilt et Mr. AMEUR AMEUR AbdelKader (MCA) de l'université Abu-Bakr Belkaied. Tlemcen, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'examiner ce travail.

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 :

Pr. PIRO MOHAMMED, chef de laboratoire génétique vétérinaire à l'Institut Hassan II, Rabat, Maroc. Pour avoir accepté avec une grande amabilité de faire partie de projet de recherche. Soyez assurée de ma profonde reconnaissance et de ma considération respectueuse.

Dr BERBER Naima, maître assistante classe B à l'université de Saida, pour avoir accepté avec une grande amabilité de faire partie de projet de recherche. Soyez assurée de ma profonde reconnaissance et de ma considération respectueuse.

Bouziane Zhor (médecin vétérinaire de la jumenterie de Tiaret). Je vais vous dire merci beaucoup pour toutes les heures que vous m'avez consacré pour réussir mes échantillonnages et merci aussi pour les conseils qui vous m'avez donné et pour m'avoir très encouragée pour la réalisation de mon travaille

Dr.Djahdou Ahmed (Médecine vétérinaire) et Dr. Ibrahim Youcef (Médecine vétérinaire). Pour le temps qu'ils m'ont accordé à plusieurs reprises au cours de l'échantillonnage ainsi que pour l'intérêt qu'ils m'ont porté à mes travaux.

C'est également avec plaisir que je remercie Mme. AUMASSIP Ginette, Directrice de Recherches au CNRS (Alger), les contacts qu'elle a mis en œuvre pour me donner accès au travail sur le terrain. Je tiens à adresser un énorme merci à Messieurs AMEUR AMEUR Abdelkader, Chahbar Mohamed, Tefiel Hakim, Taibi Warda pour leurs nombreux conseils et leurs gentillesse pour l'aide qu'ils m'ont apporté lors des analyses statistiques. J'ai eu beaucoup de plaisir à travailler à leurs côtés.

Un grand merci à l'équipe du la jumenterie de Tiaret et les éleveurs de la région Aflou, Relizane et Tlemcen, ainsi qu'à 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 lesquelles 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 l'homme 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 frères pour m'avoir remonté le moral, pour leurs soutiens qui m'a été bien utile durant ces années de thèse.

Je remercie mes amis : Benalale Omar, Mezougi Mohammed, Tabet Aoul Mohammed, Tabet Aoul Hichem, Belarbi Hamza, Haddam Youcef Abedel Hadi, Djamilé Abed el Moudjibe, Belhassayne Yassine, Benhadoudi Amine, pour leurs aident et leurs soutiens durant la réalisation de ce travail.

Pour terminer, je remercie mes amis de la formation doctorale. Benyarou Mohammed, Labbaci Madani, Bouandasse Amer, Migili Imane et Kaouadji Z pour leurs aides et leurs soutiens durant la réalisation de ce travail. Bonne chance à vous aussi pour la soutenance de vos Thèses.

Merci et bon courage à tous mes amis d'étude de la spécialité Génétique Appliquée, je dis à vous tous pardon et bonne chance à vous.

Je remercie tous ceux qui par leurs encouragements, leurs aides, leurs conseils et/ou leurs critiques ont contribué à la réalisation de ce modeste travail.

**A toutes et tous, un grand merci !**

## *Résumé*

Les populations de chevaux algériens Barbe, Barbe origine inconnue, Arabe-Barbe, Arabe, Pur-sang Anglais, Le trotteur français, le Selle Algérien et le Selle, subissent une perte significative de variabilité génétique à cause des croisements non contrôlés. Cela devrait être évalué avant tout programme de conservation et de gestion des races. A cet effet, des analyses génétiques de la diversité et de la différenciation ont été effectuées sur huit populations de chevaux de races élevés en Algérie avec 17 microsatellites. Tous les marqueurs microsatellites étaient hautement polymorphes pour toutes les races. Un total de 170 allèles a été détecté chez les 279 chevaux étudiés. Le nombre moyen d'allèles par locus était le plus élevé chez la race Arabe-Barbe (7,88) et le plus faible chez la race Selle (4,94). L'hétérozygotie observée variait de 0,685 à 0,625 pour respectivement la race Barbe et la race Selle, tandis que l'hétérozygotie attendue variait de 0,746 à 0,678 pour la race Arabe-Barbe et la race Selle Algérien respectivement. La valeur  $H_o$  est inférieure à celle d' $H_e$  ce qui probablement dû au type de gestion de la race. La diversité génétique estimée via le  $F_{st}$  entre les races était significativement importante. Trois approches différentes pour évaluer les relations génétiques ont été appliquées ; à savoir, les distances génétiques, l'analyse factorielle des correspondances et l'analyse bayésienne ont montré qu'une quantité significative de variation génétique est maintenue dans les populations de chevaux indigènes et autochtones. Les races Selle Algérien et Selle semblent être les plus génétiquement liées et soutiennent le fait qu'il existe des croisements entre ces deux races.

**Mots clés :** Algérie, races de chevaux indigènes, microsatellites, structure génétique de la population.

## *Abstract*

The populations of Algerian horses Barbe, Barbe of unknown origin, Arab-Barbe, Arab, English Thoroughbred, French trotter, Algerian Selle and Selle, undergo a significant loss of genetic variability due to uncontrolled crossings. This should be evaluated before any breed conservation and management program. To this end, genetic analyzes of diversity and differentiation were carried out on eight populations of horses of breeds bred in Algeria with 17 microsatellites. All microsatellite markers were highly polymorphic for all races. A total of 170 alleles were detected in the 279 horses studied. The mean number of alleles per locus was highest in the Arab-Beard breed (7.88) and lowest in the Selle breed (4.94). The observed heterozygosity varied from 0.685 to 0.625 for the Beard race and the Selle race respectively, while the expected heterozygosity varied from 0.746 to 0.678 for the Arab-Beard race and the Algerian Selle race respectively. The  $H_o$  value is lower than  $H_e$ 's which is probably due to the type of management of the breed. The genetic diversity estimated via the  $F_{st}$  between breeds was significantly important. Three different approaches to assess genetic relationships have been applied; namely, genetic distances, factorial correspondence analysis and Bayesian analysis have shown that a significant amount of genetic variation is maintained in native and autochthonous horse populations. The Selle Algerian and Selle breeds appear to be the most genetically related and support the fact that there are crosses between these two breeds.

**Keywords:** Algeria, native horse breeds, microsatellites, genetic structure of the population.

## ملخص

السلالات من خيول البربرية الجزائرية و البربري غير معروف الأصل، عربي-بربري، عربي، الانجليزي؛ الخبب الفرنسي والسرج الجزائري والسرج يتعرض لخسارة كبيرة في التنوع الجيني. يجب تقييم ذلك قبل أي برنامج للحفاظ على السلالة وإدارتها. ولهذه الغاية، أجريت تحليلات وراثية للتنوع والتمايز على ثمانية سلالات من خيول تمت تربيتها في الجزائر باستخدام 17 واسمات من نوع (ميكروساتيليت).

كانت جميع واسمات من نوع (ميكروساتيليت) الدقيقة متعددة الأشكال للغاية في جميع الأجناس. تم اكتشاف ما مجموعه 170 ألياً من 17 موقعاً للوسمات من نوع (ميكروساتيليت) في 279 حصاناً. كان متوسط عدد الأليلات لكل موضع أعلى في خيول البربرية-العربية (7.88) وأدنى في سلالة السرج (4.94). تراوحت قيمة (Ho) من 0.685 إلى 0.625 للسلالة البربرية والسرج، بينما تراوحت قيمة (He) المتوقع من 0.746 إلى 0.678 العربي-بربري والسرج الجزائري.

على التوالي ، وكانت قيمة (Ho) أقل من قيمة (He). كان التنوع الجيني بين الأجناس كبيراً، بناءً على Fst . تم تطبيق ثلاث طرق مختلفة لتقييم العلاقات الجينية؛ أي، المسافات الوراثية ، تحليل التطابق العامل وتحليل المزيج أظهر أن قدرًا كبيراً من التباين الجيني يتم الحفاظ عليه في مجموعات الخيول المحلية والسلالات الأخرى: البربرية ، البربرية-العربية ، البربرية غير معروفة الأصل. السرج الجزائرية والسرج يبدو أن هذه السلالات هي الأكثر ارتباطاً وراثياً وتؤكد بأن هناك تهجيناً بين هاتين السلالتين.

.. **الكلمات المفتاحية:** الجزائر، التنوع الجيني ، سلالات الخيول المحلية ، الوسومات الدقيقة ، التركيب الوراثي للسلالات.

# Table des matières

<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>I</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>III</b>
<b>LISTE DES ANNEXES.....</b>	<b>V</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	<b>VI</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>1</b>
<b>REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>4</b>
<b>I. GENERALITES ET PRESENTATION DE L'ESPECE EQUINE.....</b>	<b>5</b>
1. TAXONOMIE .....	5
2. ORIGINE GENETIQUE ET HISTOIRE EVOLUTIVE DES CHEVAUX .....	5
2.1 <i>Domestication du cheval</i> .....	6
2.2 <i>Origine du cheval Barbe</i> .....	7
3. PHYSIOLOGIE DU CHEVAL BARBE .....	8
3.1 <i>Taille et poids</i> .....	8
3.2 <i>Morphologie du cheval Barbe</i> .....	8
3.3 <i>La température</i> .....	9
3.4 <i>La fréquence cardiaque</i> .....	9
3.5 <i>La fréquence respiratoire</i> .....	9
3.6 <i>Les urines</i> .....	10
3.7 <i>Sens du cheval</i> .....	10
3.8 <i>Alimentation:</i> .....	10
3.9 <i>Reproduction</i> .....	10
3.10 <i>Locomotion et allures</i> .....	11
4. THERAPIE EQUINE.....	13
5. CLASSIFICATION ET NOTION DE RACE .....	14
6. LE GENOME EQUIN .....	15
<b>II. LA FILIERE EQUINE EN ALGERIE ET SYSTEME D'ELEVAGE .....</b>	<b>17</b>
1. HISTORIQUE DU CHEVAL EN ALGERIE .....	17

2.	EFFECTIFS DE LA PRODUCTION EQUINE ET SON EVOLUTION EN ALGERIE .....	19
3.	REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE L'ELEVAGE EQUIN.....	19
4.	LES RACES EQUINES EN ALGERIE .....	20
4.1	<i>Races autochtones</i> .....	21
4.1.1	<i>Race Barbe</i> .....	21
4.1.2	<i>Race Arabe-Barbe</i> .....	22
4.1.3	<i>Race Selle Algérien</i> .....	23
4.2	<i>Races induites : (importées et élevées depuis plusieurs décennies en Algérie)</i> .....	23
4.2.1	<i>Race Pur-sang Arabe</i> .....	23
4.2.2	<i>Race Pur-sang Anglais</i> .....	25
4.2.3	<i>Race Trotteur Français</i> .....	26
5.	CARACTERISATION DES ELEVAGES DE CHEVAUX .....	26
6.	ORGANISATION DE LA FILIERE EQUINE .....	28
6.1	<i>Office National du Développement des Élevages Équins et camelins</i> .....	28
6.2	<i>Société des Courses Hippiques et du Pari Mutuel (SCHPMU)</i> .....	29
6.3	<i>Organisation Mondiale du Cheval Barbe (OMCB)</i> .....	29
6.4	<i>Fédération Équestre Algérienne (FEA)</i> .....	29
6.5	<i>Associations Nationales d'Éleveurs</i> .....	29
6.6	<i>Fédération Équestre Algérienne</i> .....	30
6.7	<i>Mouvement Associatif</i> .....	30
6.8	<i>Utilisations traditionnelles du cheval</i> .....	30
6.8.1	FANTASIA .....	30
6.8.2	TRAVAIL AGRICOLE .....	31
6.8.3	UTILISATIONS MODERNES DU CHEVAL .....	31
6.8.4	ATTELAGE .....	32
6.8.5	CONCOURS COMPLET .....	32
6.8.6	DRESSAGE.....	32
6.8.7	RAIDS D'ENDURANCE .....	33
6.8.8	SAUT D'OBSTACLES .....	34
6.8.9	COURSES HIPPIQUES .....	35
6.8.10	TOURISME EQUESTRE.....	35
<b>III.</b>	<b>BIODIVERSITE ET RESSOURCES ZOOGENETIQUE .....</b>	<b>36</b>
1.	IMPORTANCE DE LA BIODIVERSITE DES ANIMAUX D'ELEVAGE.....	36

2.	ORIGINE DE LA DIVERSITE GENETIQUE .....	37
2.1	<i>Polymorphisme génétique</i> .....	37
2.2	<i>Forces évolutives</i> .....	37
2.2.1	DERIVE GENETIQUE .....	38
2.2.2	Migration et mutation .....	39
2.2.3	MIGRATION.....	39
2.2.4	SELECTION NATURELLE .....	39
3.	METHODES DE CARACTERISATION DES ANIMAUX D'ELEVAGE .....	40
3.1	<i>Méthode morphobiométrique</i> .....	41
3.2	<i>Méthode immunogénétique ou biochimique</i> .....	41
3.2.1	<i>Marqueurs biochimiques</i> .....	41
a.	GROUPES SANGUINS.....	41
b.	PROTEINES .....	42
3.2.2	<i>Marqueurs moléculaires</i> .....	42
a.	INTRODUCTION .....	42
b.	CONCEPT DE MARQUEURS MOLECULAIRES .....	43
c.	MARQUEURS DE L'ADN MITOCHONDRIAL .....	43
d.	MARQUEURS RFLP .....	44
e.	MARQUEURS RAPD.....	44
f.	MARQUEURS AFLP .....	44
g.	Marqueurs minisatellites.....	45
h.	MARQUEURS MICROSATELLITES .....	45
i.	MARQUEURS SNP .....	48
j.	TECHNOLOGIE DES PUCES A ADN.....	49
4.	PROGRAMMES DE CONSERVATION DES RESSOURCES GENETIQUES ANIMALES.....	50
	<b>POPULATIONS D'ÉTUDE ET METHODES.....</b>	<b>52</b>
<b>I.</b>	<b>POPULATIONS D'ETUDE.....</b>	<b>53</b>
1.	CHOIX DES ANIMAUX .....	53
2.	Echantillonnage des populations d'études.....	53
	<b>II. METHODES D'ANALYSES GENETIQUES.....</b>	<b>55</b>
1.	Extraction d'ADN et dosage.....	55
2.	Contrôle de la qualité d'ADN et dilution.....	56
3.	GENOTYPAGE DES MARQUEURS MICROSATELLITES PAR SEQUENCEUR AUTOMATIQUE .....	59

3.1 Principes des techniques...	59
3.1.1 Amplification des marqueurs microsatellites...	59
a. Principe de la PCR classique .....	59
b. Électrophorèse capillaire .....	62
3.2. Protocole expérimental .....	62
3.2.1. Choix des marqueurs et préparation des amorces...	62
3.2.2 Amplification in vitro de l'ADN par PCR .....	65
3.2.3 Dépôt sur le séquenceur .....	66
3.2.4 Génotypage des microsatellites .....	66
<b>III. METHODES D'ANALYSES STATISTIQUES .....</b>	<b>66</b>
1. Logiciels utilisés .....	66
2. Principes des analyses faites en génétique des populations	
2. ANALYSE STATISTIQUES DES DONNEES .....	68
2.1 Équilibre de Hardy Weinberg .....	69
2.2 Test de conformité à l'équilibre de Hardy-Weinberg...	69
2.3 Fiabilité des loci microsatellites .....	70
2.3.1 Détection des allèles nuls .....	70
2.3.2 Taux de polymorphisme (PIC) .....	70
2.3.3 Déséquilibre d'association .....	71
2.4 Analyse de la diversité intra-population .....	71
2.4.1 Richesse allélique .....	71
2.4.2 Fréquences alléliques .....	71
2.4.3 Taux d'hétérozygotie .....	72
2.4.4 Nombre efficace d'allèles .....	73
2.5 Analyse de la diversité inter-populations .....	74
2.5.1 Analyse de différenciation des populations .....	74
a. Nei statistiques (1973) .....	74
b. F statistiques de Wright .....	75
2.5.2 Flux des gènes .....	77
2.5.3 Distances utilisées .....	78
a. Distance standard de Nei (1972) .....	78
b. Distance de Reynolds (1983) .....	78
c. Corrélation entre matrices de distances génétiques .....	79
2.5.4 Méthodes de construction des dendrogrammes .....	79

a. Méthode “UPGMA” .....	80
b. Méthode “Neighbor-Joining” .....	80
2.6 Analyse factorielle des correspondances (AFC) .....	81
2.7 Méthodes de clustering .....	82
2.8 Méthodes d’affectation des individus à une population .....	82
<b>RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>84</b>
<b>I. RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>85</b>
<b>I. RESULTATS D’ANALYSES GENETIQUES .....</b>	<b>85</b>
1. Qualité des ADN extraits.....	85
2. Résultat du génotypage des microsatellites.....	85
3. Erreur de génotypages des microsatellites .....	86
4. Analyse de la diversité génétique .....	87
4.1 Équilibre de Hardy Weinberg .....	87
4.1.1 Test d'excès d'hétérozygoties.....	88
4.1.2 Test de déficit en hétérozygoties.....	88
4.2 Fiabilité des loci microsatellites .....	90
4.2.1 Détection des allèles nuls.....	90
4.2.2 Déséquilibre de liaison .....	90
4.2.3 Polymorphisme des marqueurs microsatellites .....	91
4.3 Diversité intra populationnelle .....	96
4.3.1 Diversité allélique .....	96
4.3.2 Nombre allélique.....	96
4.3.3 Richesse allélique (Ra) .....	96
4.3.4 Nombre efficace d'allèles (Ae).....	97
4.3.5 Allèles privés .....	97
4.3.6 L’hétérozygotie observée et attendue.....	98
4.4 Diversité inter populationnelle .....	100
4.4.1 Paramètres de différenciation des populations.....	100
a. Indice de fixation FIS .....	100
b. Indice de différenciation FST.....	101
c. Indice FIT .....	102
d. Flux des gènes.....	103

4.4.2 Distances génétiques et établissement des relations phylogéniques .....	103
a. Distances génétiques et corrélation .....	103
b. Arbres phylogénétiques (dendrogramme) .....	104
4.4.3 Résultat d'analyse factorielle des correspondances (AFC) .....	106
4.4.4 Assignation des individus à des populations génétiques et clustering .....	107
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>110</b>
<b>ARTICLE SIENTIFIQUE .....</b>	<b>115</b>
<b>ANNEXE.....</b>	<b>133</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>146</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : La morphologie du cheval.....	09
<b>Figure 2</b> : Les différentes allures naturelles du cheval .....	13
<b>Figure 3</b> : Caryotype d'un étalon obtenu par la méthode des banding G .....	17
<b>Figure 4</b> : Restes osseux de l'espèce <i>Equus algericus</i> situés au Sud Est de Tiaret et à Hydra .....	18
<b>Figure 5</b> : <i>Equus africanus</i> , lac Karâr, Algérie, (Pléistocène moyen, Tlemcen, Algérie).....	18
<b>Figure 6</b> : Schéma d'évolution de l'élevage équin en Algérie .....	19
<b>Figure 7</b> : Aire de répartition de l'élevage équin dans le territoire Algérien .....	20
<b>Figure 8</b> : Rohil étalon barbe du Haras National Chaouchaoua fils du grand Bourbaki champion du monde 1986 à Paris père des étalons en Europe Ghafel, Lasnami et joudrane .....	21
<b>Figure 9</b> : Hided étalon arabe Barbe du Haras National Chaouchaoua .....	22
<b>Figure 10</b> : Etalon Arabe.....	23
<b>Figure 11</b> : Cheval Pur-sang Anglais.....	25
<b>Figure 12</b> : Cheval Trotteur Français.....	26
<b>Figure 13</b> : Pourcentage de nombre de juments saillies par élevage .....	27
<b>Figure 14</b> : Les différents types des éleveurs équins en Algérie .....	28
<b>Figure 15</b> : Spectacle équestre traditionnel de Fantasia.....	31
<b>Figure 16</b> : courses d'endurance en 2018. ....	34
<b>Figure 17</b> : la compétition nationale de saut d'obstacles en 2019.....	35
<b>Figure 18</b> : Phénomène de dérive génétique affecte les petites populations.....	38
<b>Figure 19</b> : Séquence contenant une répétition GTn .....	46
<b>Figure 20</b> : Modèle de "slippage réplication" permettant d'expliquer l'augmentation ou la diminution du nombre de répétitions dans un microsatellite .....	47

<b>Figure 21</b> : Informations nécessaires pour l'établissement des stratégies de gestion .....	51
<b>Figure 22</b> : Carte des sites d'échantillonnage en Algérie pour les huit races équines étudiées .....	54
<b>Figure 23</b> : Appareil fluorimétrique (Qubit 3 metic) .....	56
<b>Figure 24</b> : NanoDrop2000c Thermo Scientific .....	58
<b>Figure 25</b> : Schéma du principe de la PCR .....	60
<b>Figure 26</b> : Exemple d'un résultat d'une PCR multiplex .....	61
<b>Figure 27</b> : Le séquenceur automatique HTDS 3500 (Applied Biosystems /Hitachi) .....	62
<b>Figure 28</b> : Exemple d'un électrophorégramme obtenu pour 17 microsatellites marqués par les fluorophores (6-Fam, Vic, Ned et Pet).....	86
<b>Figure 29</b> : Exemple des profils tri ou tétra-alléliques pour certains microsatellites .....	87
<b>Figures 30</b> : Nombre d'allèles mis en évidence pour chaque marqueur microsatellite dans les cinq populations étudiées.....	92
<b>Figure 31</b> : Arbre Neighbour-Joining basé sur la distance de Reynolds pour les huit races équines étudiées.....	105
<b>Figure 32</b> : Pourcentages de la variabilité moléculaire chez la population équine algérienne .....	105
<b>Figure 33</b> : Représentation par AFC dans l'espace de 3 -dimensions des échantillons des 8 races équines étudiées.....	107
<b>Figure 34</b> : Détermination de la valeur de K la plus vraisemblable selon la méthode Evanno et al .....	108
<b>Figure 35</b> : Estimation de la structure de la population avec différentes valeurs de K (en supposant que K = 2 à 9) .....	109

## *Liste des tableaux*

N°	Titre	Page
<b>Tableau 1.</b>	Taxonomie de l'espèce équine	05
<b>Tableau 2.</b>	Origine et nombre des échantillons des races étudiées	55
<b>Tableau 3.</b>	Le système de dosage de Qubit	57
<b>Tableau 4.</b>	Noms des locus, emplacement des chromosomes, étiquette du colorant, et la gamme de tailles des produits amplifiés pour tous marqueurs utilisés dans le kit de géotypage 17-Plex Horse. ( <b>Applied Biosystems, Foster City, Calif, USA</b> )	64
<b>Tableau 5.</b>	Composants de réaction en chaîne par polymérase (PCR) et la quantité de réaction standard.	65
<b>Tableau 6.</b>	Logiciels utilisés Dans cette étude	66
<b>Tableau 7.</b>	Microsatellites en déséquilibre de Hardy-Weinberg ( $p < 0,00294$ ) pour les cinq populations étudiées. Les couleurs servent à identifier les mêmes marqueurs dans différentes populations.	87
<b>Tableau 8.</b>	Valeurs des paramètres génétiques pour chaque locus choisi et chez toutes les races équines étudiées.	95
<b>Tableau 9.</b>	Mesure de la diversité génétique de 8 races équines Algériennes	97
<b>Tableau 10.</b>	Les allèles privés ainsi que leurs fréquences pour les huit populations étudiées	98
<b>Tableau 11.</b>	Hétérozygoties attendues, observées et non biaisées avec erreur standard pour chaque race équine sur l'ensemble des 17 microsatellites étudiés.	99
<b>Tableau 12.</b>	Valeurs des FIS par locus et par population	100
<b>Tableau 13.</b>	Valeurs de $F_{ST}$ entre les paires de 8 populations.	102
<b>Tableau 14.</b>	Paramètres $F$ -statistiques selon la méthode de <b>Weir &amp; Cockerham (1984)</b>	102
<b>Tableau 15.</b>	Flux des gènes entre les paires des huit populations équines.	103

<b>Tableau 16.</b>	Distances génétiques entre les 8 populations équines étudiées distance de Reynold au-dessus de la diagonale et la distance standard de Nei ci-dessous en diagonale.	104
<b>Tableau 17.</b>	Afficher le nombre approprié de grappes en utilisant DK, par STRUCTURE HARVESTER ( <b>Earl et vonHoldt 2012</b> ).	107

## *Liste des annexes*

<b>Annexe 1.</b> Questionnaire d'échantillonnage.....	134
<b>Annexe 2.</b> Protocole d'extraction d'ADN à partir du sang total par la technique NaCl « Salting Out » .....	136
<b>Annexe 3 .</b> Les fréquences d'allèles nuls (p).....	138
<b>Annexe 4.</b> Déséquilibre d'association à l'échelle des 8 populations equines étudiées .....	138
<b>Annexe 05 .</b> Distribution des fréquences alléliques par population et par locus .....	140

## *Liste des abréviations*

**AB** : Arabe-Barbe

**ACP** : analyse des composants principaux

**ADN**: Acide DésoxyriboNucléotide

**ADNmt**: ADN mitochondrial

**AFLP**: Amplified Fragment Length Polymorphism

**AR** : Richesse Allélique

**AR**: Pur-sang Arabe

**ARNm**: ARN messenger

**Bar** : Barbe

**Bar OI**: Barbe Origine Inconnue

**BA**: Barbe BET: Bromure d'Éthidium

**CAH**: classification hiérarchique ascendante

**CAH**: classification hiérarchique ascendante

**CCE**: Concours Complet d'Equitation

**CSO** : Concours de Saut d'Obstacles

**D-loop** : Displacement loop

**DNA RFLP** : Restriction fragment length polymorphism

**dNTP** : DésoxyNucléotides TriPhosphates

**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

**FEA** : Fédération Équestre Algérienne

**FEI** : Fédération Équestre Internationale

**Gb**: Giga bases HWE: Hardy-Weinberg Equilibrium

**IgG** : immunoglobulines de type G

**INRA**: Institut National de la Recherche Agronomique

**ISAG**: International Society for Animal Genetics

**ITELV**: Instituts Techniques d'Élevage

**K**: cluster

**kb**: KiloBase

**Kg** : Kilogramme

**LD**: Linkage of Disequilibrium

**Mb**: Megabase

**MP** : Multiplexe

**MT**: Marqueur de Taille

**n**: Nombre

**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**: Polymérase Chain Réaction

**PMU** : Pari Mutuel Urbain

**PS** : Pur-sang Anglais

**PV** : Poids vif

**QTL** : quantitative trait loci

**QTN** : quantitative trait nucléotides

**RAPD**: Random Amplified Polymorphic

**RGA** : Ressources Génétiques Animales

**SAV** : Sérums Antivenimeux

**SCHPMU**: Société des Courses Hippiques et du Pari Mutuel

**SNP**: Single Nucleotide Polymorphism

**STR**: Short Tandem Repeats

**SE**: Selle

**SA**:Selle Algerien

**Taq**: Thermus Aquaticus

**TF**: Trotteur Français

**U**: Unité

**USNV**: Université des Sciences de la nature et l'environnement

**WAHO**: World Arabian Horse Organisation

# **Introduction Générale**

---

La biodiversité est indispensable au bien-être et à la santé des êtres humains: toutes les sociétés et cultures de notre planète dépendent de l'utilisation d'une nature diversifiée. Elle représente la richesse et la différence dans les génotypes, les espèces, les communautés, les écosystèmes et tous les aspects de la nature. En effet, Les ressources génétiques constituent une valeur économique, scientifique et sociale de la diversité génétique des espèces différentes, ces ressources sont renouvelables si elles sont exploitées correctement d'une méthode qui les conserve. 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 (**Benhamadi et al, 2016**).

Les ressources zoogénétiques en Algérie fournissent une grande variété de souches en termes de capacité d'adaptation et de production dans leur habitat naturel. Les chevaux ne font pas exception à cette observation. En tant que tels, ils constituent une richesse diversifiée, d'une grande importance économique et socioculturelle. L'industrie équine occupe une place particulière dans l'histoire et l'économie nord-africaines. En Algérie, le cheval est un véritable acteur du développement durable, notamment dans le domaine environnemental, et il joue un rôle particulier dans la gestion des espaces et des paysages bénéfiques pour la conservation et le développement de la biodiversité, mais aussi dans ses relations avec l'homme en contribuant aux activités sportives, sociales et culturelles. Dans ce contexte, le développement de l'élevage de chevaux nécessite une rationalisation, et donc l'utilisation de techniques modernes de gestion des ressources génétiques des chevaux (**Berber et al, 2016, Benhamadi et al, 2018 ; 2019**).

Un effectif de 200.000 chevaux représente la population équine algérienne, elle est constituée à 90% de chevaux Barbe et Arabe Barbe (et Selle algérien). Les 10% restant se répartissent entre chevaux Arabe, Pur-sang Anglais et Trotteur Français (**Rahal et al, 2009 et Berber et al, 2016**).

La base de données DAD-IS répertorie en 2018 deux races de chevaux élevées en Algérie : l'Arabe-barbe et le Barbe (**DAD-IS consulté en octobre 2018**). Cependant l'Arabe (**Élise Rousseau, 2014**), le Pur-sang Anglais et le Trotteur Français font aussi l'objet d'élevage plus ou moins important (**Berber et al, 2016**). Les deux races Arabe-barbe et le Barbe proviennent des régions côtières de l'Afrique du Nord. Ils sont généralement utilisés dans la fantasia (exposition traditionnelle d'équitation au Maghreb lors de festivals culturels), ainsi que dans les sports équestres. Il y a environ 10 000 têtes appartenant à la race Barbe et 80 000 têtes Arabe-Barbe (**Kadri, 2006 ; Berber et al, 2016**).

En 1886, le premier stud-book algérien du cheval Barbe a été établi. Les tunisiens et les marocains ont suivi en 1896 et 1914 respectivement (**Kadri, 2006**). Mais également certains pays d'Europe amateurs de cette race : la France via l'Association Française du Cheval Barbe (AFCB), l'Allemagne, la Belgique et la Suisse (en 2004).

L'Arabe-Barbe est la race prédominante en Algérie. Cette race est la création de la poulinières de Tiaret en 1877, en croisant entre les chevaux de la race Barbe et les chevaux Arabes (**Rahal, 2005**). La race est élevée pour combiner la robustesse et l'endurance du Barbe, à l'élégance et à la vitesse de l'Arabe. En plus de ces deux races autochtones, une autre race commence à faire son apparition sur le terrain; la race Selle algérien, qui selon (**Ahmed Rayan, 2015**) est le produit d'un croisement entre la race Barbe algérienne et des chevaux lourd français. La race Arabe, le Pur-sang et le Trotteur français, principalement utilisés dans les sports équestres; épreuves de dressage et saut d'obstacles sont importées et se répartissent inégalement sur le territoire algérien et s'adaptent bien aux régions montagneuses et territoires arides du Nord de l'Afrique (**Rahal et al, 2009, Berber et al, 2016**).

Malheureusement, ces dernières années sur le terrain les éleveurs ont commencé à faire des croisements non contrôlés entre plusieurs races, ce qui a largement contribué à une pollution génétique conduisant à une ambiguïté d'identification sérieuse. Notre objectif via cette étude est la caractérisation génétique (de 8 races) en Algérie et d'identifier génétiquement le cheval Barbe (enregistré sur le stud-book et ceux d'origine inconnue) ainsi que le Selle algériens. Cette étude est très importante car elle permettrait non seulement d'apporter des éléments définissant d'une façon actualisée et concrète ces races mais aussi de mieux les gérer sur le plan génétique. La caractérisation génétique du cheval Barbe (enregistré et d'origine inconnue) ainsi que le Selle algérien a pour but aussi de construire une base de données spécifique de ces races. Cette étape est très importante pour l'amélioration et la préservation de notre patrimoine génétique équin qui est en train de subir les aléas néfastes de la consanguinité. En effet, inscrire des chevaux à titre initiale au niveau des stud-books existant a pour effet immédiat de rétablir la variabilité génétique est donc de rétablir les performances.

**Revue**  
**Bibliographique**

## I. Généralités et présentation de l'espèce équine

Le cheval vient du mot latin (*Equus caballus*) est un grand mammifère de l'ordre des ongulés et de la famille des équidés. Il est classé selon le tableau 1 .

### 1. Taxonomie

Classification du Cheval domestique :

**Tableau 1** : Taxonomie de l'espèce équine tirée du site : <http://animaux.org/cheval-domestique.htm>.

Règne	Animal
<b>Embranchement</b>	<i>Chordé vertébré</i>
<b>Classe</b>	<i>Mammifère placentaire</i>
<b>Ordre</b>	<i>Périssodactyle</i>
<b>Famille</b>	<i>Équidé</i>
<b>Genre</b>	<i>Equus</i>
<b>Espèce</b>	<i>caballus</i>

### 2. Origine génétique et histoire évolutive des chevaux :

Une étude génétique sur l'ADN mitochondrial (ADNmt) des équidés, effectuée sur des fossiles vieux de 53 000 ans jusqu'aux chevaux contemporains (**J. Weinstock et al, 2005**), classent tous les équidés en un seul clade (groupe descendant d'un ancêtre commun) et comportant trois espèces génétiquement divergentes : Hippidion, *Equus francisci* et le « cheval vrai ». Ce dernier se rencontre de l'Europe occidentale jusqu'à l'est du détroit de Béring, incluant les chevaux préhistoriques et le cheval de Przewalski, ainsi que l'ancêtre du cheval domestique, appartenant à une seule espèce holarctique (**J. Weinstock et al, 2005**). Une analyse plus détaillée des chevaux vrais les regroupe en deux clades majeurs. L'un de ces clades, qui semble limité à l'Amérique du Nord, est maintenant éteint. L'autre clade gagne un vaste territoire allant de l'Amérique du Nord à l'Europe centrale, au nord et au sud des calottes glaciaires du Pléistocène (**J. Weinstock et al, 2005**).

Les chevaux montrent peu de structure phylogéographique, ce qui reflète probablement leur degré élevé de mobilité et d'adaptabilité (**J. Weinstock et al, 2005**). Leur morphologie évolue pour s'adapter à leur environnement : ils gagnent ou perdent en taille selon que les conditions climatiques sont favorables ou défavorables, ont des sabots plus

étroits si le sol est dur, le museau court si le climat est froid, des os légers si le climat est sec, etc (**Vera Eisenmann ,1997**). Des conditions climatiques similaires tendent à donner des chevaux semblables (**Vera Eisenmann ,1997**).

### **2.1 Domestication du cheval :**

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

Jusqu'aux années 2000, l'étude de l'origine du cheval domestique a été étudiée par synapomorphie, en comparant des fossiles et squelettes. Les progrès de la génétique permettent désormais une autre approche, le nombre de gènes entre les différentes espèces d'équidés étant variable. La différenciation entre les espèces d'*Equus* laisse à penser que cette domestication est récente, et qu'elle concerne un nombre restreint d'étalons pour un grand nombre de juments, capturées à l'état sauvage afin de repeupler les élevages domestiques. Peu à peu, l'élevage sélectif entraîne une distinction des chevaux selon leur usage, la traction ou la selle, et un accroissement de la variété des robes du cheval domestique. La domestication modifie aussi le génome du cheval.

Longtemps, les chevaux domestiques sont supposés originaires d'un unique foyer de domestication (**Jean Guillaume, 2010**).

La Mongolie est citée au **xix<sup>e</sup>** siècle, en raison des traditions cavalières très anciennes des Mongols, et de la présence du cheval de Przewalski. L'Orient l'est également du fait que les plus anciennes domestications de chèvres et de moutons y sont attestées, et en raison des traditions cavalières arabes. Avec les découvertes sur les cultures indo-européennes, de nouvelles hypothèses s'orientent vers les Kourganes, qui emploient l'animal en 2500 av. J.-C (**Jean Guillaume, 2010**). Franz Hančar attribue au cheval domestique une origine européenne, en 1955.

Les multiples découvertes de nouveaux foyers de domestication, ainsi que les recherches génétiques de l'Université d'Exeter et de celle de Bristol, publiées sur Science et qui montrent la grande diversité génétique des chevaux actuels, suggèrent l'existence d'au moins trois foyers de domestication anciens (**Rose-Marie Arbogast , 2002**), de types ou de sous-espèces de chevaux différentes, ou les deux. La domestication s'est vite répandue, mais d'après Jared Diamond, aurait pu concerner une seule culture ayant transmis ses techniques et ses méthodes d'élevage aux autres (**Gallimard, 1997**). Une étude d'ADN publiée en 2012 suggère que la domestication

du cheval provient de la partie occidentale des steppes eurasiennes (Vera Warmuth *et al*, 2012). Sur une très longue période, les chevaux sauvages côtoient des animaux domestiqués. Les variations de l'ADN mitochondrial déterminent ce qu'on appelle l'haplogroupe, soit un groupe étroitement lié d'haplotypes qui partagent le même ancêtre commun. Chez les chevaux, sept haplogroupes principaux sont reconnus (AG), L'un de ces haplotypes (Lusitanien groupe C) est exclusif à la péninsule Ibérique, conduisant à l'hypothèse que la péninsule ibérique ou l'Afrique du Nord ont connu une domestication du cheval indépendante (Jaime Lira *et al*, 2010).

## 2.2 Origine du cheval Barbe :

Il y a plusieurs théories sur l'origine de la race Barbe. L'une dit que ce cheval descendrait d'un groupe de chevaux sauvages qui ont survécus à l'ère glaciaire. Des docteurs en paléontologie animale soutiennent entre 1987 et 2002 qu'il est vraisemblablement un cheval propre au nord de l'Afrique, issu d'un cheval sauvage domestiqué qui y vivait depuis plusieurs dizaines de milliers d'années. Le cheval Barbe serait l'une des plus anciennes races au monde. Il était établi que le cheval était absent durant la préhistoire saharienne. Celui-ci n'aurait été introduit qu'au IIe millénaire av. J.-C. Des recherches menées en Algérie établissent que des ossements d'espèce chevaline sont trouvés dans des gisements datant de 4 000 ans et plus. En Afrique du Nord, le cheval fait partie intégrante de la vie de l'homme, dans toute son histoire. Des peintures rupestres représentant des chevaux ont été trouvées en Algérie. Le cheval Barbe est une race autochtone du Maghreb et de l'Afrique du Nord (Mauritanie, Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), d'après des études paléontologiques et des analyses d'ADN. Cette origine est renforcée par les gravures et peintures rupestres et par les monuments qui existent sur le sol de l'Afrique du Nord depuis la Libye jusqu'au Maroc. Ces inscriptions représentent la domestication d'un cheval ayant les caractéristiques morphologiques du cheval Barbe actuel. Le cheval Barbe est élevé depuis l'antiquité pour la chasse, la guerre, la parade et le travail. Il est le compagnon traditionnel des nomades et des éleveurs des Atlas et des Hauts Plateaux (Lætitia Bataille ,2008).

Les sources romaines attestent (sous le nom de cheval de Barbarie) de la présence de ces chevaux chez les « barbares » (Berbères). Ces animaux font l'objet d'un commerce dans tout l'Empire romain, et gagnent de nombreux pays de la Méditerranée comme l'Italie et la France. Monture des Numides, le Barbe est employé par les armées de Jules César déployées pendant la Guerre des Gaules. Aux VIIIe SIECLE et VIIIe siècle, de nombreux chevaux Barbés arrivent en Europe avec la colonisation

musulmane. Ces chevaux remontent les écuries royales des cours d'Europe depuis le XIV<sup>e</sup> siècle (**Lætitia Bataille, 2008**).

Le Barbe a influencé de nombreuses races dans le monde comme la Pure race espagnole et son voisin, le Lusitanien ainsi que le cheval Navarrin, le Criollo argentin et le Mustang, descendant de chevaux Barbes et ibériques retournés à l'état sauvage. Un étalon présumé Barbe, Godolphin Arabian, fait partie des trois étalons fondateurs de la race du pur-sang anglais. Erwin Rommel réquisitionne de nombreux chevaux Barbes pour la campagne de Russie (**Lætitia Bataille, 2008**).

### **3. Physiologie du cheval Barbe :**

1 an de la vie d'un cheval = 5 ans de la vie d'un homme, la durée de la vie d'un cheval est en moyenne de 25 ans.

#### **3.1 Taille et poids**

Le Barbe présente des variations de taille car il est plus grand et plus robuste à l'est qu'à l'ouest de l'Algérie. On distingue trois grands types chez la race :

- *Le Barbe des plaines littorales* : plus grand et mieux développé ;
- *Le Barbe des montagnes* : plus petit et plus sûr de pied ;
- *Le Barbe des Hauts-plateaux* (à la limite du Sahara) : réputé pour sa frugalité.

Le cheval Barbe est de taille moyenne, toisant couramment de 1,48 m à 1,58 m au garrot. Certains modèles très anciens avaient été sélectionnés comme chevaux de guerre et ont été élevés dans ce but. Ils toisaient de 1,55 m à 1,60 m comme les chevaux des spahis. Certains éleveurs en France tentent de retrouver ces caractéristiques et donnent par concours d'élevage le label *Royal Maure* à ces Barbes un peu plus grands. Ce cheval pèse entre 400 et 550 kg (**Lætitia Bataille, 2008**).

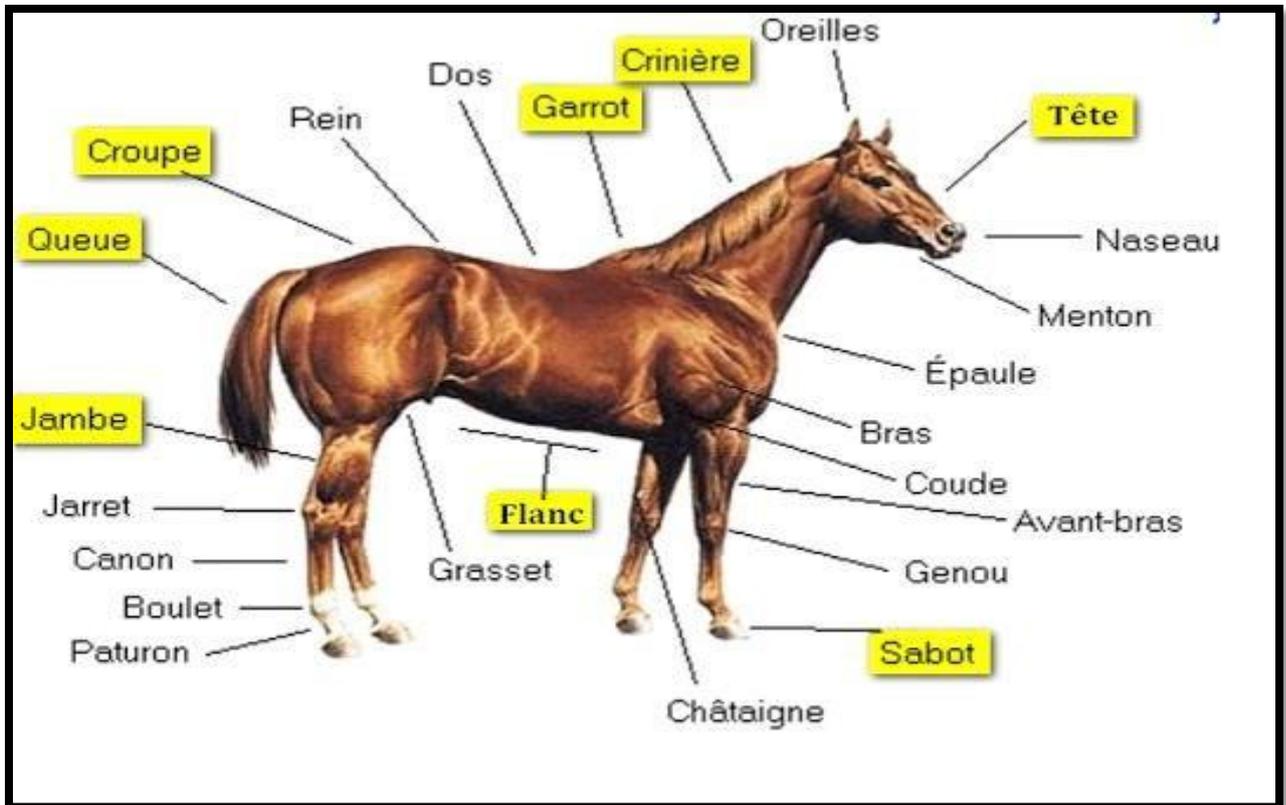
#### **3.2 Morphologie du cheval Barbe**

C'est un cheval assez court et fin, un peu anguleux et pouvant manquer d'élégance « Carré » et médioligne, sa longueur (scapulo ischiale) est égale à sa taille, l'indice corporel LT/TP est égal à 1 (cheval carré).

La tête possède un profil rectiligne ou subconvexe, parfois moutonné, avec un front souvent bombé. Elle est étroite, chargée en ganache et porte des naseaux effacés. Les arcades sont elles aussi effacées, l'œil en amande est peu ouvert. Les oreilles sont droites et plutôt courtes. L'encolure est courte, recherchée épaisse, bien greffée et rouée. Le garrot est bien sculpté, souvent noyé. L'épaule présente une inclinaison moyenne, elle est recherchée puissante et plate, bien inclinée. La poitrine est haute, recherchée large et profonde. Le dos est court, parfois tranchant, souvent droit et recherché solide. Le rein est court et puissant, parfois

légèrement voussé. La croupe est large et puissante, légèrement inclinée (dite « en pupitre »). (Lætitia Bataille, 2008).

Il possède des canons longs qui lui donnent beaucoup d'« air sous le ventre ». Les membres sont forts et le tour de canon doit être supérieur à 18 cm. Les pieds sont petits, ronds et durs, avec des talons plutôt hauts. La queue fournie est attachée bas, les crins sont abondants et épais, parfois longs (Lætitia Bataille, 2008).



**Figure 1 :** La morphologie du cheval. Tirée du site:

<http://horsepassionlife.blogspot.com/2010/10/parties-du-corp-dun-cheval.html>

### 3.3 La température

La température rectale normale d'un cheval s'échelonne entre 37,5°C pour un étalon, 37,8°C pour une jument et 38,5°C pour un poulain. Il peut y avoir des variations dites physiologiques (en général de +/- 0,5°C) en cas de stress, efforts...

### 3.4 La fréquence cardiaque

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...).

### 3.5 La fréquence respiratoire

Au repos, un cheval a une fréquence respiratoire moyenne de 8 à 14 mouvements respiratoires par minute. Là encore, il peut y avoir des variations.

### **3.6 Les urines**

Un cheval urine en moyenne 3 à 18 ml par kg de poids vif et par jour en 6 à 8 fois. Les variations sont influencées par le format de l'animal et par les conditions climatiques.

### **3.7 Sens du cheval :**

Le cheval dispose de cinq sens mais certains parlent même d'un sixième sens. Dans la nature, la survie du cheval dépend de ses sens. La vue et l'ouïe l'avertissent des dangers, le toucher et le goût lui permettent de distinguer les bons sens et les mauvais aliments. La domestication a atténué les réactions des chevaux à certaines perceptions : ils ne se sauvent pas, par exemple, chaque fois qu'ils voient une automobile, mais leurs sens ont gardé leur acuité d'origine. Quand un cheval réagit à quelque chose, que nous n'avons pas perçu, nous l'attribuons à son « sixième sens ». Il ne le fait qu'en exploitant simultanément des informations perçues par ses sens très aigües.

### **3.8 Alimentation:**

Les équidés peuvent consommer environ 2 à 2,5 % de leur poids en nourriture sèche chaque jour. Ainsi, un cheval adulte de 450 kg pourrait manger 11 kg de nourriture. Les poulains de moins de six mois consomment, eux, l'équivalent de 2 à 4 % de leur poids chaque jour (**Horse Nutrition - Feeding factors, 2013**).

Les aliments solides sont divisés en trois catégories : les fourrages (comme le foin et l'herbe), les concentrés, céréales ou granulés, et les suppléments, comme les granulés de vitamines et/ou de minéraux. Les nutritionnistes équins recommandent qu'au moins 50 % de la nourriture quotidienne de l'animal soient composés de fourrage. Si un cheval est au travail et demande alors davantage d'apports énergétiques, la quantité de céréales croît et celle du fourrage diminue de manière à adapter la nourriture du cheval au travail qu'il fournit. Cependant, la quantité de fourrage consommée par le cheval ne devrait pas se situer en dessous de l'équivalent de 1 % de son poids corporel par jour (**Hall, Marvin H. and Patricia M. Comerford, 1992**).

Les chevaux d'écurie mangent des céréales comme l'avoine, l'orge et parfois le maïs, des aliments composés industriels comme les granulés et des fourrages, c'est à dire du foin, de la luzerne ou de la paille. Les chevaux en pâturage se nourrissent d'herbe composée de 70 % de graminées, 20 % de légumineuses et 10 % de diverses plantes.

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.

### **3.9 Reproduction**

Le cheval est un ongulé de la famille des équidés et un herbivore monogastrique. C'est un animal aujourd'hui domestiqué et dont l'élevage est géré par l'homme. Pour pouvoir utiliser

Ce mammifère à la gestation très longue (11 mois) et pour pouvoir l'élever correctement, il a fallu connaître les bases de sa reproduction. Chez le cheval, l'instinct sexuel se manifeste dès l'âge de 1 an. La puberté est atteinte à 2 ans mais une jument ne peut porter correctement de poulains qu'à partir de 3 ans. La vie sexuelle des équidés est très longue et le cheval pourrait quasiment se reproduire toute l'année. Mais comme la plupart des mammifères non hominidés, la reproduction présente un aspect très particulier, comportemental et saisonnier. Le comportement sexuel est lié à une activité hormonale précise. Ce comportement s'exprime en liberté lorsqu'on assiste à une reproduction naturelle, ou bien est géré par l'homme pour une optimisation de l'efficacité. La domestication a entraîné beaucoup de changements dans la reproduction des équidés, et on peut distinguer aujourd'hui plusieurs types de monte dont certains peuvent être associés à la race. **(Pauline Agoutin, 2004).**

On peut donc distinguer 4 types de monte ou techniques de monte :

- **La reproduction en main :** C'est la technique la plus utilisée. Quand la jument est sur le point d'ovuler, on l'amène à l'étalon et on contrôle que l'accouplement a bien eu lieu.).
- **L'Insémination Artificielle (IA) :** (Cette technique permet aux éleveurs de disposer facilement d'un large choix de géniteurs mâles pour leurs poulinières).
- **La reproduction en liberté :** (Dans ce cas, on laisse l'étalon avec un troupeau de juments. La détection des chaleurs par l'étalon et les saillies sont répétées au cours d'une même chaleur. Cela en fait une méthode plutôt efficace.).
- **Les autres techniques de monte :** (La recherche équine a développée de nouvelles techniques. La plus répandue est la transplantation embryonnaire. Cette technique très coûteuse est pratiquée sous certaines conditions et dans certaines races pour les juments à très haut potentiel génétique.).

### **3.10 Locomotion et allures :**

Pour se déplacer, le cheval mobilise ses membres dans un certain ordre qui permet de caractériser les allures, c'est-à-dire les différentes façons de se déplacer. Les allures sont classées en trois catégories :

-**allures naturelles :** exécutées d'instinct par le cheval et dont font partie notamment le pas, le trot, le galop, l'amble, le reculer et le saut ;

-**allures artificielles :** Les allures artificielles sont des allures apprises au cheval par le biais du dressage. Elles sont en général très visuelles, très spectaculaires, et demandent un effort musculaire important de la part du cheval. Comme le passage, issu du trot, le pas d'école, le pas espagnol, Le piaffer, Le tölt, Le galop terre-à-terre, Les airs relevés.

**-allures défectueuses** : qui 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) et le galop à quatre temps, galop lent qui dissocie le bipède diagonal.

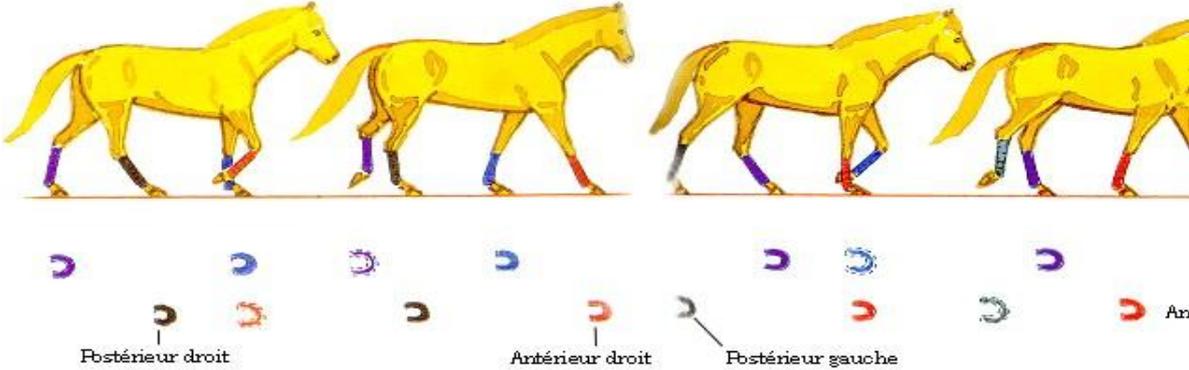
Outre les allures, il existe des mouvements naturels comme les mouvements de défense ou d'attaque : la ruade et le cabrer.

Les mouvements sur place sont des mouvements d'école comme le piaffer qui est un trot sur place, la courbette où le cheval se cabre et la croupade où le cheval rue.

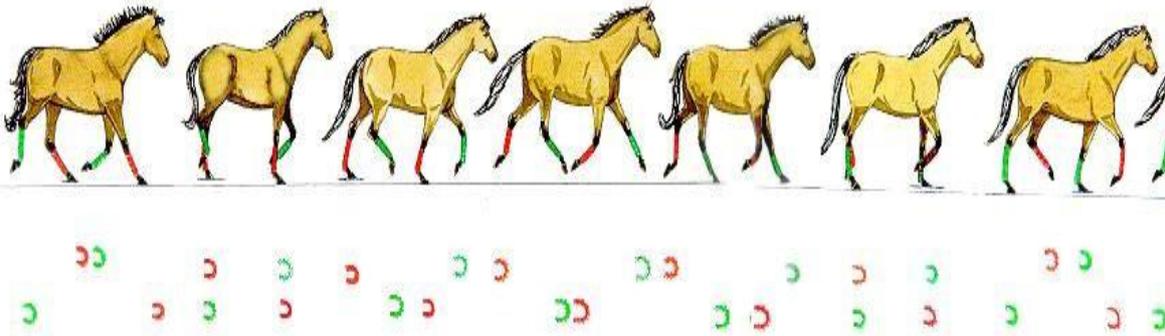
### Les irrégularités d'allure:

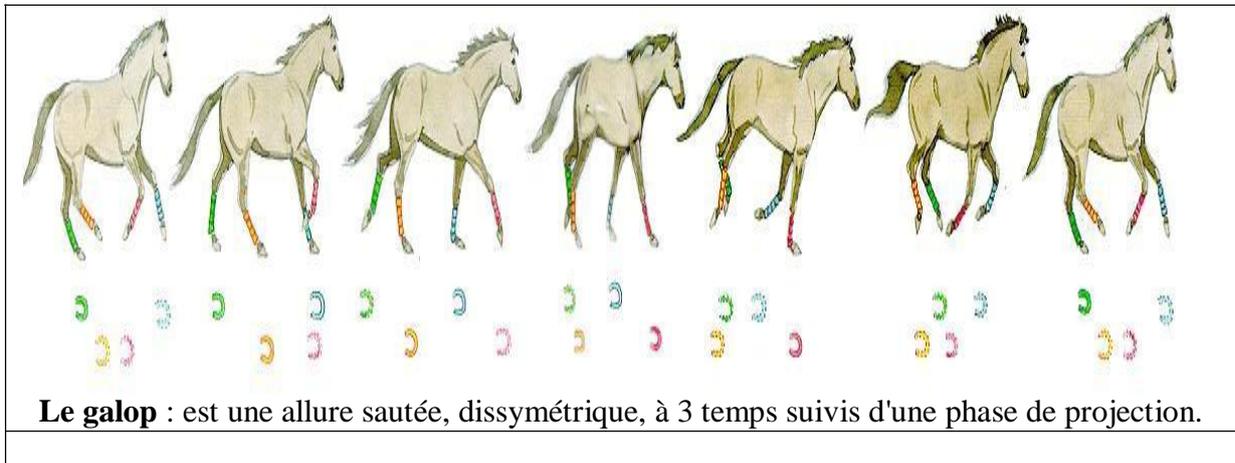
A la différence des allures défectueuses on constate parfois des irrégularités d'allure, c'est à dire des défauts qui ne modifient en rien l'allure en elle-même mais sont de légers défauts qui peuvent nuire à la performance du cheval dans l'allure.

**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.



**Le trot** : L'allure est sautée, en diagonale et en deux temps. Les membres diagonaux se déplacent de façon symétrique, assurant l'équilibre.





**Figure 2** : Les différentes allures naturelles du cheval .tirée du site :

<https://www.heppiue.fr/notions-sur-les-allures-du-cheval/>

#### 4. Thérapie équine :

Au cours des millénaires, le cheval joua de multiples rôles (économique, social). Cet animal connaît, depuis quelques décennies, dans certains pays, une importance comme animal de loisirs. Cette importance s'est accrue en raison de l'implication du cheval dans le domaine de la santé. En effet, nombreux de ses produits entrent dans la composition des médicaments utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Cette opportunité a été mise à profit par l'industrie bio-pharmaceutique permettant ainsi la valorisation des propriétés thérapeutiques qu'ont certains produits équins.

Cette utilisation des chevaux est mise à profit dans l'industrie bio pharmaceutique et les instituts de recherche, permettant ainsi la valorisation des propriétés thérapeutiques qu'ont certains produits équins. On peut citer l'utilisation de sérums d'origine équine, du lait de jument et d'hormones extraites d'urine de juments gestantes, dans la fabrication d'une grande variété de médicaments biologiques.

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,
- les sérums antidiphthériques (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 par 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. (Klasset, 2006). 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.

#### **5. Classification et notion de race :**

Aujourd'hui, les chevaux sont classés selon la race: Plusieurs hypothèses s'affrontent à propos de l'origine du cheval domestique et de ses multiples races. Au Pléistocène il y a 1 million d'années, sous l'influence de la sélection naturelle (adaptation à l'environnement) et de l'élevage sélectif par l'homme, 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). L'espèce du cheval s'est divisée en plusieurs centaines de races que l'on trouve réparties sur tous les continents, on pouvait différencier quatre grands types de chevaux sauvages (Helen Briggs, 2002).

- *Le Tarpan*, un petit animal robuste qui eut pour descendants les poneys celtes puis les Poneys gallois, Exmoors et Fells entre autres.
- *Le cheval norvégien*, un animal lourd des régions subalpines qui aurait eu pour descendants le poney Fjord et le Noriker.
- *Un cheval d'Asie centrale* qui aurait eu pour descendants le Sorraia, le Karabakh et les chevaux Turkmènes comme l'Akhal-Teke.
- *Un poney d'Asie occidentale* à la morphologie de cheval miniature, qui aurait donné le poney Caspien et le cheval Arabe.

Le classement de ces races est établi par la **Fédération équestre internationale** qui en distingue trois grands types : le cheval de selle destiné à être monté, le cheval de trait destiné à la traction, et le poney, défini comme un cheval de moins d'1,48 m de haut bien que des exceptions existent. Cette liste comprend également les termes utilisés pour décrire des « types » de chevaux qui ne sont pas considérés comme des races, bien que souvent confondus avec ces dernières. Une race est généralement définie comme une population viable d'animaux issus d'une même lignée, et caractérisés par des morphologies et des aptitudes similaires. Dans la plupart des cas, les races de chevaux sont enregistrées dans des registres d'élevage. Cependant, chez les chevaux, le concept de race est plus souple que pour la majorité des autres animaux domestiques, des livres généalogiques peuvent être créés pour des types de chevaux relativement nouveaux. Ces registres sont considérés comme l'autorité pour savoir si une race est considérée comme « cheval » ou « poney ». On distingue aussi un certain nombre de races de couleur, de races de sport, et de races d'allures.

Depuis les études génétiques, des groupes de races ont pu être définis en fonction de la distance génétique qui les sépare. Ainsi, il est fréquent de classer tous les chevaux de sport issus des demi-sang (dits « Warmblood »), très imprégnés de sang de Pur-sang, dans le même groupe (**Poncet, 2009**). Au classement établi par la Fédération équestre internationale, il convient aussi d'ajouter deux notions :

- Cheval à sang chaud désigne les animaux vifs et proches du sang (Pur-sang anglais et Pur-sang arabe). Ils sont généralement utilisés pour la compétition sportive.
- Cheval à sang froid pour les animaux calmes, plutôt destinés à la randonnée et aux loisirs.

La classification des races chevalines est sujette à débat car d'autres critères peuvent être pris en compte. Certains poneys comme le Shetland présentent les attributs du nanisme : une grosse tête, des membres courts et un gros tour de taille. D'autres ressemblent à des chevaux en miniatures, comme le Falabella. Certaines races de chevaux autochtones, comme le Mérens, le Fjord et le Haflinger, sont parfois classés comme cheval de selle et parfois classés poneys, voir comme cheval de trait. Le refus de la classification comme poney peut avoir des bases culturelles, c'est le cas chez les éleveurs de chevaux Camarguais et d'Islandais. La classification des chevaux en devient particulièrement problématique.

## **7. Le génome équin :**

Une meilleure connaissance des mécanismes de la génétique peut-elle aider les éleveurs à produire des chevaux de meilleure qualité ? La question mérite d'être posée, la réponse dépend du caractère concerné, en particulier de son héritabilité. Cette héritabilité chiffre

globalement les parts respectives des gènes et du milieu dans l'expression des performances. Pour la plupart des disciplines équestres.

**Rothfels *et al*, (1959)** ont établi le nombre de chromosome diploïde du cheval domestique ( $2n=64$ ) qui dans **la figure 3**.

L'aventure « génomique » commence chez le cheval il y a une 26 d'années (Octobre 1995) avec la mise au point des premières cartes génétiques équines par le First International Equine Gene Mapping Workshop (Premier Atelier International de Cartographie Génétique Equine), au sein du Horse Genome Project (H.G.P.) regroupant généticiens et cliniciens vétérinaires de 22 laboratoires répartis dans 12 pays.

Les cartes de première génération du génome équin, composées de 733 marqueurs polymorphes répartis aléatoirement, ont été bientôt accompagnées de cartes de deuxième génération, composées de 4104 marqueurs. Ces cartes offraient les ressources initiales nécessaires pour assembler toute la séquence génomique de notre animal préféré.

La première séquence génomique du cheval domestique est publiée en Novembre 2009 suite au travail collaboratif de la communauté mondiale de chercheurs équins qui a été construite à partir de l'ADN d'une jument pur-sang nommée Twilight, présentant un niveau élevé d'homozygotie de son Complexe Majeur d'Histocompatibilité (C.M.H., région de haute diversité génétique impliquée dans le système immunitaire, en général difficile à assembler) comparé aux autres chevaux candidats. (**Wade *et al*, 2009**).

La séquence génomique équine a été estimée à cette occasion à une longueur de l'ordre de 2,7 Gb, avec 32 paires de chromosomes séquencée (31 paires d'autosomes et les chromosomes sexuels, soit une formule génétique de  $2n = 64$  pour une cellule diploïde de cheval domestique), 20 322 gènes ont été annotés, pour des protéines dont environ 17 000 sont similaires aux gènes de l'homme, de la souris et du chien (**Jussiau *et al*, 2013**). Et un taux de polymorphisme global de 1/1000 pb a été déterminé. Et avec une grande similarité avec le génome humain qui représente 17 des 32 chromosomes équins sont identiques à un chromosome humain (**Jussiau *et al*, 2013**).

Le séquençage du génome équin et les avancées consécutives dans le domaine de la génomique équine ont mené à des progrès conséquents dans le développement d'outils visant à cartographier des caractères et des maladies et à évaluer l'expression génétique et la sélection des caractères intéressante recherche par les éleveurs. Ce qui va améliorer La qualité de l'élevage équin.

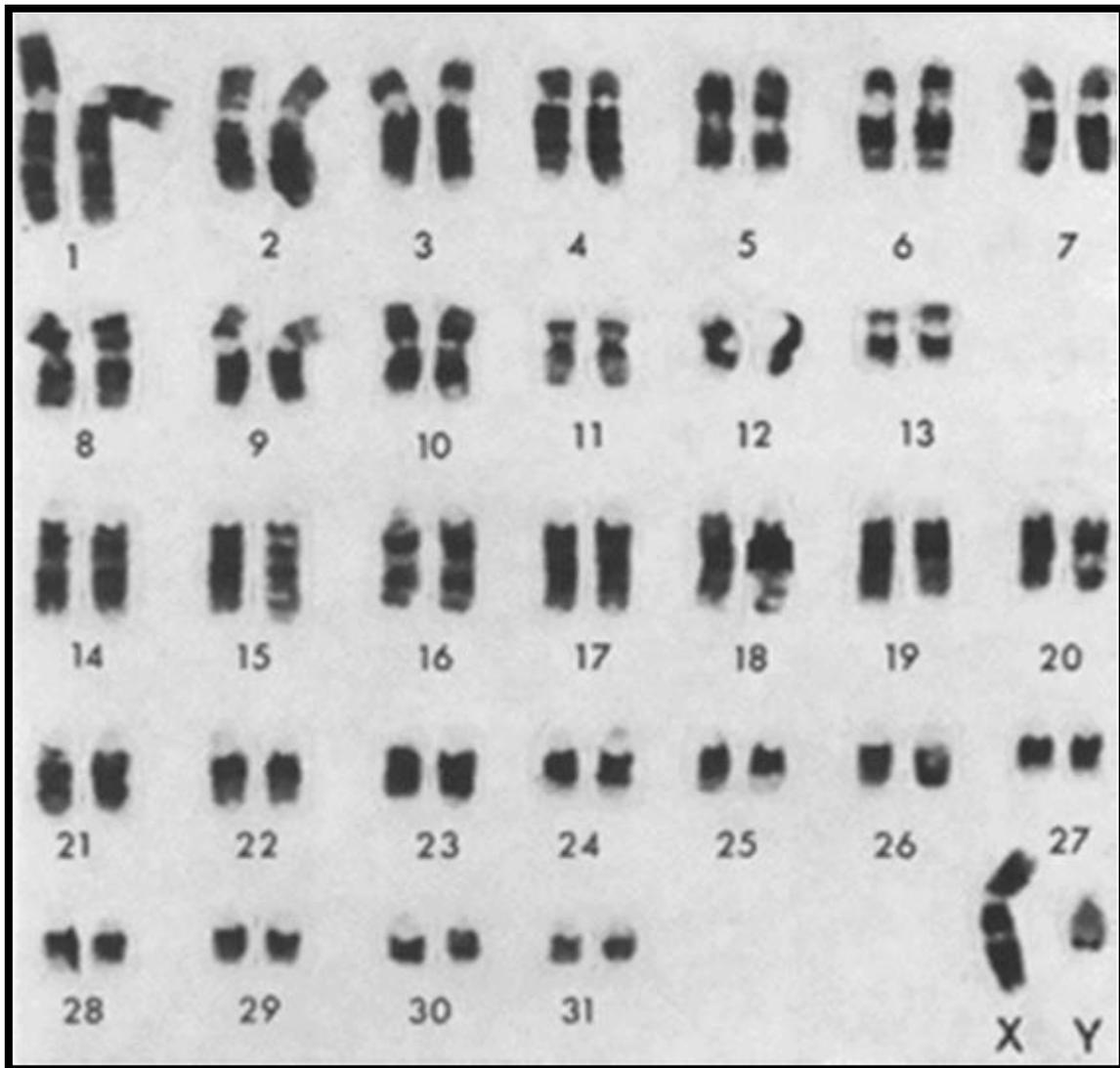


Figure 3. Caryotype d'un étalon obtenu par la méthode des banding G (Crihiu *et al*, 1998).

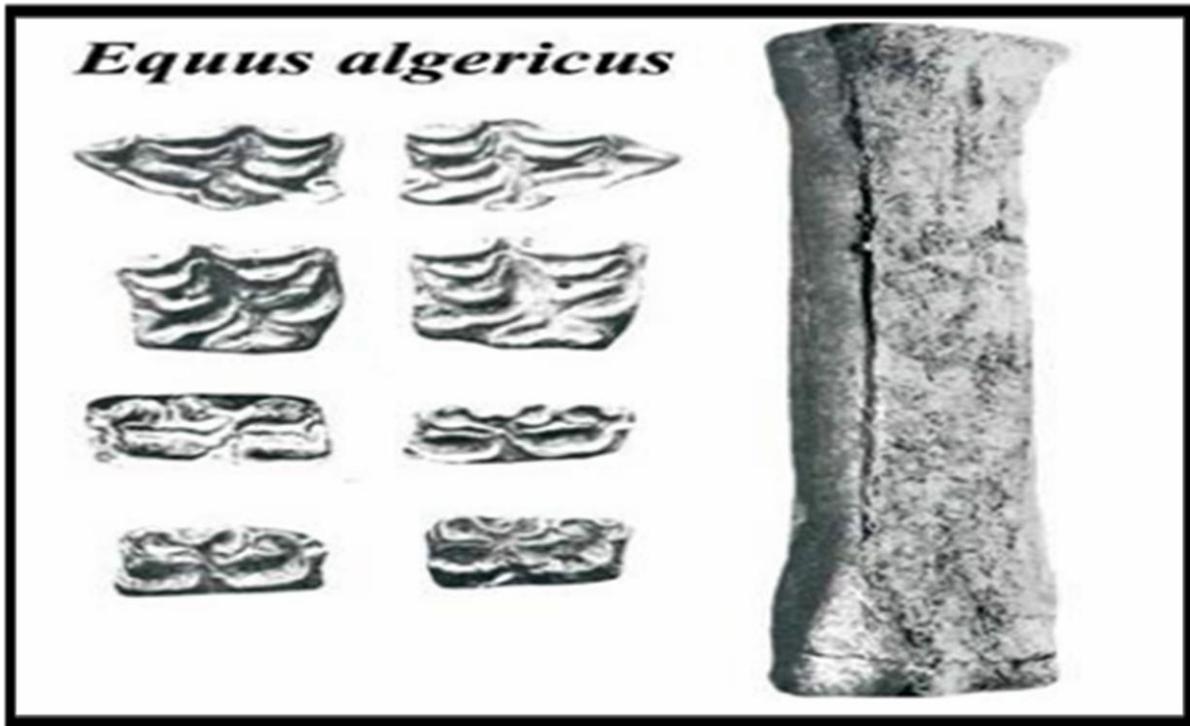
## II. La filière équine en Algérie et système d'élevage

Le cheval constitue un élément incontournable de l'histoire et de la culture algérienne. De par sa diversité et sa complexité, la filière équine constituée un facteur remarquable d'utilisation et de développement durable. En effet, de nombreux secteurs sont concernés et les structures s'avèrent multiples et hétérogènes. La filière équine se distingue ainsi des autres productions animales par des débouchés non alimentaires : loisirs, compétition, équitation, spectacle.

### 1. Historique du cheval en Algérie

L'Algérie est un pays équestre avec une longue tradition ancestrale. Ce cheval joue différents rôles, des compagnons humains aux vrais athlètes de la tribu berbère des Syphax, Jugurtha et Massinissa, aux épées d'Emir Abdelkader, El Mokrani et Bouamama.

L'apparition des chevaux en Algérie remonte à la période préhistorique du quatrième millénaire (Alimen, 1955), comme en témoignent les vestiges archéologiques, les dessins rupestres et les mosaïques montrant des chevaux avec une structure et un type similaires au cheval Barbe d'aujourd'hui. Grâce aux fouilles archéologiques menées en Algérie, nous avons pu identifier des restes osseux de l'espèce *Equus algericus* (Figure 4 et 5), situés au sud-est de Tiaret et à Hydra autour d'Alger et à Tlemcen. (Chaid-Saoudi, 1988).



**Figure 4 :** Restes osseux de l'espèce *Equus algericus* situés au Sud Est de Tiaret et à Hydra (Chaid-Saoudi Y, 1988).

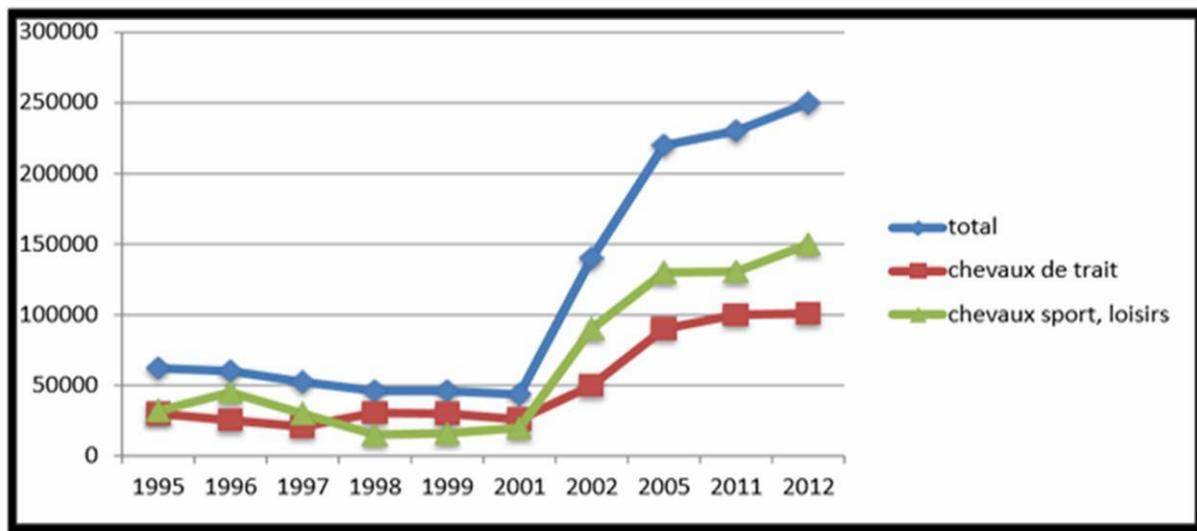


**Figure 5 :** *Equus africanus*, lac Karâr, Algérie, (Pléistocène moyen, Tlemcen, Algérie) (Sam. Y, 2018).

## 2. Effectif équin et son évolution en Algérie

La filière équine a également connu un développement considérable ces dernières années en nombre de chevaux existants, en nombre d'éleveurs et de cavaliers. Il y a plus de 256000 chevaux en Algérie (selon les derniers recensements de Ministère algérien de l'agriculture en 2012).

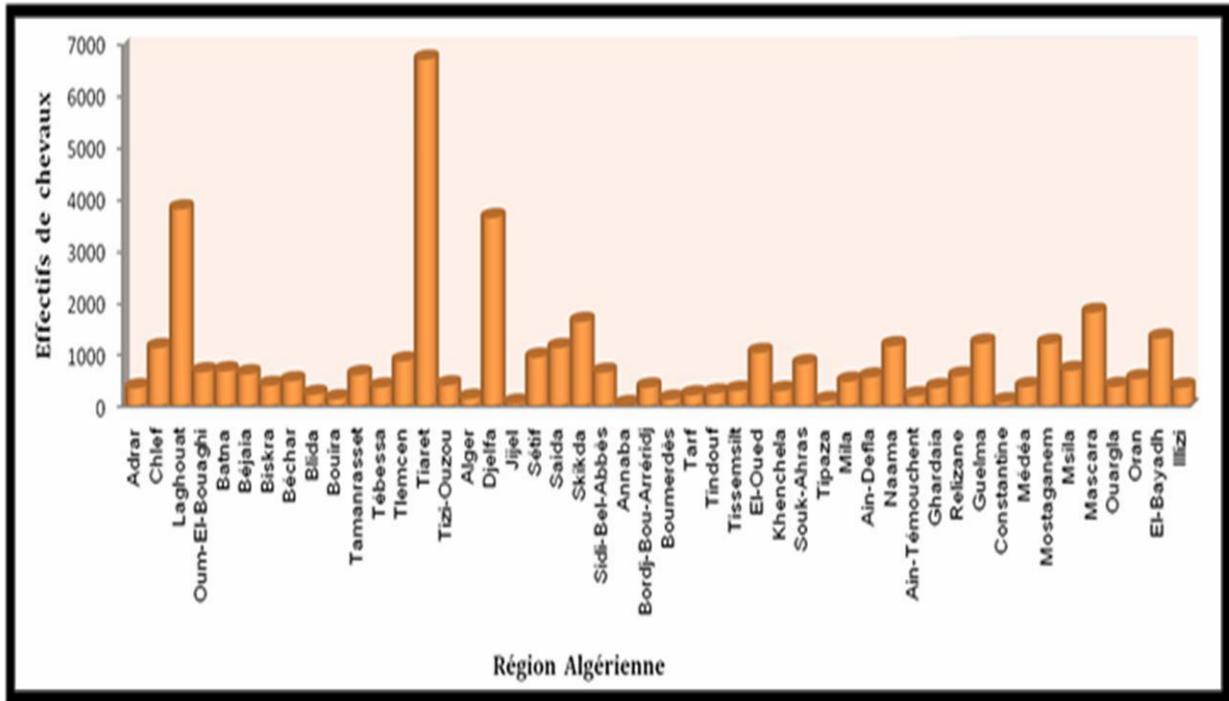
Ces données obtenues ne reflètent que partiellement la réalité d'aujourd'hui car de nombreux chevaux ont échappé à ce recensement. L'Algérie est Par conséquent, en termes de main-d'œuvre, elle est la deuxième après la Tunisie parmi les pays du Maghreb. Les chevaux (Rahal *et al*, 2009 ; Benhamadi *et al*, 2016).



**Figure 6 :** Schéma d'évolution de l'élevage équin en Algérie (source : Ministère Algérien de l'Agriculture 2012).

## 3. Répartition géographique de l'élevage équin

La répartition de la population de chevaux concerne différentes régions d'Algérie, Les trois quarts de la population active sont principalement répartis dans les régions du haut plateau, comme les Wilayas de Tiaret, Laghouat, Djelfa, mascara, Skikda, Saida et El-Bayadh (Figure 7).



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

#### 4. Les races équines en Algérie :

Les équidés occupent une place privilégiée dans la vie et l'imaginaire de la population rurale d'Algérie. Ces animaux appartiennent à la classe des mammifères, à la famille des équidés et au genre *Eqqus*. En Algérie, ils sont représentés par deux espèces: *Eqqus asinus* (âne domestique) et *Eqqus caballus* (cheval).

La population locales équine algérienne est représentée par une cinq races et de plusieurs croisements : race Barbe, Arabe-Barbe, Pur-sang Arabe, Pur-sang Anglais et le Trotter Français et un séisme race à la voie de caractérisation « le selle algérien ». La conservation de ces populations est relativement bonne mais reste, compte tenu de la faiblesse de la taille des populations, menacée par les effets de la consanguinité.

#### 4.1 Races autochtones :

##### 4.1.1 Race Barbe :



**Figure 8 :** Rohil étalon Barbe du Haras National Chaouchaoua fils du grand Bourbaki champion du monde 1986 à Paris père des étalons en Europe Ghafel, Lasnami et joudrane.

tirée de site : <http://djelfosahraa.e-monsite.com/pages/les-etalons-barbes-et-arabes-barbes.html>.

Le cheval Barbe (**Figure 8**) est originaire du Maghreb. Au début, il a été appelé un barbare et que ce n'est qu'en 1534 que le nom Barbe apparaît (**Roux, 1987**). C'est un cheval polyvalent, docile et durable, il s'adapte également facilement aux différents climats aussi mieux dans les pays berceau de la race (Algérie, Maroc, Tunisie et Libye) que dans les pays où elle était exportée depuis longtemps vers l'Europe et l'Afrique subsaharienne (**Rahal et al, 2009**). Le Barbe est un cheval équestre traditionnel par excellence (fantaisie). Il stimule actuellement, l'intérêt pour les clubs équestres et les courses de longue distance à l'échelle internationale, comme Haouza Larzac, championne des rallyes L'Europe en 2003.

La population Barbe de l'Algérie est d'environ 10000 têtes auxquelles nous pouvons ajouter environ 90000 têtes Barbe-arabe avec moins de 25% de sang arabe dans le plus grand nombre (**Kadri, 2006**). Cependant, il n'y a pas toujours de distinction entre « pur » et « présumés », facile à faire sur le plan phénotypique. En effet, la majorité de cette population est constituée d'individus non enregistrés au stud-book Barbe et dont les caractéristiques ne reposent que sur quelques aspects morphologiques, "à l'œil" pour les connaisseurs. Le standard officiel de la race Barbe créé par l'Organisation mondiale du cheval Barbe (OMCB) à Alger en juin

1987 (**Organisation mondiale du cheval Barbe, 1989; El-Kohen, 2006**), définit le Barbe morphologiquement comme une race eumétrique et médioligne dont les principaux caractères sont: une taille moyenne de 1,55 m (1,50 m-1,60 m) ; une longueur scapulo-ischiale sensiblement égale à la taille avec un indice corporel de profil égal à 1 (cheval carré) ; 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, puissant et parfois voussé ; 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 (**Organisation mondiale du Cheval Barbe, 1989 ; Tamzali, 1989 ; Chabchoub, 1998**).

#### 4.1.2 Race Arabe-Barbe :



**Figure 9** : Hided étalon arabe Barbe du Haras National Chaouchaoua. Tirée du site :

<http://djelfosahraa.e-monsite.com/pages/les-etallons-barbes-et-arabes-barbes.html>

L'Arabe-Barbe, création de la Jumenterie de Tiaret (fondée en 1877), d'abord dédiée à élevage de races arabe et Barbe, est la race dominante en Algérie (**Benabdelmoumene, 2003 ; Kadri, 2006; Benhamadi et al, 2016**).

La race Arabe se différencie du Barbe en étant plus léger, présentant plus de sécheresse et de finesse, une encolure plus allongée et peu épaisse, un profil de la tête rectiligne ou concave, une queue courte et attachée haut et une croupe plus horizontale (**Gaudois, 1989 ; Haras nationaux français, 2010**). 15 Le nombre de produits Arabe-Barbes purs, inscrits au stud-

book algérien du cheval Barbe, nés entre 1993 et 2004, est de 3379 selon les données de l'Office national du Développement de l'Élevage équins et camelins (ONDEEC) (**Rahal et al, 2009**).

#### **4.1.3 Race Selle Algérien**

C'est une nouvelle identification nommée race « selle algérien » mais qui n'est pas encore reconnue comme telle vu l'absence de données ethniques. C'est le produit d'un croisement entre la race algérienne Barbe et les chevaux lourds français (**Rayan, 2015**).

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

En plus de ces trois races locales, il existe également des chevaux pur-sang et pur-sang arabes, Anglais et Trotteur Français utilisés principalement dans le monde du sport équestre, représentés par les courses de chevaux, concours de saut d'obstacles et rallyes d'endurance. Ces races importées et élevées depuis plusieurs décennies sont inégalement réparties sur le territoire Algérien et mieux adaptées aux reliefs montagneux et secs des régions d'Afrique du Nord. (**Rahal et al, 2009 ; Benhamadi et al, 2016**).

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



**Figure 10** : Etalon Arabe Tirée du site: <https://www.pinterest.fr/pin/387591111666444485/>

Le cheval Pur-sang Arabe est l'une des plus anciennes races pures connues (**Figure 10**). C'est un cheval d'une civilisation du désert sévère, sélectionné dans les pays du Moyen-Orient pour des critères : de flexibilité, de service, de résistance, de légèreté et, surtout, de beauté. Le cheval arabe était utilisé pendant des siècles pour améliorer d'autres races à travers le monde. A été introduit en Algérie depuis le 7<sup>ème</sup> siècle, avec les conquêtes islamiques. Puis un spoiiler français, en 1877 a créé une Haras à Tiaret "Jumenterie de Chaouchaoua" pour produire des chevaux destinés pour le service militaire. Qui produira avec thèmes apportés d'Orient (Syrie, Egypte ...), des lignes mondialement connues. Dès L'indépendance de l'Algérie jusqu'aux années 1980 l'importation des étalons et poulinières suédoise, britannique et polonaise a diversifié les modèles et les origines de la race.

Ce n'est qu'en 1983 que la situation de cette race a connu un revirement qui est dû aux retours de courses à l'hippodrome de Caroubier (Alger) et à Oran. Ces courses étaient à l'origine alimentées par des chevaux arabes multifonctionnels nés et élevés en Algérie, notamment grâce à l'élevage de Tiaret, qui a été le seul à introduire plus de 700 coursiers dans les hippodromes.

La race pur-sang arabe à un stud-book et l'Algérie est un membre actif du monde Arabian Horse Organization (WAHO) avec 57 pays membres. Le cheval arabe est de taille petite (1,48 à 1,56 m en moyenne au garrot), en général de robe alezane, baie ou grise. C'est un cheval avec une poitrine large, une croupe harmonieuse, une queue courte et attachée haut, avec des membres très maigres. Il y a des marques sur la tête qui confirment la noblesse de la race, front large, son profil rectiligne ou concave, ses oreilles courtes, bien définies et mobiles, yeux grands, expressifs et doux, narines très ouvertes et finement dessinées, ganaches dressées, lèvre inférieure courte et petite.

En Algérie, le nombre de chevaux est estimé à 1000 chevaux, dont 90% proviennent de Haras d'État Chaouchaoua de Tiaret (**Rahal et al, 2009**). Aujourd'hui, cette race brille dans de nombreuses disciplines sportives (endurance, course, compétitions, dressage et saut d'obstacles).

#### 4.2.2 Race Pur-sang Anglais :



**Figure 11** : Cheval Pur-sang Anglais. Tirée du Site : <https://www.pinterest.fr/pin/795026140439497917/>

Au 18<sup>ème</sup> siècle, la passion anglaise pour le sport conduit à la création d'une nouvelle catégorie de chevaux. Les juments nationales les plus rapides sont croisées avec des étalons orientaux (**Figure11**).

En 1535, Henri VIII a publié un décret interdisant la production de chevaux de moins de 150 cm. L'origine de tous les étalons sont trois étalons (deux chevaux arabes et un Barbe) les pur-sang actuels Darley Arabian, Byerley Turk et Godolphin Barb (**Rahal et al, 2009**).

La race a été introduite en Algérie au 19<sup>ème</sup> siècle. Seulement sélectionné sur sa capacité à accélérer, ce cheval rapide et nerveux. Sa physionomie est proche de celle du la race arabe, mais plus long et plus fort. L'effectif actuel est d'environ 500 individus (**Rahal et al, 2009**), et la production est exclusivement réservée aux courses de chevaux. Bien qu'il n'y ait pas de standard, le pur-sang est un cheval longiligne de grande taille en moyenne 1,65 m au garrot, ce qui donne une impression d'ensemble très harmonieuse Athlétique. Le profil est plutôt droit, le front est large et la tête est distincte. Le bras est long et oblique, permettant l'amplitude appropriée des pas de galop. Le coffre est là large, profond, pointu, dos droit, croupe horizontale et longue, avant-bras barriques longues et courtes. La couleur la plus courante est la baie; alésan et gris être également présent.

La région d'élevage de pur-sang en Algérie est Laghouat par excellence et un moindre degré à Blida (jument Chebli). Les naissances sont enregistrées dans d'autres régions, en particulier

par les propriétaires de chevaux de course (piste de course Zemmouri, Oran, Msila, Djelfa) (Rahal *et al*, 2009).

#### 4.2.3 Race Trotteur Français :



**Figure 12 :** Cheval Trotteur Français. Tirée du site : <https://www.didierlouis.fr/chevaux-de-course/kiwi/>

L'introduction de cette espèce en Algérie remonte au 19<sup>ème</sup> siècle. Les effectifs actuelle est Environ 500 têtes (Rahal *et al*, 2009), la production n'est utilisée que pour course. Provient d'un pur-sang anglais croisé avec un coursier normand. C'est maintenant une race complète, avec un stud-book semi-ouvert (Rahal *et al*, 2009).

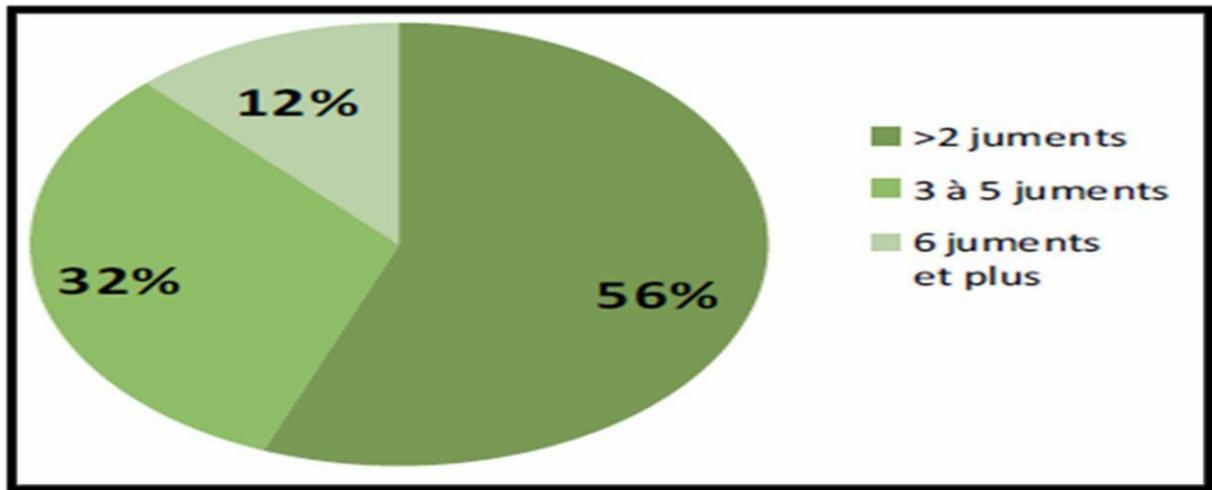
Quelques caractéristiques de cette race: tête droite, épaules droites, Devient plus incliné, permettant un geste de coup droit plus large et une hauteur moyenne. C'est un cheval très compact. La robe est généralement constituée de baies ou alezanes.

Les chevaux de cette race, considérés comme impropres à la course, sont souvent orientés vers la discipline du trot attelé, sur la piste de Zemmouri, et bientôt à Oran (Figure 12) Cependant, les trotteurs peuvent également être trouvés dans les clubs hippiques. Que pour les propriétaires de chevaux fantasia qui apprécient un modèle plus lourd montrer les chevaux.

#### 5. Caractérisation des élevages de chevaux :

L'élevage de chevaux comprend les juments et / ou les étalons la reproduction. En Algérie, l'élevage équestre est très petit, sauf Juments de Tiaret, Chebli et El Karma, et quelques propriétaires privés. Plus Dans la plupart des régions, de la moitié des fermes à plus de 2 juments par an. Une 3 à 5 jument sont saillies chaque année, soit 32%, et seulement 6

chevaux ou plus représentant 12% Juments saillies chaque année (ONDEEC, 2012) (Figure 13). Le chemin d'élevage dépend du type de cheval, mais Les méthodes d'élevage seront différentes selon la race, mais les bases du métier sont la même chose: alimentation, reproduction et santé animale.



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

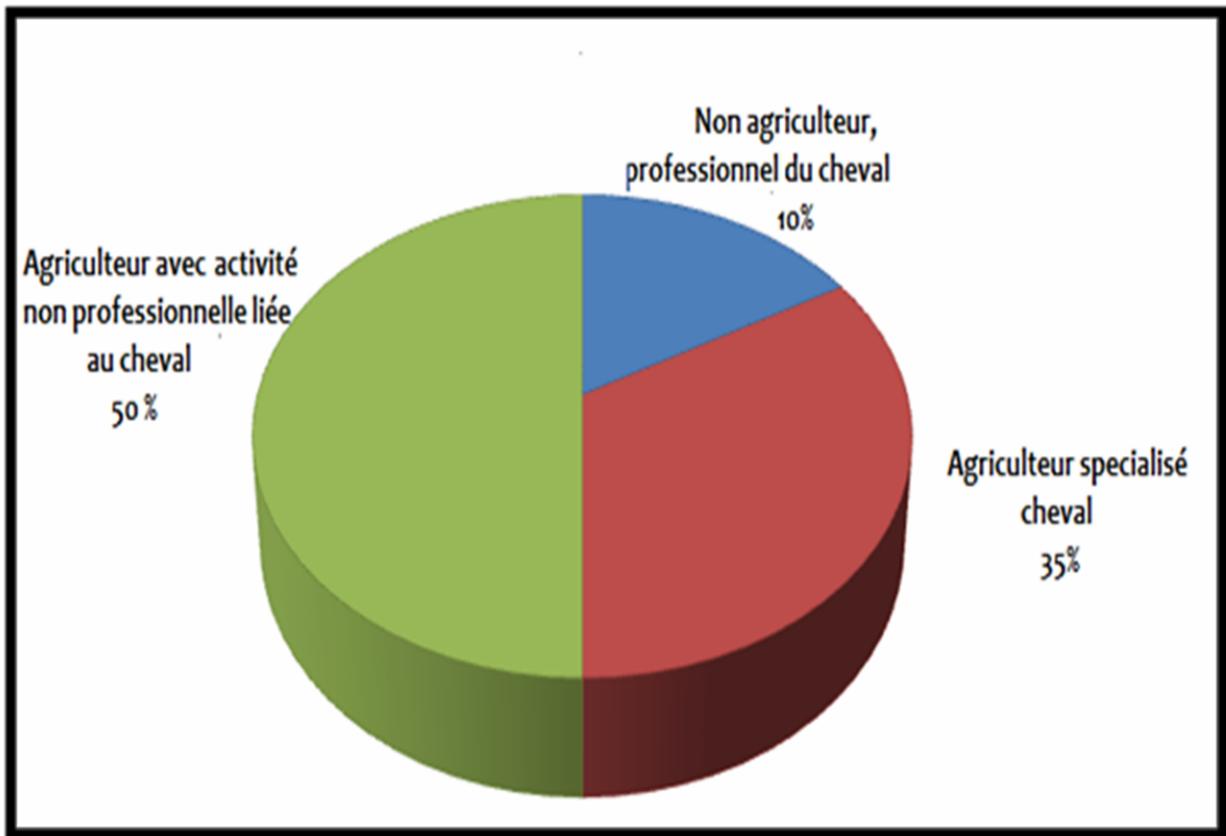
La filière équine a connu un développement important ces dernières années, tant au niveau du nombre de chevaux présents sur le territoire du pays que du nombre d'éleveurs et de pratiquants (plus de 30% des licenciés en 2006-2011). Alors En général, il existe trois types d'éleveurs dans le secteur équin (Figure 14):

**-Un agriculteur engagé dans des activités non professionnelles liées au cheval:** se considèrent comme des éleveurs, mais pas en tant que professionnels en élevage équin, ont des petites structures et essaye de produire au moins un poulain chaque année. L'élevage est une activité temporaire lente. Ils ne recherchent pas vraiment la rentabilité, l'argent investi provient d'autres sources. Leur production est destinée à un usage personnel, mais aussi à la vente.

**- Agriculteurs spécialisés dans les chevaux:** ils ont des structures importantes. Leur la production est régulière. Ils produisent des chevaux de course ou de sport amateurs, mais traitent l'élevage de chevaux comme une activité secondaire qu'ils font par passion, à côté de son activité principale.

**-Non agriculteurs professionnels du cheval :** ils ont plus de quatre juments avec une production annuelle régulière. Ils voient l'élevage de chevaux comme une vraie activité professionnelle avec une recherche de rentabilité économique. Ils produisent avant tout, des

chevaux d'endurance, mais aussi du concours complet et du saut d'obstacles. Ils sont orientés vers plusieurs races adaptées aux disciplines ciblées, ils recherchent de la valeur ajoutée, par la couleur de la robe, course ou performance athlétique. Multiple Stratégies de reproduction existent. Le contrôle des aliments et de la santé est assuré par un vétérinaire spécialisé.



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

## 6. Organisation de la filière équine

La forte réduction de l'effectif équin, incitera le gouvernement algérien à réagir, qui sera adoptée en 1986, un dossier sur la "Réorganisation du département des chevaux". Ce dossier, raisonnable dans sa conception, visait à la préservation et au développement des races équines, merci ressources qu'ils contribuent à créer. De cette façon les structures suivantes:

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

L'ONDEEC est responsable de la préservation, du développement, de la promotion et l'encouragement, des races équines, ainsi que la tenue de livres généalogiques (Stud book). Il gère l'administration publique de monte et sert de support technique aux unités d'élevage. Pour ce faire, il bénéficie de 9% du montant total des mises de Pari Mutuel Urbain (Berber N,2016)

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

Elle est responsable de l'organisation des courses de chevaux, de la collecte des paris et redistribution des ressources financières induite, sur la base de l'arrêté interministériel du 5 Septembre 1989, fixant le taux et désignant les bénéficiaires des retraits à effectuer le les défis de Pari Mutuel Urbain (PMU). Pour cela, elle s'appuie sur les hippodromes nationaux et les agences de P.M.U diffusées dans les grandes wilayas du pays. Elle perçoit 10 % des enjeux de masse pour son travail **(Berber N,2016)**.

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

Organisation non gouvernementale OMCB est chargée de la coordination des associations d'éleveurs algériens, détenteurs des livres généalogiques (Stud books), de l'établissement du standard de la race, et les règlements relatifs à la reproduction de la race Barbe et de ses dérivés. Son siège est à Alger. Il compte actuellement huit pays membres (Algérie, Maroc, Tunisie, France, Allemagne, Belgique, Suisse et Luxembourg) **(Berber N, 2016)**.

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

En raison de la réorganisation de la Fédération algérienne des sports équestres (FASE), déclaré comme un service public. Sa mission est de promouvoir et d'encourager l'utilisation des races équines aux sports équestres modernes et traditionnels. Elle reçoit 3% du nombre total des rejets PMU **(Berber N, 2016)**.

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

Leur rôle est de structurer et d'animer les éleveurs en fonction de la race équine. (Arabe, Barbe, Pur-sang arabe, Barbe-Arabe et anglais). Ils ont 3% de la masse des taux PMU**(Berber N, 2016)**.

## **6.6 Fédération Équestre Algérienne**

Elle a un rôle très important à jouer dans l'utilisation des races équines, à travers l'équitation. Les sports équestres modernes absorberont probablement une grande partie de la production nationale de chevaux. Par le développement et l'encouragement des disciplines dans lesquels excellents les chevaux locaux, à savoir l'endurance, la randonnée, et l'apprentissage. De plus, l'équitation traditionnelle qui fait son grand retour après années de stagnation en raison de la situation sécuritaire, constitue un certain débouché pour les courses pour les races Barbe et Arabe-Barbe **(Berber N, 2016)**.

## **6.7 Mouvement Associatif**

Dans les pays développés dans l'élevage équin, la gestion des haras est généralement déléguée à l'association d'éleveurs, et certaines tâches telles que les livres de race ou organisation de concours d'élevage. **(Berber N, 2016)**

En Algérie, le développement du mouvement associatif va à l'encontre de la nature de ce type d'élevage, souvent personnel, en l'absence des ressources nécessaires à son fonctionnement, et un manque de perspectives en raison d'un manque d'encadrement. **(Berber N, 2016)**

## **6.8 Utilisations traditionnelles du cheval**

### **6.8.1 Fantasia**

La fantasia est un art équestre traditionnel pratiqué principalement au Maghreb, se manifestant par la simulation d'assauts militaires. Cet art est notamment appelé "jeu de poudre" ou "jeu de chevaux".

En Afrique du Nord, c'est une coutume très ancienne, généralement sous forme de développement équestre: dans ce processus, 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. Elle peut en outre, selon les régions, être exécutée à dos de dromadaire ou à pied.

La fantasia est indirectement liée à une très ancienne tradition berbère de l'équitation, liée à l'introduction des chevaux Barbe "cheval de guerre": Symbole de la virtuosité guerrière, rendue célèbre par les tableaux de Delacroix.

Entraînez un cheval âgé d'au moins quatre ans, Barbe ou Barbe-arabe Règles spécifiques. Le cavalier et sa monture doivent reconnaître la séquence exacte des figures préparées en groupe Dans un endroit désigné, d'environ deux cents mètres de long des équipes d'au plus deux à vingt coureurs remplissent l'air avec le son de leur propre cavalcades et ils se succèdent.

En Algérie, 140 associations équestres traditionnelles perpétuent la Fantasia. Près du Maroc Un millier de troupes et près de 15000 chevaux ont participé aux concours organisés par les haras nationaux à l'occasion des Mushams [fête religieuse primitive médiévale et des publicités commerciales, NDLR] et des jours fériés locaux et nationaux **(Benhamadi , 2016)**.



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

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Fantasia\\_\(cavalerie\)#/media/Fichier:Fantasia\\_%C3%A0\\_Ain\\_La\\_rba.jpg](https://fr.wikipedia.org/wiki/Fantasia_(cavalerie)#/media/Fichier:Fantasia_%C3%A0_Ain_La_rba.jpg)

### **6.8.2 Travail agricole**

Tout au long du XXe siècle, en raison de la mécanisation de la société, ce cheval a été abandonné dans les pays industrialisés. Aujourd'hui, son utilisation augmente, Effectuez de nombreuses tâches dans les pays en développement, de manière générale, en Algérie surtout dans les zones rurales, malgré le développement de l'automobile, les chevaux sont particulièrement utiles pour transporter des matériaux de construction et de l'eau dans des endroits inaccessibles en voiture. Le cheval est également impliqué dans le transport des gens, les biens et les déchets ménagers. En agriculture, le cheval est toujours là utilisé comme aide au travail pour les paysans (**Benhamadi , 2016**).

### **6.8.3 Utilisations modernes du cheval**

Les sports équestres combinent toutes les disciplines des sports équestres. Avoir Il existe de nombreux autres sports équestres dans le monde, dont certains sont réglementés Fourni par la Fédération Équestre Internationale (FEI), tandis que d'autres ont une portée locale. La Fédération Équestre Internationale réglemente et organise des compétitions internationales entre sept disciplines Le plus célèbre et le plus pratique au monde:

#### **6.8.4 Attelage**

La traction animale a été le principal moyen de transport des gens et des fardeaux jusqu'à l'arrivée du chemin de fer. Elle a été pratiquée quotidiennement pendant des siècles en utilisant des véhicules spécifiques de toute nature pour le plaisir comme pour le travail, en temps de paix comme en temps de guerre. Cela a laissé des traces profondes dans la mémoire collective et a été matérialisé par d'innombrables œuvres d'art. Mais ce n'est qu'au XXe siècle que la pratique de l'attelage et ses compétitions seront inscrites au rang des disciplines équestres.

L'attelage est devenu aujourd'hui un sport équestre si bien développé par les "meneurs" (on dit "meneuses" pour les femmes) – tant dans les pays européens qu'aux Etats-Unis – qu'il donne lieu chaque année à un Championnat du monde. Le premier du genre, appliqué aux attelages à 4 chevaux, s'est déroulé à Munster en 1972. S'affirmant au cours du temps, ce "Championnat à 4" alterne un an sur deux avec un "Championnat à 2" pour les attelages en paires. Il existe aussi un "Championnat à 1", qui figure comme les autres au calendrier de la Fédération Équestre Internationale (**Benhamadi , 2016**).

#### **6.8.5 Concours complet**

Le concours complet d'équitation (ou CCE) est un sport équestre qui regroupe en une seule discipline trois épreuves bien distinctes : une épreuve de saut d'obstacles, une épreuve de dressage et une épreuve spécifique : le cross ou cross-country. Créée à l'origine pour tester les capacités des chevaux destinés aux forces armées, cette épreuve a évolué peu à peu pour devenir une discipline équestre à part entière. Souvent qualifié de triathlon équestre, le CCE demande, contrairement à d'autres disciplines, une polyvalence de la part du cheval comme de son cavalier.

Le concours complet 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 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 (**Benhamadi , 2016**).

#### **6.8.6 Dressage**

C'est une reprise comportant des figures imposées. Elle est exécutée sur une carrière de 100 m x 40 m. Plusieurs protocoles officiels ont été établis, gradués selon leur difficulté de 1 à 7. Chaque reprise dure environ dix minutes. Le sol consacré à l'attelage doit être ferme. Un gazon convient fort bien, tandis que le sable mou est à proscrire. Les lettres du dressage

monté sont les mêmes que celles de la carrière. Ces reprises ne comportent que deux allures: le pas et le trot. Elles sont notées par un aréopage de trois juges pour les concours mineurs et de cinq pour les plus avancés (**Benhamadi , 2016**).

### **6.8.7 Raids d'endurance**

Les courses d'endurance sont des épreuves de grand fond courues à vitesse libre et en opposition directe. Après un départ en groupe, le 1er qui passe la ligne d'arrivée a gagné, si les contrôles vétérinaires ne le déclassent pas. Pour accéder au niveau des courses à vitesse libre (un grand championnat sur 160 km se gagne à 20 km/h, soit huit heures à cheval et deux heures d'arrêt aux contrôles; environ dix heures de course au total), il existe une série de paliers à vitesse limitée et à distance croissante que l'on doit franchir avec succès (**Benhamadi, 2016**).

- **L'origine des courses d'endurance à cheval.**

Il existe une très ancienne tradition de raids équestres, la plupart du temps militaire. En fait, la première fois qu'une véritable épreuve sportive eut lieu, d'une traite et dépouillée des contraintes réglementaires (paquetage, ordre de marche, etc.\*), ce fut en 1903 entre Bruxelles et Ostende, sur 130 km\*. D'autres épreuves furent organisées, mais les militaires finirent par s'en désintéresser et elles disparurent peu à peu\* La renaissance se fit ensuite en Autriche-Hongrie et en Espagne\* Elles réapparurent en France, à la fin des années 70.



**Figure 16 :** courses d'endurance en 2018. Tirée du site : <https://www.fr.wiki-horse.com/dossier/endurance-cheval-2018/>

### **6.8.8 Saut d'obstacles**

Le concours de saut d'obstacles — ou jumping en anglais — est aujourd'hui la discipline des sports équestres la plus pratiquée. Incontestablement, discipline emblématique des sports équestres, le concours de saut d'obstacles (CSO) devrait connaître encore de belles heures au XXI<sup>e</sup> siècle, en s'imposant comme un sport authentique et très spectaculaire. A l'instar des autres disciplines équestres de compétition, dont les plus connues sont le dressage, le concours complet d'équitation, l'attelage et l'endurance, le saut d'obstacles est régi et réglementé de nos jours, sur le plan international, par la Fédération Équestre Internationale. En Algérie, c'est la fédération équestre algérienne (FEA) qui veille, depuis 1963, sur les sports équestres et les disciplines de compétition **(Benhamadi, 2016)**.



**Figure 17 :** la compétition nationale de saut d'obstacles en 2019. Tirée du site : [https://elmoudjahid.com/temp/fr/actualite2\[143023\].jpg](https://elmoudjahid.com/temp/fr/actualite2[143023].jpg)

### **6.8.9 Courses hippiques**

Des courses de chevaux sont organisées depuis l'Antiquité. À l'époque coloniale il y avait de nombreux hippodromes provinciaux. Le relais a été repris depuis indépendance par la Société des Cours d'Alger, et en vol 1987 créations de l'actuelle société SCHPM, conformément au décret officiel n ° 87-17. Cette société produit exploiter pas moins de 22 hippodromes avec environ 700 chevaux arabes, 300 plein de sang anglais et cent barbes et barbes arabes (Benhamadi, 2016).

### **6.8.10 Tourisme équestre**

Il s'agit de toute activité de loisir et de tourisme vert impliquant l'utilisation de chevaux. Les centres équestres proposent des balades à cheval, des voyages de découverte campagne, promenades en calèche ouvertes au public, établissements équestres constituent donc un maillon essentiel de la filière équine (Benhamadi, 2016).

### **III. Biodiversité et ressources zoogénétique**

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

La biodiversité en agriculture est le résultat de milliers d'années d'activité dont l'homme a essayé de subvenir à ses besoins dans des conditions climatiques et des systèmes écologiques très différents.

L'élevage est devenu un élément important du système de production Agricole, particulièrement important dans les environnements défavorables aux cultures, C'est difficile, voire impossible. Pour les éleveurs, la diversité génétique animale représente une ressource pour sélectionner les animaux et développer de nouvelles races. Plus largement, les populations d'animaux d'élevage génétiquement différents permettent l'entreprise dispose d'un plus large éventail d'options pour relever les défis des années à venir.

Depuis 1960, l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (**FAO**) a offert d'aider les pays à caractériser leurs ressources zoogénétiques l'alimentation et l'agriculture et l'élaboration de stratégies de conservation. En 1990, le Conseil de la FAO a recommandé un plan global pour Gestion durable des ressources zoo génétiques dans le monde entier.

La caractérisation des ressources zoogénétiques couvre toutes les activités liées à identification, description qualitative et quantitative et documentation des populations animales. L'objectif est de mieux connaître les ressources zoogénétiques animale, leurs utilisations alimentaires et agricoles actuelles et futures dans des environnements spécifiques, 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 des pays, et étude de ces ressources. Le processus comprend également, documentation systématique des informations collectées pour faciliter l'accès. Actions des caractéristiques devraient favoriser la conception de prévisions objectives et fiables pour la performance animale dans des environnements spécifiques et ainsi comparer les performances potentielles au sein des différents systèmes de production d'un pays ou d'une région. Il s'agit donc d'un travail plus approfondi que la simple collecte de rapports existant (**Rege, 1992**).

Les informations obtenues à partir du processus de caractérisation facilitent la prise de décisions éclairées sur les priorités de gestion des ressources par différents groupes d'intérêt, y'a compris les agriculteurs, les gouvernements nationaux et régionaux et les organisations internationales (**FAO, 1992; FAO / PNUE, 1998**). Ces décisions politiques visent à

promouvoir le développement des ressources zoogénétiques tout en veillant à ce que ces ressources soient protégées 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 au sein des espèces et de leurs populations. L'intérêt actuel pour la biodiversité est le support de base sur lequel la sélection peut opérer, on suppose que plus la diversité d'un groupe d'individus (sous-populations, population, espèces) est grande, plus il sera facile pour certains individus de s'adapter aux nouvelles conditions environnementales. En plus de permettre plus une grande adaptabilité des individus réduira également la dépression de la consanguinité et réduira ainsi le risque d'extinction (**Frankham, 2005**). L'origine de la diversité génétique est le résultat de changements dans la séquence d'ADN (polymorphisme génétique) et l'influence environnementale (évolution) (**Stockwell et al, 2003**).

### **2.1 Processus évolutifs affectant la variabilité génétique des populations**

Au sein d'une espèce donnée et à un moment donné, la variabilité génétique est divisée en composantes intra-population et composantes inter-population. Les phénomènes vécus par la population peuvent affecter l'évolution de l'une ou l'autre composante dans le temps. D'une part, l'isolement des populations et le maintien de leurs effectifs limités (dérive génétique), d'autre part, le croisement (migration) entre populations à un effet inverse sur la variabilité. La sélection a tendance à augmenter la variabilité entre les populations car différentes populations sont sélectionnées à des fins différentes. Elle tend à réduire la variabilité intra-population, soit directement en établissant des déséquilibres dans l'association des gènes et en fixant certains allèles (mais lorsque les allèles sélectionnés sont rares, la sélection conduit à une augmentation temporaire de la variabilité) ou indirectement. Mettant l'accent sur le phénomène de dérive génétique (**Verrier et al, 1989**).

Enfin, les mutations constituent un facteur de nouveauté qui affecte les deux composantes de la variabilité, mais elles ne sont sensibles que pendant une longue période, et d'autres forces évolutives (dérive génétique, sélection ...) conduisent à une augmentation des mutations. Fréquence des mutations alléliques.

### **2.2 Forces évolutives**

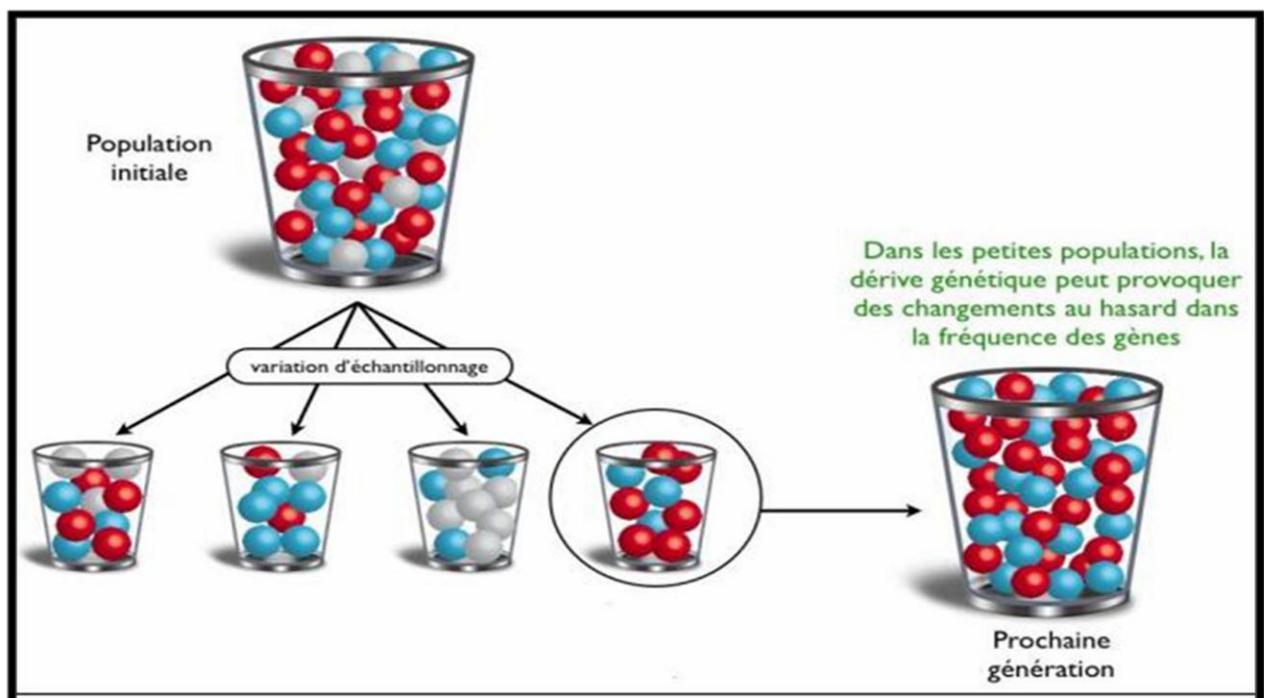
Le niveau de diversité génétique et les changements de fréquence des allèles de la population dépendent des effets respectifs de trois forces évolutives en interaction: la dérive génétique, la migration et la sélection. Ils sont à l'origine de la diversité génétique et de son évolution.

### 2.2.1 Dérive génétique

Dans une population limitée, la transmission d'une génération à l'autre constitue l'échantillonnage des gènes. Ce phénomène de dérive génétique, introduit par **Wright en 1968**, est défini par la fluctuation de la fréquence des gènes d'une génération à l'autre (variation dans le temps) dans une population. L'évolution de la fréquence des gènes peut être considérée comme un processus aléatoire (pas de sélection en faveur de l'un ou l'autre allèle). Les conséquences suivantes peuvent survenir:

- Lorsque le nombre de générations passées augmente, la différence de fréquence des gènes entre les sous-groupes augmente également ;
- Le taux d'hétérozygotie moyen (calculé sur la base de la population globale) a diminué ;
- Après un grand nombre de générations, l'un des deux allèles est fixé chez certains individus de la population et perdu chez d'autres individus, de sorte que le polymorphisme entre eux est réduit (**Rognon et Verrier, 2007**).

L'évolution d'une population soumise à une dérive génétique est le résultat d'échantillons successifs. Par conséquent, dans les populations contenant plusieurs sous-populations, la dérive génétique peut entraîner certaines différences génétiques entre les sous-populations (**Hartl et Clark, 1997**). (**Figure 18**).



**Figure 18.** Phénomène de dérive génétique affecte les petites populations (**Bucheton et al, 2008**).

### 2.2.2 Migration et mutation

Ces deux phénomènes sont de nature complètement différente. Cependant, leurs conséquences sur la constitution génétique de la population sont qualitativement les mêmes en ce qu'elles sont des facteurs de nouveauté. Cependant, leur effet quantitatif n'est pas du tout du même ordre de grandeur.

### 2.2.3 Migration

La migration fait référence au mouvement d'organismes entre des populations non fermées, qui représente en quelque sorte le ciment qui maintient la population génétiquement uniforme et fixe la limite de la différenciation génétique (**Hartl et Clark, 1997**). Parfois, la migration peut être unidirectionnelle. Dans ce cas, la fréquence allélique de la population d'origine restera inchangée dans le temps, ce qui est différent de la fréquence allélique de la population receveuse. Aux premiers stades de la différenciation entre les sous-populations, un faible taux de migration suffit à retarder la différenciation à moins qu'il n'y ait une option de différenciation forte entre les reproducteurs de la population d'origine et la population receveuse. (**Nei, 1987**).

Par conséquent, la migration semble être un moyen rapide de modifier la fréquence des gènes. C'est aussi l'un des intérêts du croisement. En effet, à moins qu'il n'y ait une différence initiale entre les deux populations, il n'y a pas de changement significatif de fréquence (**Rognon et Verrier, 2007**).

En fournissant un flux génétique externe régulier, la migration peut éviter la perte de certains allèles (au moins les allèles qui existent dans les populations d'immigrants). De plus, lorsque la population immigrante est vraiment importante et que les immigrants ne sont pas liés les uns aux autres, les immigrants détruisent la relation d'identité génétique au sein de la population d'accueil (**Rognon et Verrier, 2007**).

### 2.2.4 Sélection naturelle

La sélection naturelle est un mécanisme qui contribue à l'évolution des espèces. Il classe les individus dont la survie et la reproduction diffèrent dans un environnement donné. Par conséquent, il augmente la fréquence avec laquelle le phénotype le plus favorable est utilisé pour la survie et la reproduction (et a donc une plus grande vigueur), tandis que le phénotype le moins approprié a tendance à disparaître. En effet, pour agir, il faut:

- Les individus de la population ne sont pas exactement les mêmes (variation des traits),

- Une partie de cette variation affecte les traits liés à la survie et / ou à la capacité de reproduction,
- Les différences de survie / reproduction sont dues à des variations génétiques héréditaires (par conséquent, ces différences doivent être contrôlées par des gènes transmis de génération en génération).

Les porteurs de mutations bénéfiques ont plus de descendants, et les descendants auront plus de descendants, et ainsi de suite, résultant en des individus qui s'adaptent à l'environnement. Quant à la sélection artificielle, les humains ont procédé à une sélection artificielle d'espèces domestiquées, ce qui est sans aucun doute une affaire depuis le début de la domestication. Contrairement à la migration et à la dérive génétique qui affectent l'ensemble du génome, la sélection n'agit que sur certains loci et leurs voisinage direct (loci physiquement et / ou fonctionnellement liés).

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

Caractéristiques des ressources zoogénétiques couvre toutes les activités liées à identification, description qualitative, quantitative et documenter les populations raciales et les habitats naturels et les systèmes de production auxquels ils sont ou non adaptés. L'objectif est de mieux comprendre les ressources zoogénétiques, leurs utilisations présentes et futures probables dans l'alimentation et l'agriculture dans des environnements spécifiques, et leur statut actuel en tant que population multi-races (FAO, 1984; Rege, 1992).

Au niveau national, la caractérisation comprend l'identification des ressources zoogénétiques du pays et l'étude de ces ressources. Le processus comprend également une documentation systématique des informations collectées pour un accès facile. Les activités de caractérisation devraient promouvoir des prévisions objectives et fiables des performances des animaux dans un environnement défini afin de comparer les performances potentielles dans différents systèmes de production dans un pays ou une région. Il ne s'agit donc pas d'un simple recueil de rapports existants, mais d'un travail plus approfondi.

Généralement, les espèces animales sont caractérisées selon les aspects suivants La méthode dépend du fait que les caractéristiques à étudier ont une signification économique et peuvent être simples ou Difficile à déterminer; phénotype (caractéristiques biologiques morphologiques), biochimiques ou Immunogénétique (polymorphisme des protéines sanguines), cytogénétique (quantité, forme et Anomalies chromosomiques) ou des molécules (directement situées dans ADN).

### **3.1. Méthode morphobiométrique :**

Le phénotype désigne simplement l'observation des caractéristiques animales (couleur, cornée, côté des plumes ...) ou des mesures morphologiques (taille, poids, nombre de rayons sur la nageoire ...) ou des performances (vitesse de croissance, production laitière ...). L'avantage de ce type d'information est que sa collecte d'informations est généralement simple et peu coûteuse, elle peut donc être effectuée sur un grand nombre d'animaux. Ce phénotype nous donne accès à la variabilité des gènes responsables de la variabilité des traits observés. Ces traits peuvent avoir un déterminisme simple (régé par un ou même deux locus et non influencé par l'environnement), la variabilité observée peut alors être facilement interprétée, mais n'affecte que quelques gènes responsable(s). De plus, ces caractéristiques sont des caractéristiques qui peuvent standardiser les races animales. Le reste des caractères est à déterminisme complexe. (Contrôlés par un certain nombre de locus et plus ou moins affectés par l'environnement). Le passage de la variabilité observée à la variabilité génétique nécessite une prise en compte appropriée des impacts environnementaux. De plus, les caractères mesurés font généralement l'objet d'une sélection (**Rognon et Verrier, 2007**).

### **3.2. Méthode biochimiques et moléculaires**

Deux types de marqueurs sont connus. D'une part, les marqueurs biochimiques (protéines et groupes sanguins) qui accèdent aux effets primaires des gènes. En revanche, les marqueurs moléculaires (mini-satellites, microsatellites et SNP "polymorphismes nucléotidiques simples" ...) donnent un accès direct aux polymorphismes de l'ADN. Dans les deux cas, l'échantillonnage des animaux doit être planifié et des échantillons biologiques prélevés.

Le plus grand avantage des marqueurs moléculaires est qu'ils peuvent décrire directement la variation génétique, y compris les dimensions multi-locus. Au cours des dernières décennies, il est devenu évident que les outils biochimiques et moléculaires fournissent les techniques de choix pour étudier les structures génétiques et l'histoire évolutive des organismes. De nombreux champs de recherche sont créés à cause de l'application des méthodes développées dans le domaine de la génétique des populations aux populations domestiques.

#### **3.2.1 Marqueurs biochimiques**

##### **a. Groupes sanguins**

La première démonstration de variabilité biochimique a été réalisée au début du siècle dernier sur des groupes sanguins ABO humains. Pour les équins, les ovins et les bovins, on connaît respectivement 8 et 13 systèmes sanguins, répartis sur plusieurs loci polymorphes (**Delacretaz-Wolff, 1997**).

Chez les chevaux, les marqueurs sanguins génétiques sont principalement utilisés pour l'identification et les tests de paternité (contrôle de filiation). Ils ont été utilisés pour établir le contrôle de paternité chez les chevaux marocains Barbe et Arabe-Barbe (**Ouragh et al, 1994**).

### **b. Protéines**

À l'aide de la technologie d'électrophorèse sur gel, des variantes de protéines peuvent être mises en évidence. Cette technique est basée sur la migration différentielle des protéines à travers le gel sous l'action d'un champ électrique. L'étude des variantes protéiques ou isoenzymes (enzymes sériques, érythrocytaires et tissulaires) est devenue par la suite un outil standard pour la mutation graduée et a fourni le premier moyen non biaisé pour estimer la variabilité génomique. Ces marqueurs ont été (et sont toujours) largement utilisés dans la recherche en génétique des populations. En fait, 15% des études de caractérisation récentes ont été réalisées à l'aide d'isoenzymes (**Baumung et al, 2004**).

Seules les mutations qui provoquent des changements dans la charge protéique seront détectées, soit environ 8% des mutations d'ADN. La technique est simple et peut être mise en œuvre sans aucune connaissance de la génétique des espèces. La limitation est que le nombre de loci analysés est faible (entre 20 et 50 loci, aucun de ces loci n'est polymorphe), et de plus, ils ne sont pas tous accessibles (**Rognon et Verrier, 2007**).

## **3.2.2 Marqueurs moléculaires**

### **a. Introduction**

Les progrès de la génétique moléculaire et la fourniture d'outils et de techniques de biologie moléculaire permet désormais de mettre l'accent sur la variation génétique Niveau ADN. Ces dernières années, l'utilisation de marqueurs génétiques a augmenté, notamment en raison des marqueurs microsatellites et de leur caractérisation par des réactions PCR et des SNP à l'aide de puces à ADN. Ces marqueurs permettent la construction des cartes génétiques denses chez l'homme et de nombreuses espèces animales.

Les marqueurs sont utilisés pour décrire la variation génétique et sa distribution dans les populations et les espèces, ainsi que le mécanisme d'évolution des populations. Réflète cette description. Le choix des marqueurs dépend d'un ensemble précis d'objectifs et de moyens des utilisateurs.

## **b. Concept de marqueurs moléculaires**

Les marqueurs génétiques peuvent distinguer plusieurs génotypes à un locus donné. Diffusion selon la loi mendélienne. Il correspond à une séquence d'ADN et peut exister sous différentes formes ou allèles.

Aujourd'hui, de nombreux marqueurs génétiques peuvent être trouvés et organisés en cartes génétiques pour la plupart des espèces animales.

Les caractéristiques principales des marqueurs génétiques (polymorphisme et liaison génétique) permettent d'identifier et de suivre les fragments chromosomiques et de détecter les principaux QTL et QTN impliquant le déterminisme génétique des traits d'intérêt.

- Le polymorphisme détermine l'origine parentale d'un allèle à un locus donné. Par conséquent, nous pouvons distinguer le locus de la mère et le locus du père.
- La liaison génétique peut généraliser les observations d'un locus spécifique à n'importe quel fragment d'ADN entourant le locus. La taille de ce segment correspond à la région chromosomique sur laquelle aucune recombinaison n'a été observée entre le locus et le segment qui l'entoure. Le locus devient un marqueur du fragment et de tous les gènes qu'il contient. Plus le marqueur est efficace, plus le fragment ciblé est court, ce qui limite le taux de recombinaison entre le gène et le marqueur.

Les techniques de détection du polymorphisme sont apparues dans les années 1980 avec le développement de la détection RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) (**Botstein et al. 1980**). Les RFLP sont largement utilisés, mais dans la pratique, ils se sont révélés assez limités et difficiles à réaliser à grande échelle. Seule la découverte de microsatellites a permis de réaliser des projets de cartographie génomique à grande échelle. L'avènement des puces à ADN a encore amplifié ce phénomène.

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

L'ADN mitochondrial (ADNmt) peut être transmis à la mère sans recombinaison, ce qui peut accumuler des mutations dans chaque lignée (**Harrison, 1989**). On pense que son taux d'évolution est 5 à 10 fois plus rapide que celui de l'ADN nucléaire (**Brown et al, 1979; Vawter et Brown, 1986**). Presque toutes les séquences d'ADN mt sont codées, ces gènes sont continus et ne contiennent pas d'introns.

Les parties non codantes sont limitées à des séquences courtes et une partie plus longue correspondant à l'origine de réplication (boucle D). Plusieurs études ont montré que l'utilisation de polymorphismes dans la partie très variable de l'ADN mitochondrial peut être

utilisée efficacement pour l'identification intraspécifique et interspécifique (**Kavar et al, 2002; Bowling et al, 2000; Hill et al, 2002; Yang et al, 2002; Aberle et al, 2007**). Selon les recherches menées par **Baumung et al, (2004)**, 37% des études de caractérisation sont basées sur des études de polymorphisme de l'ADNmt.

#### **d. Marqueurs RFLP**

La méthode de démonstration du marquage RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de restriction) combine l'utilisation d'enzymes de restriction et de sondes génétiques (**Botstein et al, 1980**). Cette méthode est laborieuse dans sa forme initiale ou méthode méridionale et ne peut pas traiter facilement un grand nombre d'individus. Cependant, l'utilisation de cette méthode en combinaison avec la PCR permet d'étudier les polymorphismes de restriction de nombreux gènes (**Klungland et al, 1995; Lagziel et al, 2000**). Ces marqueurs sont toujours utilisés. **Baumung et al, (2004)** estiment que 17% des recherches utilisent ces marqueurs pour caractériser les races domestiques.

#### **e. Marqueurs RAPD**

Un autre type de marqueur moléculaire RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) récemment développé est basé sur la preuve du polymorphisme généré par amplification aléatoire de fragments d'ADN à l'aide d'amorces dont les séquences ont été arbitrairement définies (**Williams et al, 1990**) Cette méthode est généralement utilisée dans la cartographie phytogénétique et la génétique des populations. Elle peut générer des marqueurs dominants (pour un locus donné, il n'y a pas de différence entre homozygote et hétérozygote).

**Rao et ses collaborateurs, (1996)** ont utilisé la méthode RAPD pour distinguer génétiquement les espèces domestiquées à l'échelle intraspécifique. **Rincon et al, (2000)** ont utilisé des marqueurs RAPD pour étudier la variabilité génétique des races créoles bovines. Cependant, la reproductibilité et la dissémination de ce marqueur limitent son application chez les animaux (**Black, 1993; Karp et al, 1996**).

#### **f. Marqueurs AFLP**

Les marqueurs AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ont été étudiés par une méthode développée en 1995 (**Vos et al, 1995**). Il s'agit d'une technique liée à la technique utilisée pour RAPD. Il est basé sur une amplification sélective de fragments de restriction obtenus par digestion d'ADN génomique. Son principe général repose sur trois phases successives: digestion-ligature, amplification pré-sélective et amplification sélective. Le produit final de ces amplifications est visualisé sur un gel de polyacrylamide grâce aux extensions d'amorce fluorescentes. A l'instar de la technique utilisée pour RAPD, la technique

AFLP ne nécessite aucune connaissance préalable du génome étudié. Il permet un développement rapide, présente une bonne reproductibilité et génère un grand nombre de marqueurs (Vos *et al*, 1995; Ajmone-Marsan *et al*, 1997).

Parmi les marqueurs moléculaires, ces derniers sont les moins utilisés dans la caractérisation, 7% des études de caractérisation des races domestiques sont réalisées à l'aide de l'AFLP (Baumung *et al*, 2004).

#### **g. Marqueurs minisatellites**

Un autre type de marqueur moléculaire polymorphe connu sous le nom de minisatellites hypervariables a été découvert dans les années 1980 (Jeffreys *et al*, 1985). Ces minisatellites sont constitués de répétitions de chaînes en tandem d'un motif allant de 15 à 70 nucléotides de longueur. Ces séquences, avec un nombre variable de répétitions, sont appelées mini-satellites par analogie avec le « vrai » ADN satellite, qui se situe au niveau de l'hétérochromatine. Les mini satellites appartiennent à la catégorie VNTR (nombre variable de répétitions en tandem). En raison de la variation du nombre de motifs récurrents les constituant, ils présentent des polymorphismes grands et petits. Ces éléments sont largement distribués dans les génomes de mammifères, avec une moyenne d'un mini-satellite apparaissant tous les 100 kb. La technique d'étude de ces éléments est appelée technique d'empreinte génétique, qui a été largement utilisée en génétique des populations.

Par conséquent, Trommelen *et al*, (1993) proposent des mini-satellites comme outil d'identification de la paternité chez les bovins. Cependant, des difficultés avec les quantités d'ADN requises, la visualisation et l'identification des allèles ont rapidement limité l'utilisation de ces marqueurs.

#### **h. Marqueurs microsatellites**

L'une des principales méthodes utilisées aujourd'hui est de mettre en évidence le polymorphisme du locus microsatellite ou STR (simple répétition en tandem). Cette dernière est une séquence d'ADN composée de répétitions en tandem de motifs de 1 à 6 Pb (Chambers et MacAvoy, 2000) (Figure 19).



**Figure 19.** Séquence contenant une répétition GTn (**Bautista Salas, 2009**).

En raison de leurs caractéristiques biologiques et techniques, ces loci sont devenus des marqueurs de sélection pour analyser la diversité entre races. En effet, chez les eucaryotes, les microsatellites sont très abondants (de 50 à 100 000 selon les espèces) et sont bien répartis dans le génome (**Rognon et Verrier, 2007**).

Le nombre de microsatellites de type (TG) est le plus important, et leur fréquence varie selon les espèces considérées (**Beckman et Weber, 1992**). Les polymorphismes de ces séquences sont des polymorphismes de longueur, qui sont provoqués par des changements dans le nombre de répétitions du motif de base. Concernant le processus de sélection, les microsatellites présentent une distribution uniforme sur le génome, avec des points communs, des allèles multiples et une neutralité a priori.

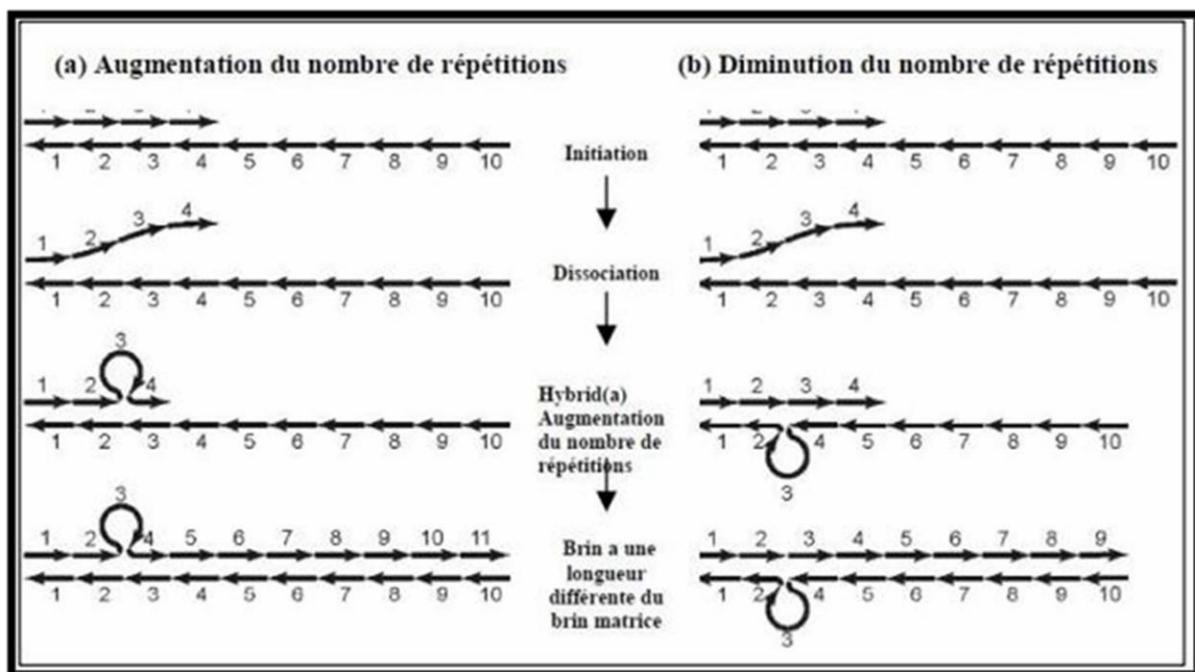
Outre ces caractéristiques, du fait du taux de mutation élevé, le polymorphisme de ces marqueurs est également élevé, car en moyenne, on peut considérer le taux de mutation de chaque site, de chaque gamète et de chaque génération d'environ  $10^{-4}$  mutations (**Boichard et al, 1998**). Ces mutations peuvent être produites par deux mécanismes, à savoir la recombinaison inégale qui constitue le premier mécanisme.

En effet, les erreurs de mésappariement sont courantes dans les régions de répétition en tandem, étant donné la forte homologie de séquence entre les répétitions. Chaque croisement au cours de ces mésappariements provoque une augmentation du nombre de répétitions sur une chromatide et une diminution du nombre équivalent de répétitions sur l'autre (**Cooper et al, 1995**).

Le deuxième mécanisme capable de générer des mutations est le glissement intra-chromatidien (slippage), qui a été décrit par **Levinson et Gutman en 1987 (Figure. 20)**. Ce modèle se compose de trois étapes:

- Étape initiale: le brin complémentaire de la séquence répétitive est synthétisé par La polymérase.
- Étape de dissociation: Lorsque la polymérase traverse la région de répétition, le brin nouvellement synthétisé est dissocié du brin matrice.

Étapes de ré-hybridation et erreurs d'alignement: Deux cas sont possibles: l'ajout d'unités répétitives: l'extrémité 3' du brin nouvellement synthétisé est ré-hybridée avec la région complémentaire en amont du brin matrice. Un anneau est donc formé dans la nouvelle chaîne. Par conséquent, la polymérase ajoutera des unités de répétition supplémentaires. La deuxième hypothèse est d'éliminer les unités répétitives: ce mécanisme est presque le même que l'ajout d'une unité, sauf que le cycle se fait au niveau du brin matrice. Par conséquent, la polymérase synthétisera une séquence moins répétitive.



**Figure 20.** Modèle de "slippage réplication" permettant d'expliquer l'augmentation ou la diminution du nombre de répétitions dans un microsatellite (**Bautista Salas, 2009**).

Outre leurs propriétés génétiques, les microsatellites ont une grande importance technique. En effet, le génotypage des microsatellites est basé sur l'utilisation de la technique PCR, une procédure relativement simple et rapide suivie d'une migration des fragments amplifiés sur un gel d'acrylamide. Plusieurs locus peuvent être testés simultanément lorsque les amorces utilisées sont marquées avec des fluorophores de couleurs différentes (PCR multiplex). Ces

caractéristiques techniques facilitent donc l'utilisation de microsatellites pour des études de population à grande échelle.

L'intérêt pour l'utilisation de microsatellites dans la recherche en génétique des populations est récent. Les microsatellites ont d'abord été utilisés dans l'étude des populations humaines, puis utilisés dans les races domestiques pour évaluer la variabilité génétique au sein et entre les races (**Ollivier et al, 2000**).

En effet, le potentiel des microsatellites comme marqueur pour mesurer la variabilité génétique des populations semble considérable (**Bruford et Wayne, 1993**). Il y a de plus en plus de recherches sur la variabilité génétique des différentes espèces basées sur les microsatellites, ce qui montre que dans les systèmes disponibles aujourd'hui, les microsatellites sont très efficaces pour caractériser et étudier la relation phylogénétique entre les populations. Ils sont utilisés en raison de leur stabilité biologique, de leur taux de mutation élevé et de leur dispersibilité dans le génome. Ces marqueurs sont largement utilisés dans les études de caractérisation du bétail. **Baumung et al, (2004)** ont estimé que 90% de ces études utilisaient ces marqueurs.

Actuellement, pour la plupart des animaux domestiques, la FAO a publié une liste de références pour les locus microsatellites (**FAO, 2004**) pour comparer les résultats d'analyses obtenues par différentes espèces animales et plusieurs groupes de recherche. Dans le monde. De plus, l'une des applications les plus développées des microsatellites chez les animaux d'élevage est aujourd'hui la détection de gènes majeurs ou de groupes de gènes impliqués dans le déterminisme des traits économiques de QTL (Quantitative Trait Locations) tels que la production de viande, la production de lait, la résistance aux maladies, la croissance ... etc. En effet, l'identification de ces régions permettra d'établir une sélection assistée par marqueurs moléculaires pour améliorer l'efficacité de la sélection animale (**Montaldo et Meza-Herrera, 1998**).

La variation génétique est réduite dans les populations qui ont subi la pression de sélection. le but est de conserver ce dernier afin de poursuivre le progrès génétique sur le QTL qui a été sélectionné, ou de retransformer l'objectif de sélection en caractères rarement ou non considérés. Aujourd'hui. Cette gestion peut être réalisée grâce à l'utilisation des microsatellites.

### **i. Marqueurs SNP**

Les SNP sont utilisés comme alternative aux microsatellites dans les études de diversité génétique. Plusieurs technologies de détection et de typage des marqueurs SNP sont

disponibles (Syvänen, 2001). En tant que marqueur biallélique, le SNP a une quantité d'informations relativement faible. Pour atteindre le niveau d'information d'un panel standard de 30 locus microsatellites, un plus grand nombre doit être utilisé. Cependant, l'évolution des technologies moléculaires augmente le degré d'automatisation et réduit le coût du typage SNP, ce qui dans un proche avenir permettra probablement l'analyse parallèle d'un grand nombre de marqueurs à un coût réduit. Dans cette perspective, des projets à grande échelle pour plusieurs animaux d'élevage sont mis en œuvre pour identifier des millions de SNP (par exemple, (Wong *et al*, 2004)), vérifier des milliers de SNP et identifier des haplotypes dans le génome. De même, pour les informations de séquence, SNP permet une comparaison directe et une analyse conjointe de différentes expériences. Les SNP peuvent être des marqueurs intéressants pour les études de diversité génétique car ils peuvent facilement être utilisés pour l'évaluation de la variation fonctionnelle ou neutre. Cependant, l'étape initiale de recherche de SNP ou de sélection de SNP dans la base de données est cruciale. SNP peut passer différents protocoles expérimentaux (tels que le séquençage, Polymorphisme co-constructif simple brin (SSCP) ou dénaturation par chromatographie liquide haute performance (Chromatographie liquide haute performance dénaturant DHPLC) ou simulation par ordinateur, alignement et Comparez plusieurs séquences dans la même zone dans une base de données publique Sur l'étiquette d'expression du génome et de la séquence (EST). Puisque les données sont obtenues au hasard, les estimateurs standards des paramètres génétiques de la population ne peuvent pas être appliqués. Un exemple courant est que les SNP qui sont initialement identifiés dans un petit échantillon (panel) d'un individu sont ensuite typés dans un plus grand échantillon de chromosomes. L'échantillonnage SNP est le meilleur Dans le cas des fréquences intermédiaires, une telle concordance affectera la distribution des fréquences alléliques par rapport à la valeur possible d'un échantillon aléatoire (Nielsen et Signorovitch, 2003; Clark *et al*, 2005).

#### **j. Technologie des puces à ADN:**

Une nouvelle méthode pour étudier l'interaction de nombreux gènes entre eux et le contrôle de grands groupes de gènes simultanément par des réseaux cellulaires de régulation. Cette méthode utilise un robot pour appliquer de minuscules gouttelettes très précisément Contient de l'ADN fonctionnel sur des lamelles en verre. Puis les chercheurs se joignent à marqueurs fluorescents sur l'ARNm ou l'ADNc de la cellule d'essai. Nous les laissons Les sondes marquées se lient aux brins d'ADNc sur les lamelles. Les lamelles sont placées dans un microscope à balayage qui peut mesurer la luminosité de chaque point fluorescent; la clarté révèle la quantité d'ARNm spécifique présente, ce qui indique l'étendue de son activité.

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

Les informations obtenues grâce aux méthodes de caractérisation peuvent faciliter la prise de décision. Comprendre les points clés de la gestion des ressources zoogénétiques à travers différents groupes d'intérêt, y compris les agriculteurs, les gouvernements nationaux et régionaux, et Organisations internationales (FAO, 1992; FAO / PNUE, 1998). Ces décisions politiques visent à promouvoir le développement des ressources zoogénétiques, tout en veillant à ce que ces ressources soient protégées pour les besoins des générations présentes et futures.

Un problème clé dans la gestion des ressources zoogénétiques au niveau national est la capacité de comprendre si la population d'une race particulière est autosuffisante ou menacée à un moment donné. Cette première évaluation (enquête de base) de l'état de la race ou de la population est basée sur des informations sur:

- La taille et la structure de la population;
- La distribution géographique;
- La diversité interraciale;
- La Relation génétique entre les races lorsque les populations existent dans plus d'un pays. Si la population n'est pas en danger (**Figure 21**), Aucune action immédiate des mesures de protection doit être prise. Cependant, une décision doit être prise, dans le cadre du plan de développement national, ciblez les animaux d'élevage menacés d'extinction. Dans ce cas, la procédure doit être exécutée L'amélioration génétique pour faire face à l'évolution des conditions environnementales, par exemple. Les informations sur les avantages à long terme pour les éleveurs et la société constituent la base de ces programmes de sélection. Si la race est menacée, des stratégies de conservation actives doivent être mises en œuvre sinon, il sera nécessaire d'accepter la perte potentielle de race. Pour allouer des ressources limitées disponibles pour les programmes de conservation, les races prioritaires doivent d'abord être définies. Ces décisions peuvent être fondées sur le caractère distinctif génétique, les traits adaptatifs, 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 de l'approche la plus prometteuse entre les stratégies de conservation in vivo ou in vitro, ou une combinaison des deux. Si les races à préserver existent dans plus d'un pays, les décisions doivent être prises au niveau international. Par conséquent, des institutions / organisations régionales de coordination ainsi qu'un soutien aux politiques nationales sont nécessaires pour faciliter la prise de décision et l'action.

Jusqu'à présent, très peu d'exemples d'actions conjointes entreprises par plusieurs pays dans le domaine de la gestion des ressources zoogénétiques ont été reçus.

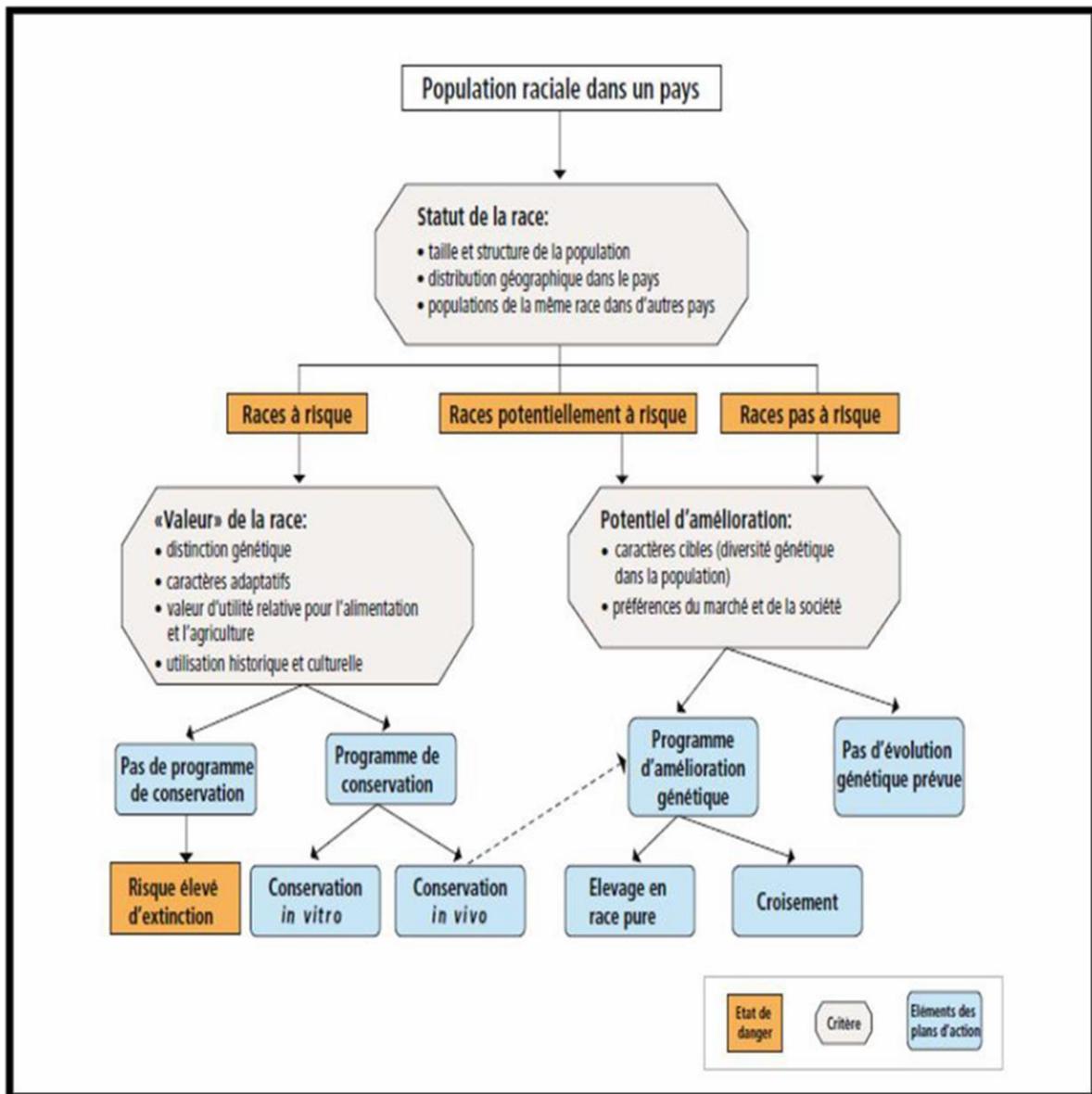


Figure 21 : Informations nécessaires pour l'établissement des stratégies de gestion. Tirée de (FAO, 2008).

**Populations d'Étude**  
**et**  
**Méthodes**

## **I. Populations d'étude**

### **1. Choix des animaux**

L'analyse de la diversité génétique des animaux d'élevage à partir de marqueurs moléculaires nécessite évidemment un échantillonnage des populations qui font l'objet de cette recherche. Tout d'abord, il est bien connu que l'exactitude des résultats dépend de la taille de l'échantillon. De plus, par exemple, si nous échantillonnons des individus de la même famille et donc génétiquement proches les uns des autres, les allèles portés par ce groupe risquent d'être surreprésentés et les résultats peuvent être biaisés.

En général, des échantillons de 20 à 50 individus de chaque race doivent être sélectionnés afin qu'ils soient pertinents. Cependant, le nombre d'individus échantillonnés peut varier d'un cas à l'autre, il peut être plus faible dans les populations locales fortement consanguines, et peut être plus élevé dans les cas où la population est largement répartie (divisée en différents types écologiques) (**Nei et Roychoudhury, 1974; Nei, 1978**). Dans l'idéal, l'échantillon devrait être représentatif de la population étudiée, c'est pourquoi la FAO recommande l'utilisation de normes géographiques, dans lesquelles chaque animal est échantillonné dans une zone géographique différente. Animaux ou très peu d'animaux (non apparentés) (**Parker et al, 2004**).

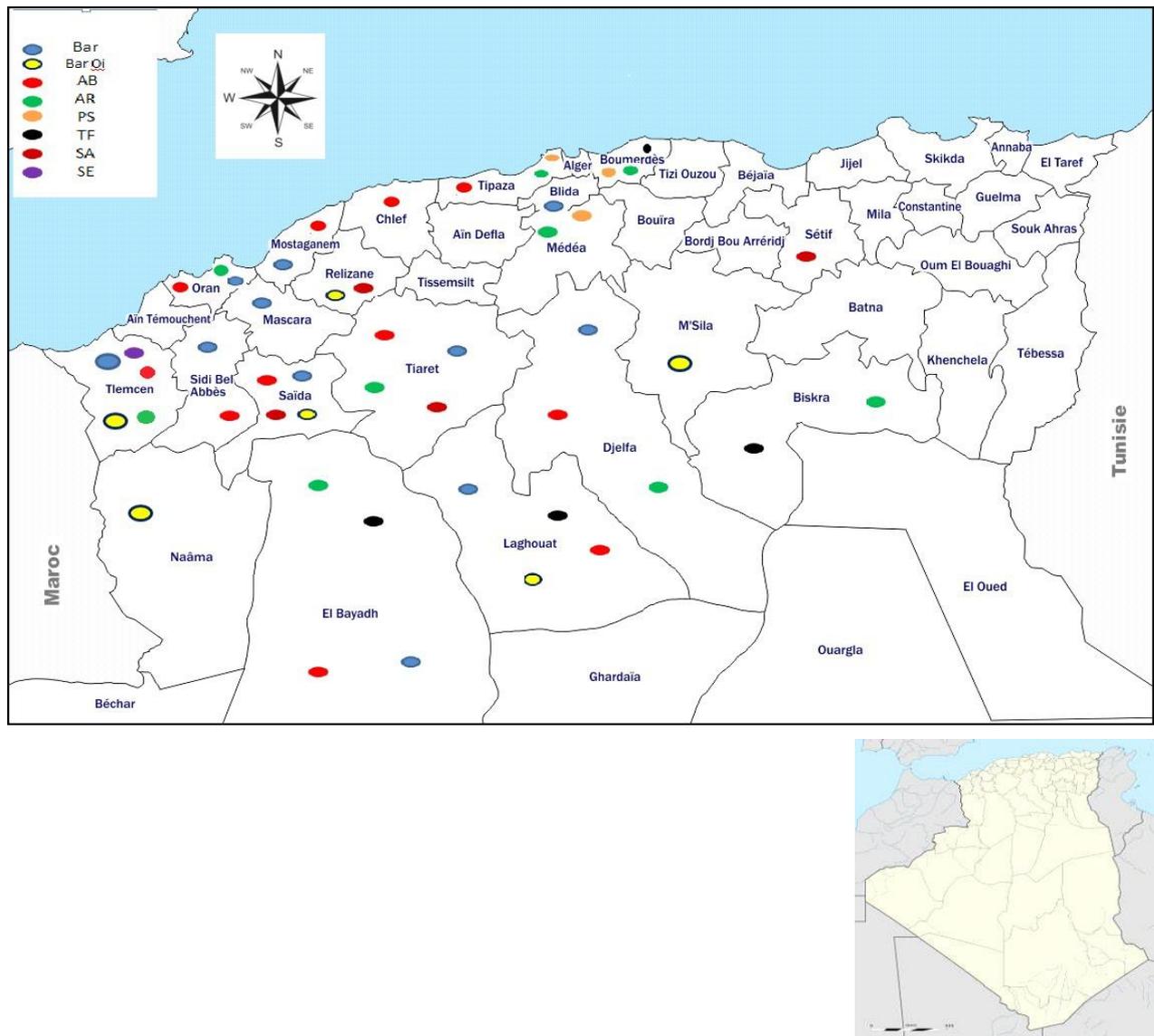
### **2. Echantillonnage des populations d'études**

74% (219 échantillons) des animaux de notre étude sont enregistrés au niveau du stud-book, les autres animaux (26% ; 77 animaux) ont été identifiés comme appartenant à une race donnée avec l'aide de l'ONEDEC (Office National du Développement de l'élevage équin et camelin) et de l'OMCB (l'Organisation mondiale du cheval Barbe). Dans le cadre de ce travail de recherche, une enquête sur site a été menée pour enrichir la banque d'ADN équin déjà existante et initiée par (**Berber N, 2014**). La période d'échantillonnage a duré 4 ans (2016/2017/2018/2019) et est assurée par la collaboration avec divers collaborateurs ; la direction des services agricoles (DSA), l'institut technique des élevages (ITELV), l'office national du développement de l'élevage du cheval et du chameau (ONDEEC), l'organisation mondiale du cheval Barbe (OMCB), Haras Nationale Tiaret " *jumenterie de Chaouchaoua* ", centre équestre et propriétaires de chevaux (agriculteurs et éleveurs amateurs).

A la fin de notre enquête 296 chevaux Algériens (inscrits au stud-book et d'origines inconnues) de la race et répondant aux critères d'échantillonnage définis précédemment ont été

échantillonnés ( **Tableau 2**).

Au total, 21 wilayas couvrant une grande partie du territoire national ont été explorées (**Figure 22**) (**Tableau 2**).



**Figure 22.** Carte des sites d'échantillonnage en Algérie pour les huit races équinées étudiées.

**Bar OI**, Barbe Origine inconnue ; **AB**, Arabe-Barbe ; **AR**, Pur-sang Arabe ; **BA**, Barbe ; **PS**, Pur-sang Anglais ; **TF**, Trotteur Français ; **SA**, Selle Algérien ; **SE**, Selle.

**Tableau 2.** Origine et nombre des échantillons des races étudiées

Race	Région d'échantillonnage	Nombre d'échantillon
<b>Barbe</b>	Tlemcen, Sidi Bel Abbes, El Bayedh, Saida, Oran, Mascara, Mostaganem, Tiaret, Laghouat, Djelfa, Blida	<b>57</b>
<b>Origine inconnue Barbe</b>	Tlemcen, Naama, Saida, Laghouat, Relzaine, Msila	<b>49</b>
<b>Arabe-Barbe</b>	Tlemcen, Sidi Bel Abbes, Oran, Saida, Mostaganem, Chlef, Tiaret, El Bayedh, Laghouat, Tipaza	<b>56</b>
<b>Arabe</b>	Tlemcen, El Bayedh, Oran, Tiaret, Médéa, Alger, Boumerdes, Djelfa, Biskra	<b>59</b>
<b>Trotteur Français</b>	El Bayedh, Laghouat, Biskra, Boumerdes	<b>26</b>
<b>Pur-sang Anglais</b>	Alger, Médéa, Boumerdes	<b>21</b>
<b>Selle Algérien</b>	Tiaret, Saida, Relizane, Sétif	<b>18</b>
<b>Selle</b>	Tlemcen	<b>10</b>
<b>Total</b>		<b>296</b>

## II. METHODES D'ANALYSES GENETIQUES

### 1. Extraction d'ADN et dosage

L'extraction d'ADN génomique à partir de sang total a été réalisée par la technique NaCl « Salting out » (Miller *et al*, 1988) au niveau du laboratoire de Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition (PpBioNut) de l'Université de Tlemcen. Cette méthode est simple, peu coûteuse et très rentable en termes d'extraction d'ADN par rapport à l'extraction par Kit génomique

Premièrement, l'échantillon de sang subit une élimination des globules rouges avec une solution de lyse hypotonique, suivie d'un choc thermique avec de la glace. Dans la deuxième étape, l'ADN des lymphocytes est libéré. L'ADN est ensuite traité avec la protéase K, qui le dépouille de toutes les protéines avec lesquelles il est lié. Il est ensuite précipité en ajoutant de l'éthanol froid sous forme de filaments, qui s'assemblent rapidement en une masse blanc cassé appelée méduse. Enfin, l'ADN pur est dissous dans du tampon TE 10/1 (Tris / HCl: 10 mM; EDTA: 1 mM; pH = 8,0) (Annexe 2).

L'ADN extrait est d'abord stocké dans des tubes étiquetés en fonction de la race et de la région de collecte, puis nous avons fait un aliquote de tous les échantillons dans lequel nous avons prélevé 50 µl d'échantillon d'ADN de la solution mère (concentré à 100%) pour ensuite tester leur qualité.

### 2. Contrôle de la qualité d'ADN et dilution

Cette étape et toutes les étapes de biologie moléculaire ont été réalisées au niveau du laboratoire d'analyse génétique Vétérinaire de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat Maroc. Nous avons effectué un test de qualité de l'ADN en utilisant un appareil fluorimétrique (Qubit 3 metic) (**Figure 23**) et un NanoDrop (Thermo) (**Figure 24**) en utilisant la spectrophotométrie en goutte, ce qui permet de déterminer la concentration d'ADN en solution et d'évaluer sa pureté. 2 µL de solution ont été mesurés par rapport à un contrôle approprié (matrice de solution d'ADN).



**Figure 23.** Appareil fluorimétrique (Qubit 3 metic).

**Principe :** Le fluorimètre Qubit est un instrument de laboratoire développé utilisé pour la quantification de l'ADN, l'ARN et des protéines et utilisé dans de nombreuses applications différentes.

Le fluoromètre Qubit utilise des colorants fluorescents pour déterminer la concentration soit d'acides nucléiques ou de protéines dans un échantillon. La méthode de l'absorbance UV utilise un spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance de la lumière naturelle à 260 nm (pour l'ADN et de l'ARN) ou 280 nm (pour les

protéines). Plus l'ADN, l'ARN ou de la protéine dans l'échantillon, plus la lumière est absorbée à cette longueur d'onde. L'absorbance est une propriété naturelle de l'ADN, l'ARN, des nucléotides libres, des protéines et des acides aminés et de nombreux autres composés aussi bien. Parce que tant de molécules absorbent la lumière à 260 nm, cette mesure est soumise à l'inexactitude en raison de la contamination potentielle de l'échantillon avec ces molécules. En outre, en utilisant le procédé d'absorption, il est impossible de faire la distinction entre l'ADN, l'ARN, une protéine ou nucléotides libres ou des acides aminés dans l'échantillon, ce qui conduit à des mesures potentiellement très imprécises.

**-Les colorants fluorescents :** Les tests Qubit (précédemment connu sous le nom-iT) Quant ont été développés et fabriqués par les précédentes sondes moléculaires (maintenant une partie de Life Technologies). Chaque colorant est spécifique pour un type de molécule (ADN, ARN ou protéine). Ils ont une fluorescence extrêmement faible jusqu'à ce lié à leur molécule cible. La différence de fluorescence entre colorant lié et non lié est de plusieurs ordres de grandeur. Lors de la liaison à l'ADN, probablement par intercalation entre les bases, il prend une forme plus rigide et devient intensément fluorescent. Une fois ajouté à une solution d'ADN, le colorant ADN Qubit se lie à l'ADN en quelques secondes et atteint l'équilibre en moins de deux minutes.

Lors d'une quantité spécifique du colorant, la quantité de signal de fluorescence à partir de ce mélange, est directement proportionnelle à la concentration d'ADN dans la solution, même en présence d'autres biomolécules. Le fluoromètre Qubit capte ce signal de fluorescence et la convertit en une mesure de la concentration d'ADN en se référant à des sondes d'ADN de concentration connue. Il utilise ensuite cette relation pour calculer la concentration d'un échantillon.

Le système de dosage de Qubit comprend les colorants suivants qui sont spécifiques pour différentes molécules biologiques et les concentrations (ds supports pour double brin, ss pour l'ADN simple brin).

**Tableau 3.** Le système de dosage de Qubit

Réactif / dosage	Plage de dosage	plage de concentration de départ de l'échantillon
HS qubit ADNdb dosage	0,2 à 100 ng	10 pg / pl-100 ng / pl

Qubit BR ADNdb dosage	2-1,000 ng	100 pg / pl-1 pg / pl
Qubit ADNss dosage	1-200 ng	50 pg / pl-200 ng / pl
Qubit ARN Assay	5-100 ng	250 pg / pl-100 ng / pl
Qubit ARN BR Assay	20-1,000 ng	1 ng / $\mu$ -1 pg / pl
Qubit dosage de protéines *	0,25-5 pg	12,5 ug / ml-5 mg / ml



**Figure 24.** NanoDrop2000c Thermo Scientific.

Le NanoDrop peut être utilisé, entre autres, pour mesurer l'absorbance d'une solution à 260 et 280 nm. L'ADN a la propriété d'absorber à 260 nm du fait de la présence d'un cycle dans ses bases azotées. L'absorption des protéines à 280 nm est due à la présence de résidus aromatiques

Pour l'ADN double brin, l'unité d'absorbance à 260 nm correspond à 50  $\mu$ g / ml De plus, le rapport  $A_{260} / A_{280}$  donne une valeur permettant de vérifier la pureté de la solution d'ADN. Si le rapport est compris entre 1,7 et 2,0, la solution est considérée comme une solution pure, supérieure à 2,0 est contaminée par de l'ARN et / ou du sel, et moins de 1,7 est contaminée par des protéines.

Le NanoDrop est le dispositif de dernière génération qui permet un dosage précis de la solution à partir de 2 µl en fonction de la source de photons générés par le flash au xénon. Le principe est le même qu'avec un spectrophotomètre conventionnel, sauf pour le volume d'échantillon ici, qui est de 2 µl. La lampe au xénon agit comme une source lumineuse, elle est filtrée par un filtre monochromateur, le faisceau lumineux traverse l'échantillon puis est détecté par un détecteur CCD. Les données sont traitées automatiquement avec un logiciel qui obtient directement la concentration d'ADN double brin en ng / µl ainsi que le rapport A260 / A280.

Afin d'effectuer différentes amplifications par PCR, les échantillons d'ADN présentant des concentrations élevées doivent être ajustés par dilution. En fait, ces échantillons finaux sont conservés à -20 ° C pour une analyse ultérieure.

### 3. Génotypage des marqueurs microsatellites par séquenceur automatique

Cette étape implique principalement l'amplification de microsatellites par une technique de PCR qui génère des fragments de longueur variable d'un allèle à l'autre. En marquant l'une des amorces avec un fluorochrome, nous pouvons déterminer la longueur exacte de chaque allèle microsatellite examiné par électrophorèse capillaire. Étant donné que le dispositif utilisé peut détecter cinq fluorochromes différents et que le même fluorochrome peut être utilisé pour plusieurs microsatellites différents (lorsque la taille maximale des fragments d'étiquette diffère de plus de 100 nucléotides de la taille minimale du microsatellite suivant dans l'ordre de grandeur de l'allèle), nous pouvons réaliser des multiplexes dans lesquels plusieurs marqueurs dans le même tube peuvent être renforcés.

#### 3.1. Principes des techniques

##### 3.1.1 Amplification des marqueurs microsatellites

###### a. Principe de la PCR classique

La PCR est une technique de biologie moléculaire développée par **Mullis en 1985**. En raison de son activité polymérase, la Taq polymérase amplifie des fragments d'ADN double brin in vitro extrait de la bactérie thermophile "Thermus aquaticus" par un processus d'extension de deux amorces (sens et anti sens) de 20 à 25 nucléotides, qui sont complémentaires des 3' extrémités des deux brins d'ADN et entourent spécifiquement la séquence à amplifier. La PCR est basée sur un processus de cycle en trois phases (**Figure 25**) :

- *Dénaturation de l'ADN double brin :*

Cette étape implique la séparation de deux brins d'ADN par la chaleur (94 ° C à 92 ° C) en rompant les liaisons hydrogène. Les deux brins simples résultants peuvent alors servir de modèle pour la synthèse de nouveaux brins.

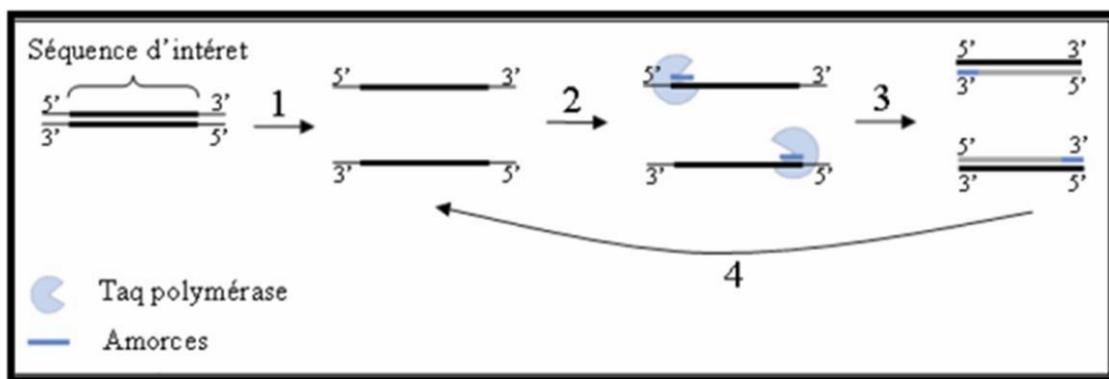
- *Hybridation des amorces :*

L'amorce s'hybride à n'importe quel ADN avec des séquences complémentaires. La température de cette étape est spécifique à chaque protocole de PCR car elle dépend de la longueur de l'amorce et de sa composition en oligonucléotide. Généralement, cette température est comprise entre 45 ° C et 65 ° C.

- *Élongation des amorces :*

Cette étape se déroule généralement à la température optimale pour l'ADN polymérase (72 ° C) et sa durée dépend principalement de la longueur de l'amplimère. La polymérase contient, à l'extrémité 3' de l'amorce appariée à la cible, des dNTP de « désoxynucléotides triphosphates » complémentaires de la séquence matrice avec laquelle elle est hybridée. De cette manière, chaque amorce est allongée dans la direction 5' à 3'. Il en résulte deux ADN bicaténaires.

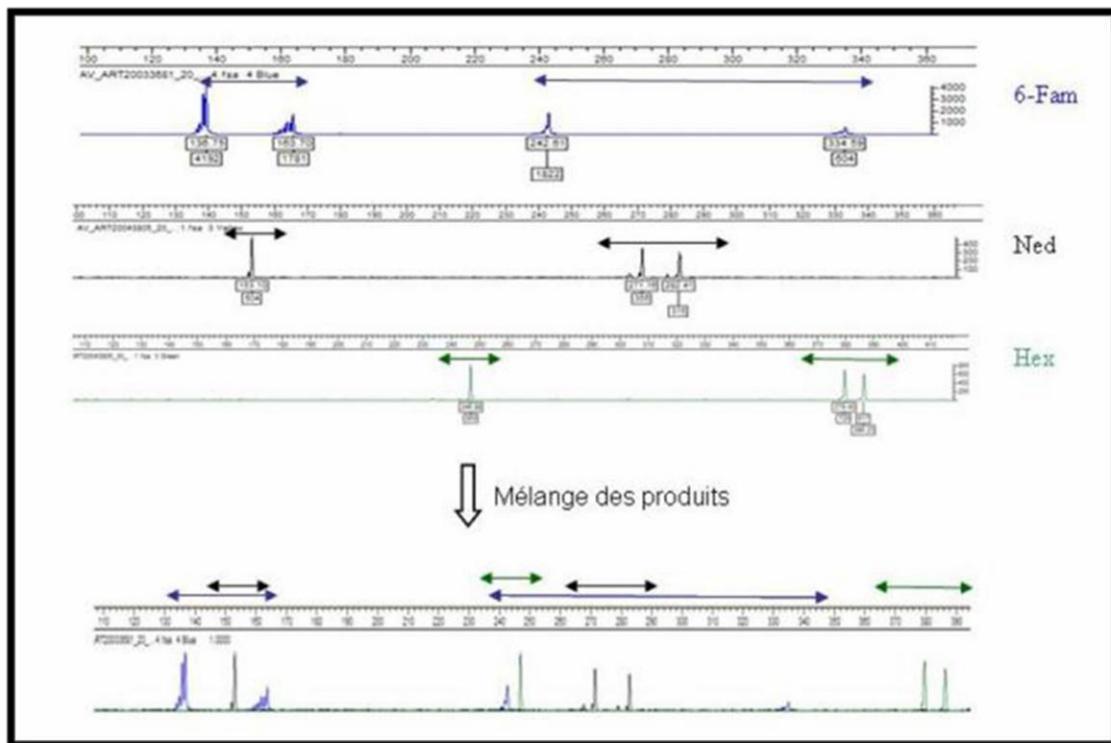
Dans le cycle suivant, le brin nouvellement synthétisé lui-même sera utilisé comme matrice pour initier l'étape de polymérisation de l'ADN polymérase. La répétition du cycle triphasé permet une amplification exponentielle de la séquence du génome cible, c'est-à-dire que l'amplification théorique est égale à  $2^n$  fois, où  $n$  représente le nombre de cycles d'amplification effectués. Cependant, le rendement réel de la réaction d'amplification d'ADN est d'environ 70%.



**Figure 25.** Schéma du principe de la PCR.

*1 : dénaturation du double brin d'ADN par chauffage ; 2 : hybridation des amorces ; 3 : synthèse de la séquence complémentaire au brin matrice ; 4 : ce cycle de 3 étapes est répété  $n$  fois.*

La PCR multiplexe implique l'amplification simultanée de plusieurs séquences cibles (au moins deux) dans le même tube d'amplification. Par conséquent, la réaction d'amplification comprendra des paires d'amorces flanquant plusieurs locus génétiques à amplifier. Étant donné que la concentration optimale du réactif, le temps de réaction et la température sont spécifiques à chaque paire d'amorces, veuillez prévoir ces différents paramètres pour obtenir des résultats satisfaisants. L'analyse par PCR multiplex nécessite également que différents fragments amplifiés aient des tailles différentes afin de pouvoir déterminer à partir de quel locus génétique ils proviennent. Vous pouvez également utiliser les amorces marquées. Les colorants fluorescents émettent de la lumière de différentes longueurs d'onde pour chaque site d'amplification. Cela permet de distinguer les allèles avec différents marqueurs qui ont plusieurs loci génétiques qui se chevauchent par rapport à la longueur du fragment (**Figure 26**). Cette méthode d'amplification réduit le temps d'analyse ainsi que le coût et la quantité de matériel génétique utilisé.



**Figure 26.** Exemple d'un résultat d'une PCR multiplex (Nikolic, 2009).

Chaque flèche horizontale représente un microsatellite, et la longueur des flèches la fourchette de tailles attendues pour ses allèles. Ici, nous avons représenté trois microsatellites par fluorophore (6-Fam, Ned et Hex) et nous pouvons voir l'importance des tailles dans l'élaboration de nos jeux de marqueurs pour qu'il n'y ait pas de recouvrement. Pour chaque marqueur la visualisation de 2 pics représente un individu hétérozygote et un seul pic un individu homozygote.

## **b. Électrophorèse capillaire**

Les fragments de PCR marqués par fluorescence ont été séparés par électrophorèse capillaire dans le système d'analyse génétique du séquenceur HTDS 3500 (Applied Biosystems /Hitachi) (**figure 27**).



**Figure 27.** Le séquenceur automatique HTDS 3500 (Applied Biosystems /Hitachi).

## **3.2. Protocole expérimental**

### **3.2.1. Choix des marqueurs et préparation des amorces**

Un panel de 17 marqueurs microsatellites a été sélectionné, tous ces marqueurs font partie du panel microsatellites, dont la plupart sont sur la liste de la FAO pour l'étude de la structure génétique des races équines à l'échelle mondiale. Ces marqueurs ont les caractéristiques suivantes :

- Ils sont très nombreux (de 50 à 100 000 selon les espèces) et ont une répartition homogène dans le génome (**Rognon et Verrier, 2007**).

- Ils sont co-dominants et très polymorphes (ou informatifs). Un marqueur est considéré comme informatif s'il peut faire la distinction entre deux descendants en fonction des allèles reçus de l'un des deux parents (**Boichard et al, 1998**).
- A priori, ces marqueurs sont neutres par rapport au processus de sélection. Ils sont le plus souvent localisés dans des régions non fonctionnelles du génome (non associées à des gènes fonctionnels sélectionnables).
- Outre ses caractéristiques génétiques, les microsatellites présentent un intérêt technique considérable. En fait, le génotypage de ces marqueurs est relativement simple et rapide, et surtout peu coûteux. Par conséquent, lorsque vous utilisez des fluorophores de couleurs différentes pour marquer les amorces (PCR multiplex), vous pouvez économiser de l'argent et augmenter le nombre d'individus à analyser et le nombre de marqueurs à étudier en même temps.

Un jeu de 17 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 17 microsatellites sont répartis en un seul kit: Le kit de génotypage de chevaux 17-Plex StockMarks (**PE AppliedBiosystems. Foster City. California. USA**) peuvent être effectuées en un seul cycle de PCR Amplifiez et effectuez le génotypage en une seule fois sur un instrument de débit. Le kit comprend 17 marqueurs microsatellites (VHL20, HTG4, AHT4, HMS7, HTG6, AHT5, HMS6, ASB23, ASB2, HTG10, HTG7, HMS2, HMS3, ASB17, Lex3, HMS1, CA425). Ceci a été accompli en utilisant un nouvel ensemble de cinq colorants fluorescents développés par Applied Biosystems (DS-31), avec quatre des colorants utilisés pour marquer les amorces d'amplification directe (6-FAM, VIC, NED et PET) dans chaque ensemble d'amorces. Les amorces marquées avec le fluorophore 6-FAM émettent dans le bleu, et celles marquées par le fluorophore VIC émettent dans le vert. Les amorces ayant le marquage NED (émettent dans le jaune) et PET (émettent dans le rouge). Les caractéristiques de ces marqueurs sont présentées dans le **tableau 4**.

Le nouveau kit équin contenait cinq locus supplémentaires (ASB17, LEX3, HMS1, CA425 et ASB23) en plus des 12 locus d'origine (VHL20, HTG4, AHT4, HMS7, HTG6, HMS6, HTG7, HMS3, AHT5, ASB2, HTG10, et HMS2) recommandé par l'International Society for Animal Genetics. Le kit fonctionne bien sur différentes plates-formes d'instruments (instruments ABI PRISM 377, 310 et 3100) et dans une large gamme de concentrations de matrice d'ADN (1 à 10 ng). Combiner ces 17 locus et les amplifier en un seul cycle de réaction en chaîne par polymérase (PCR), ce qui améliore considérablement les capacités de test statistique de l'analyse généalogique, tout en réduisant le temps et les efforts nécessaires pour effectuer ces opérations tester. Un standard de taille dans la voie marquée avec le cinquième colorant (LIZ) fournit une détermination précise de la taille pour le génotypage. Le nouveau kit 17-Plex Horse est conçu pour améliorer l'efficacité du laboratoire en génotypant plus de marqueurs en un temps plus court.

**Tableau 4 :** Noms des locus, emplacement des chromosomes, étiquette du colorant, et la gamme de tailles des produits amplifiés pour tous marqueurs utilisés dans le kit de génotypage 17-Plex Horse. (Applied Biosystems, Foster City, Calif, USA)

Microsatellites	Localisation chromosomique	Marquage	Taille des allèles (pb)
VHL20	30	6-FAM	83-102
HTG4	9	6-FAM	116-137
AHT4	24	6-FAM	140-166
HMS7	1	6-FAM	167-186
HTG6	15	VIC	74-103
AHT5	8	VIC	126-147
HMS6	4	VIC	154-170
ASB23	3	VIC	176-212
ASB2	15	VIC	237-268
HTG10	21	NED	83-105
HTG7	4	NED	114-126
HMS3	9	NED	146-170
HMS2	10	NED	215-236
ASB17	2	PET	104-116
LEX3	X	PET	137-160

HMS1	15	PET	166-178
CA425	28	PET	224-247

### 3.2.2 Amplification *in vitro* de l'ADN par PCR

La PCR a été réalisée en amplifiant 17 microsatellites couramment utilisés pour identifier et contrôler les chevaux. L'amplification de l'ADN a été réalisée à l'aide du kit de typage équin StockMarks (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), qui comprend des amorces marquées aux fluorophores, le kit contiendra des dNTP, AmpliTaq Gold® Polymerase (Applied Biosystems) et le tampon Stockmarks®. Les concentrations des différents composants sont optimisées par le fabricant afin de donner de bons résultats pour des fragments allant jusqu'à 1 Kb. Un seul cycle PCR est nécessaire pour le génotypage des équins. Montants de chacun des composants pour un cycle de PCR sont présentés dans le **tableau 5**.

La concentration finale pour chaque réactif utilisé pour la PCR est le tampon stock = 1,25 µL, D ntp = 2 µL, Taq = 0,25 µL, H2O = 1,5 µL et 1,5 µL d'ADN, le volume final de PCR mixte étant de 8,5 µL. La PCR a été réalisée dans Applied Biosystems Thermal Cycler (système GeneAmp PCR 2700). L'ADN a d'abord été dénaturé à 95 ° C pendant 15 minutes avant de subir 30 cycles d'amplification. Chaque cycle comprenait une étape de dénaturation à 95 ° C pendant 30 secondes, une étape d'hybridation à 60 ° C pendant 1 minute et une étape d'élongation de 46 secondes à 72 ° C. Après les 30 cycles d'amplification, une extension finale dure 60 minutes à 72 ° C pour optimiser l'action de la Taq polymérase.

**Tableau 5.** Composants de réaction en chaîne par polymérase (PCR) et la quantité de réaction standard.

Composant PCR	Montant (µL)
Stockmarks Buffer	1.25
dNTP mix	2
AmpliTaq Gold Polymerase	0.25
DNA Template	1.5
Eau déminéralisée	1.5

### 3.2.3 Dépôt sur le séquenceur

Pour chaque échantillon, on prend 40 µl de standard liz 500 et 1 µl de formamide, le tout est mélangé avec 1,8 µl d'ADN (produit de PCR) pour arriver à un volume final de 42,8 µl.

Les plaques ont été ensuite dénaturées à 95°C pendant 2 min, avant d'être placées dans le séquenceur sur un ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems) et les données ont été analysées en utilisant le logiciel GENEMAPER 5 (PE Applied Biosystems. Foster City. Californie, USA).

### 3.2.4 Génotypage des microsatellites

Lors de la migration du produit de PCR dans le capillaire de séquençage, le fluorophore est excité par le laser, et l'émission de fluorescence est expliquée par le programme Genemapper 5 (PE Applied Biosystems. Foster City. Californie, USA). Ce dernier permet de déterminer le génotype de chaque échantillon de chacun des 17 microsatellites étudiés. La norme de taille ROX 500 vous permet d'attribuer des tailles à différents pics d'intensité. Seules les cartes d'une intensité supérieure à 300 nm sont conservées pour le génotypage.

## III. METHODES D'ANALYSES STATISTIQUES

### 1. Logiciels utilisés

L'étude de la diversité génétique au niveau des espèces animales nécessite l'utilisation de méthodes statistiques spéciales exécutées par des programmes informatiques hautement spécialisés. En effet, avec le développement de la science bioinformatique et de la génétique des populations, certains logiciels statistiques ont été mis en service pour effectuer une analyse approfondie des données fournies par les marqueurs moléculaires (tels que les microsatellites et les SNP). Dans cette étude, nous avons utilisé 12 logiciels. Les tests réalisés par chaque logiciel sont mentionnés dans **le tableau 6**.

**Tableau 6 :** Logiciels utilisés Dans cette étude

Type de logiciel	Site web	Caractéristiques	Références
<b>GenAlEx 6.5</b>	<a href="http://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Welcome.html">http://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Welcome.html</a>	Calcule la diversité et la divergence génétiques. Test d'équilibre d'Hardy-Weinberg et les déséquilibres de liaison.	<b>Peakall and Smouse (2006, 2012)</b>
<b>Popgene 1.32</b>	<a href="https://sites.ualberta.ca/~fyeh/popgene_download.html">https://sites.ualberta.ca/~fyeh/popgene_download.html</a>	Analyse de la variation génétique entre et à	

		l'intérieur des populations naturelles en utilisant des marqueurs codominants et dominants et des traits quantitatifs	<b>Yeh et al. (1997)</b>
<b>Cervus 3.0.3</b>	<a href="http://www.fieldgenetics.com/pages/home.jsp">http://www.fieldgenetics.com/pages/home.jsp</a>	Analyse de la fréquence de l'allèle : Les tests de parenté utilisant la vraisemblance nécessitent des fréquences alléliques. Simulation et analyse des parents	<b>Marshall, (2006) ; Kalinowski et al. (2007)</b>
<b>MEGA 6</b>	<a href="http://www.megasoftware.net/">http://www.megasoftware.net/</a>	MEGA est un outil intégré pour effectuer l'alignement automatique et manuel des séquences et inférer des arbres phylogénétiques.	<b>Tamura et al. (2013)</b>
<b>Dendroscope 3</b>	<a href="http://dendroscope.org/">http://dendroscope.org/</a>	Est conçu pour visualiser des arbres phylogénétiques de toutes tailles Et peut être utilisé pour une variété d'analyse des ensembles de données moléculaires	<b>Huson and Scornavacca, (2012)</b>
<b>Fstat 2.9.3</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 génétiques. (Wright's F-statistics (F <sub>IT</sub> , F <sub>IS</sub> , F <sub>ST</sub> ))	<b>Goudet, (2001)</b>
<b>Arlequin 3.5.2.2</b>	<a href="http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/Arlequin35.html">http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/Arlequin35.html</a>	Les analyses des données intra-population (informations statistiques sont extraites indépendamment de chaque population) et inter-population (les échantillons sont comparés les uns aux autres).	<b>Excoffier et Lischer (2010)</b>
<b>Genetix 4.05</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 génétiques (Analyse Factorielle Correspondant-AFC)	<b>Belkhir et al. (2000)</b>
<b>FreeNA</b>	<a href="http://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/software/FreeNA/">http://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/software/FreeNA/</a>	Détecte les allèles nuls au sein de marqueurs microsatellites	<b>Chapuis et Estoup, 2007</b>

<b>Phylip 3.696</b>	<a href="http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html/">http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html/</a>	Calculs de distances génétiques entre populations, construction d'arbres phylogénétiques ( <i>UPGMA / Neighbor Joining</i> ) à partir de matrices de distances.	<b>Felsenstein. (1989)</b>
<b>Structure 2.3.4</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	<b>Pritchard et al. (2000) ; Falush et al. (2007) ; Hubisz et al. (2009)</b>
<b>Structure Harvester 0.6.94</b>	<a href="http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/">http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/</a>	Le programme fournit un moyen rapide d'évaluer et de visualiser les valeurs de vraisemblance à travers de multiples valeurs de K et des centaines d'itérations pour faciliter la détection du nombre de groupes génétiques qui correspondent le mieux aux données.	<b>Earl and vonHoldt (2012)</b>

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

L'analyse de la variabilité des populations animales est basée sur deux niveaux de variabilité: la variabilité intra-population et d'autres variabilités inter-populations. Ces deux niveaux complémentaires. L'analyse des données de génotypage des marqueurs microsatellites nécessite une méthode statistique spéciale. Le but de cette méthode est de caractériser et de rechercher la structure et la proximité génétique des 8 populations équines algérienne.

D'une part, la première analyse statistique nous a permis de comprendre l'écart de la population étudiée par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg (EHW), ainsi que la structure de la population et la variabilité génétique. D'autre part, en attribuant des individus à un ou plusieurs groupes « cluster », en calculant la « distance génétique » avec l'arbre phylogénétique correspondant, en analysant multidimensionnel (AFC) et en appliquant des algorithmes basés sur la méthode bayésienne de clustering .

### **2.1 Équilibre de Hardy Weinberg**

L'équilibre Hardy-Weinberg est un principe fondamental de la génétique des populations car c'est un bon descripteur de la structure génétique des populations naturelles. Ainsi, idéalement là où il existe une panmixie pour une population de taille infinie et qui ne subit

aucune pression évolutive (dérive, migration, sélection, mutation), les fréquences des gènes et des génotypes ne diffèrent pas d'une génération à l'autre. C'est un équilibre pour la population.

Dans le cadre de cette étude, la caractérisation génétique de 8 races équines algérienne et la recherche de leur proximité génétique possible, à partir des différents paramètres calculés pour les 17 microsatellites étudiés. Ces paramètres sont :

## **2.2 Test de conformité à l'équilibre de Hardy-Weinberg**

L'équilibre de Hardy-Weinberg (EHW) a été prouvé au début du 20<sup>ème</sup> siècle par le mathématicien anglais GH Hardy et le médecin allemand W. Weinberg et déclare que « les fréquences des allèles restent stables de génération en génération. Dans une population diploïde idéale et ne dépendent que de la fréquence de la première génération ».

Dans le cas le plus simple, avec un locus à deux allèles (A) et (a) avec la fréquence des allèles (p) et (q), la loi EHW prédit que la fréquence génotypique pour un homozygote AA est  $p^2$ , hétérozygote (Aa) est  $(2pq)$ , et homozygote pour (aa) est  $(q^2)$ . Le concept d'équilibre dans ce modèle est soumis aux conditions suivantes:

- la population est panmictique ;
- la population est de grande taille ;
- il ne doit y avoir aucune sélection, mutation ou migration; et
- les générations ne se chevauchent pas, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de croisement d'individus appartenant à différentes générations.

Les perturbations de l'EHW indiquent une divergence génétique dans les populations. Cela dépend de quatre forces évolutives: la sélection, la mutation, la dérive génétique et le flux génétique, décrites dans le premier chapitre. Une conséquence de ces forces évolutives est la variation de la fréquence des allèles et de l'indice hétérozygote dans la population par rapport à l'EHW.

Des écarts par rapport à la panmixie peuvent donc résulter de la voie non panmictique de l'association du bétail (homogamie, hétérogamie, union entre apparentés, sélection reproductrice), de la fragmentation de la population en sous-populations, c'est-à-dire de l'effet Wahlund, et même d'introductions récentes et / ou de croisements entre différentes populations (hétérozygotie excessive).

Ces données peuvent être très utiles pour comprendre l'histoire de la population. Il faut également noter que l'échantillonnage crée parfois des biais en surreprésentant

certaines structures familiales. En revanche, la présence d'allèles nuls ainsi que la lecture d'artefacts ne sous-estiment l'hétérozygotie observée. Pour tester l'équilibre de Hardy-Weinberg, nous définissons l'hypothèse nulle H<sub>0</sub> (H<sub>0</sub>: la population est en équilibre de Hardy-Weinberg).

Nous calculons ensuite l'indice de fixation intra-population (FIS) de Wright, qui correspondrait à la perte actuelle d'hétérozygotie due à la consanguinité. Les résultats sont interprétés par rapport à un seuil prédéterminé (5%). Si la valeur P est inférieure à 0,05, l'hypothèse H<sub>0</sub> est rejetée, c'est-à-dire que la valeur FIS dans la population étudiée s'écarte significativement de l'équilibre de Hardy-Weinberg (déficit d'hétérozygotie si les valeurs FIS sont positives, et excès d'hétérozygotie si les valeurs FIS sont négatives). En revanche, si la valeur P est supérieure à 0,05, H<sub>0</sub> est prise, la valeur FIS n'est pas significativement différente de 0, et donc la population étudiée est dans l'équilibre Hardy-Weinberg.

### **2.3 Fiabilité des loci microsatellites**

#### **2.3.1 Détection des allèles nuls**

La problématique du génotypage pose de réels problèmes en termes de fiabilité des données. Pour déterminer si certains loci doivent être éliminés de l'analyse, le logiciel FreeNA (**Chapuis et Estoup, 2007**) a été utilisé pour estimer la fréquence des allèles nuls (l'erreur la plus courante) pour chaque locus et échantillon. Souvent rencontré).

#### **2.3.2 Taux de polymorphisme (PIC)**

Le taux de polymorphisme ou PIC "contenu d'information polymorphe" fournit des informations sur le polymorphisme marqué. Si les deux ensembles de descendants peuvent être distingués sur la base des allèles obtenus du parent, le marqueur est considéré comme informatif (**Boichard et al, 1998**). La valeur de PIC est dérivée de la somme de la probabilité que le marqueur fournisse des informations en fonction de la configuration génotypique du parent, et varie de 0 (monomorphe) à 1 (hautement différencié) (**Leroy, 2008**). Étant donné un locus avec n allèles, la fréquence de l'allèle i dans la population est p<sub>i</sub>, le PIC de ce locus est calculé comme suit:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - 2 \left[ \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n p_i^2 p_j^2 \right]$$

### **2.3.3 Déséquilibre d'association**

Ce paramètre permet de comprendre le comportement social qui contrôle l'hybridation des populations sauvages et la manière dont la reproduction se fait au niveau du bétail. Cela nous permet également de comprendre s'il existe des associations préférentielles entre les allèles de différents loci dans un environnement donné, ce qui peut nous informer sur les domaines possibles de la technologie animale. De plus, dans le cas d'écarts par rapport à l'EHW, cette analyse peut également apporter des réponses. Les paramètres ont été analysés à l'aide du logiciel Genepop (**Raymond et Rousset, 1995**). En utilisant la méthode de la chaîne de Markov pour comparer la valeur de  $\alpha$  avec la valeur sans biais de P, la cohérence entre les données attendues et les données observées est vérifiée (**Guo et Thompson, 1992**).

### **2.4 Analyse de la diversité intra-population**

Dans un premier temps, l'étude s'est concentrée sur l'analyse de la variabilité génétique dans la population étudiée. Analyser les génotypes obtenus à partir des microsatellites étudiés pour estimer les critères suivants:

#### **2.4.1 Richesse allélique**

Il représente le nombre total d'allèles à un locus donné. Cependant, si le nombre d'individus typés est petit et que les marqueurs sont hautement polymorphes, l'allèle peut être sous-estimé, de sorte que les allèles rares ont peu de chance d'être échantillonnés (**Rognon et Verrier, 2007**).

#### **2.4.2 Fréquences alléliques**

La fréquence allélique est la valeur principale qui sert de base à l'analyse statistique de la variation génétique d'une population, c'est-à-dire le pourcentage de toutes les données du même type d'allèle à un locus particulier de cette population (**Hartl, 1988**). Les fréquences des allèles ont été calculées pour chacune des races testées et tabulées à l'aide du logiciel GenAlEx 6.5 (**Peakall et Smouse 2006, 2012**).

Par conséquent, la fréquence de l'allèle échantillon est égale à deux fois le nombre de génotypes homozygotes pour cet allèle (car chaque homozygote porte deux copies de l'allèle) plus le nombre de génotypes hétérozygotes contenant cet allèle (Parce que chaque hétérozygote en porte un). Le nombre de copies) divisé par deux fois le nombre total d'individus de 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  $x$  :

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

- $n_{ii}$  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
- $lk$  : est le nombre d'allèles au locus  $k$

$$\sum_{i=1}^{lk} P_{ik} = 1$$

### 2.4.3 Taux d'hétérozygotie

Le pourcentage d'hétérozygotie à un ou plusieurs loci est généralement utilisé pour évaluer la variabilité génétique dans une population. La méthode la plus simple consiste à compter le nombre d'individus qui sont réellement hétérozygotes.

#### ➤ Taux d'hétérozygotie observé ( $H_o$ )

Le taux d'hétérozygote observé ( $H_o$ ) est calculé à partir du rapport du nombre d'animaux hétérozygotes au nombre total d'animaux typés pour le locus considéré.

#### ➤ Taux d'hétérozygotie attendue $H_e$

Sous l'hypothèse d'équilibre de Hardy-Weinberg, la formule suivante est utilisée pour calculer l'hétérozygotie théorique ( $H_e$ ) en fonction de la fréquence allélique déterminée à chaque locus:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^{lk} p_{ikx}^2$$

- ✓  $P_{ikx}$  est la fréquence d' $i$ ème allèle à ce locus  $k$
- ✓  $lk$  est le nombre d'allèles au locus  $k$ .

Et pour un ensemble de loci, une moyenne est ensuite calculée pour chacun de ces taux, observé et théorique.

➤ **Taux d'hétérozygotie non biaisé (Hnb)**

Permet la correction en fonction de l'échantillonnage. **Nei, (1978)** propose d'utiliser l'estimateur (Hnb) ou diversité génétique sans biais lorsque le nombre d'animaux testés est faible, il est calculé à l'aide de la formule suivante:

$$H_{nb} = \frac{2n(1 - \sum p_i^2)}{2n - 1}$$

Où

- $P_{ikx}$  étant la fréquence de l'allèle  $i$  au locus  $k$  dans la population  $x$ .
- $n$  est le nombre d'individus étudiés.

Le taux d'hétérozygotie observé, théorique et non biaisé ont été calculés à l'aide du logiciel GenAlEx 6.5 (**Peakall and Smouse, 2006; 2012**).

#### **2.4.4 Nombre efficace d'allèles**

Le nombre efficace d'allèles ( $A_e$ ) est défini comme l'inverse de la probabilité que deux marqueurs choisis au hasard aient le même allèle (**Rognon et Verrier, 2007**). Dans un locus donné, contenant plusieurs allèles indexés  $i$  et de fréquences appropriées  $p_i$  ( $\sum p_i = 1$ ), ce paramètre est exprimé comme suit (**Crow et Kimura, 1970**):

$$A_e = 1 / \sum_i p_i^2 = 1 / (1 - H)$$

Et

$$H = 1 - \sum_i p_i^2$$

Le nombre efficace d'allèles est un critère de variabilité au sein de la population, qui peut compléter l'analyse des fréquences alléliques. En fait, lorsque les fréquences alléliques sont toutes égales, elle est égale au nombre total d'allèles d'une race donnée, et plus la fréquence est déséquilibrée, plus elle est basse. Les allèles les plus fréquents sont ceux qui ont le poids le plus élevé dans la valeur calculée. Ce paramètre est calculé en fonction de la fréquence

allélique des microsatellites étudiés à l'aide du logiciel GenAlEx 6.5 (Peakall et Smouse 2006, 2012).

## 2.5 Analyse de la diversité inter-populations

La variabilité génétique entre les races est généralement exprimée en fonction de la distance génétique entre races. Celles-ci peuvent être transformées en mesures globales de diversité, en phylogénie ou classification (Ollivier *et al*, 2000).

### 2.5.1 Analyse de différenciation des populations

#### a. Nei statistiques (1973)

La variabilité entre les populations peut être comprise en mesurant le coefficient de différenciation génétique (GST) de Nei (1973), qui fait partie de l'analyse de décomposition hiérarchique de la diversité génétique. La diversité génétique totale (HT) de cette espèce peut être décomposée en diversité intra-population (HS) et diversité inter-population (DST). Les indices HT et Hs sont calculés sous l'hypothèse d'équilibre de Hardy-Weinberg et ne dépendent que de la fréquence allélique observée par la formule suivante:

$$H_T = H_S + D_{ST}$$

En effet, le coefficient de différenciation génétique (GST) indique, au sein d'un ensemble de populations, la part de la variabilité totale qui est due à des différences moyennes entre ces populations.

Il est calculé par le logiciel Fstat 2.9.3 (Goudet, 2001) selon la formule suivante :

$$Gst = (H_T - H_s)/H_T$$

L'indice  $H_T$  représente l'hétérozygotie attendue par individu, en supposant la population globale à l'EHW. En d'autres termes, c'est l'hétérozygotie attendue si toutes les sous-populations étaient regroupées en une seule unité panmictique. Si l'on note  $p_i^*$  la fréquence moyenne de l'allèle  $A_i$  sur l'ensemble des X sous-populations, on obtient :

$$H_T = 1 - \sum_i^k p_i^{*2}$$

L'indice HS représente la moyenne des He (taux d'hétérozygotie théorique par population) dans les X populations :

$$H_s = \frac{\sum_{i=1}^k H_{ch}}{X}$$

### **b. F statistiques de Wright**

Dans la population subdivisée, la complexité est divisée en trois niveaux: individu (I), sous-groupe (S) et population totale (T). Dans ce travail, la population liée à la région représente la sous-population, tandis que l'ensemble de la population représente la population globale. Afin de mesurer l'organisation de la diversité génétique dans la population, **Wright, (1978)** a défini les trois niveaux d'hétérozygotie à travers les paramètres suivants: HI, Hs et HT.

Il représente également l'hétérozygotie moyenne observée pour tous les gènes (ou locus) d'un individu. C'est aussi la probabilité d'hétérozygotie à un locus choisi au hasard. Donc, si Hi est l'hétérozygotie observée dans la i-ème sous-population, alors pour la sous-population X, nous obtenons la formule:

$$H_I = \sum_{i=1}^k H_i / X$$

Le second paramètre Hs indique l'hétérozygotie attendue par individu pour chaque sous-population en la supposant à l'équilibre Hardy Weinberg. Il représente aussi l'hétérozygotie attendue dans une sous-population supposée à l'équilibre Hardy-Weinberg où pi est la fréquence du ième allèle. Soit pour la Sème :

$$H_s = 1 - \sum_{i=1}^k p_{is}^2$$

On notera Hs\* la moyenne des Hs sur les X sous-populations :

$$H_s^* = 1 - \sum_{i=1}^k H_s / X$$

Enfin, le dernier paramètre  $H_T$  représente l'hétérozygotie attendue par individu, en supposant la population globale à l'équilibre Hardy-Weinberg. En d'autres termes, c'est l'hétérozygotie attendue si toutes les sous-populations étaient regroupées en une seule unité panmictique. Si l'on note  $p_i^*$  la fréquence moyenne de l'allèle  $A_i$  sur l'ensemble des  $X$  sous-populations, on obtient :

$$H_T = 1 - \sum_i^k p_i^{*2}$$

A partir de cette hétérozygotie, trois indicateurs sont générés:  $F_{IS}$ ,  $F_{ST}$  et  $F_{IT}$ . Ils mesurent l'écart de l'hétérozygotie par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg (EHW) à différents niveaux. Le premier indice  $F_{IS}$  est déterminé par la relation:

$$F_{IS} = \frac{H_S^* - H_i}{H_S^*}$$

Cet indice, appelé coefficient de consanguinité, mesure la réduction possible de l'hétérozygotie des individus au sein de leur sous-population. En cas de consanguinité, cet indice est positif et indique un déficit d'hétérozygotie. Évidemment, il prend la valeur zéro si les sous-populations sont à EHW. En revanche, s'il est négatif, les populations présentent un excès d'hétérozygotie. Entre les sous-populations et la population totale, l'effet de subdivision est exprimé par un indice similaire:

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S^*}{H_T}$$

Ce paramètre est appelé indice de fixation et correspond à une diminution de l'hétérozygotie de la sous-population associée à des différences de fréquences moyennes des allèles. L'indice fournit des informations sur la différenciation de la population et les effets de subdivision. Lorsque toutes les sous-populations ont la même fréquence d'allèle et sont en EHW, il prendra la valeur zéro. Sinon, l'effet Wahlund implique que  $H_T$  est supérieur à  $H_S$ , donc  $F_{ST}$  sera positif. Enfin, la formule suivante donne la réduction de l'hétérozygotie entre l'individu et la population globale théorique:

$$F_{IT} = \frac{H_T - H_I}{H_T}$$

Ces trois indices sont liés par la relation :

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

Si toutes les sous-populations sont dans EHW, alors  $F_{IS} = 0$ , donc  $F_{ST} = F_{IT}$ . En revanche, s'ils sont tous situés dans l'EHW et ont la même fréquence d'allèle, les trois indices seront tous nuls. Dans ce cas, il n'y aura plus de division des sous-populations et la population totale est en EHW. Comme déjà souligné, l'indice de liaison  $F_{ST}$  permet de quantifier le degré de diversité génétique entre les populations.

Les paramètres  $F_{IT}$ ,  $F_{IS}$  et  $F_{ST}$  déterminent respectivement les indices de fixation d'un individu d'une population, d'un individu d'une sous-population et d'une sous-population. Le  $F_{IT}$  et le  $F_{IS}$  mesurent la corrélation entre les gamètes d'une même personne choisie au hasard dans la sous-population et l'ensemble de la population, respectivement. Le  $F_{IS}$  permet de mesurer le déficit local moyen d'hétérozygotie par rapport à la structure de Hardy-Weinberg. La  $F_{IT}$  mesure le déficit global d'hétérozygotie dans l'ensemble de la population.

Alors que  $F_{ST}$  représente la corrélation entre deux gamètes tirés au hasard dans deux sous-populations différentes et renseigne sur le niveau de différenciation ou l'individualisation des sous-populations, déficit connu sous le nom de « effet de Wahlund »,  $0 \leq F_{ST} \leq 1$  (Nei, 1973). Le logiciel Popgene 1.32 (Yeh *et al*, 1997) a été utilisé pour le calcul de ces indices ; le niveau du test de signification est :  $p < 0,05$ .

### 2.5.2 Flux des gènes

La différenciation génétique entre les populations est favorisée par la dérive et limitée par le flux génétique entre les populations. La relation entre le nombre effectif d'immigrants par génération ( $Nm$ ) et la différenciation génétique  $F_{ST}$  est la suivante:

$$Nm = \frac{(1 - F_{st})}{4F_{st}}$$

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

Plusieurs méthodes ont été proposées pour résoudre les différences génétiques et les relations phylogénétiques entre les populations (Rognon et Verrier, 2007). Le calcul de la distance génétique a pour but de quantifier les différences entre les individus (dans notre cas, la race). Chaque groupe est défini par un certain nombre de critères (comme la fréquence allélique), à partir desquels la proximité ou la distance entre ces groupes peut être estimée. Le concept de « distance » équivaut à réduire les données à une seule valeur, qui représente la distance séparant les différents groupes.

Dans ce travail, nous avons utilisé deux fonctions pour calculer la distance entre paires de races selon l'approche classique basée sur la fréquence des allèles dans chaque race, en gardant la distance standard de Nei, (1972) et Reynolds, (1983). Calculé par les logiciels **Popgene** (Yeh *et al*, 1997) et **Phylip** (Felsenstein, 1993). Chacune de ces deux distances a des propriétés spécifiques et reste adaptée à ce type de recherche. Ils ont été sélectionnés spécifiquement pour leur utilisation actuelle dans ce domaine. Rappelons que ces deux distances ont été utilisées par 17 microsatellites de l'ensemble des 8 races algériennes.

### 2.5.3 Distances utilisées

#### a. Distance standard de Nei (1972)

Il est défini par le concept d'identité génétique. C'est le rapport de la probabilité que deux allèles choisis au hasard dans deux populations soient identiques (indiscernables et différents par descendance) à la probabilité que deux allèles obtenus à partir de la même population soient identiques. C'est la distance géométrique calculée en fonction de la fréquence allélique. Cette distance prend en compte le modèle mutation-dérive.

#### b. Distance de Reynolds (1983)

Cette mesure dérive de l'index de fixation Fst. Ce paramètre de distance génétique est estimé entre paire de populations stationnaires, de taille égale à 2 N et qui ont divergé il y a t générations selon la formule :

$$F_{st} = 1 - \left(1 - \frac{1}{2N}\right)^t \cong 1 - e^{-\frac{t}{2N}}$$

Si  $t$  est petit, alors :

$$F_{st} \approx \frac{t}{2N}$$

Reynolds a proposé de calculer les distances génétiques en fonction de ce paramètre par la formule suivante :

$$D = \ln(1 - F_{st}) \approx \frac{t}{2N}$$

Cette distance peut mesurer la différence de population due à la dérive génétique, elle convient donc pour une courte période lorsque les mutations peuvent être ignorées. Par conséquent, la distance de Reynolds est considérée comme la distance la plus appropriée pour étudier la relation phylogénétique entre les races de bétail (**Baumung *et al*, 2004; Toro et Lero, 2004; Negrini *et al*, 2006**). Cette distance est généralement appelée coefficient de coancestralité.

### **c. Corrélation entre matrices de distances génétiques**

Sur la base de différentes théories évolutionnistes, il peut être intéressant de comparer la matrice de distance génétique entre les populations entre elles.

Comme décrit dans le programme XLstat 5.03 (2014), nous avons effectué la corrélation entre deux matrices de distance (distance standard Nei et distance standard Reynolds) en utilisant le test de Mantel. Le test de Mantel consiste à étudier la corrélation entre deux ou plusieurs matrices par un processus de permutation (**Mantel, 1967**). La signification statistique du coefficient de corrélation a été estimée par analyse de permutation en utilisant 1000 répliques.

#### **2.5.4 Méthodes de construction des dendrogrammes**

Les dendrogrammes sont des diagrammes qui expliquent graphiquement les degrés de similitude entre les groupes et qui sont hiérarchisés en faisant la moyenne entre les distances (**Solignac *et al*, 1995**).

Après avoir calculé les distances de Nei et Reynolds, diverses méthodes ont été utilisées pour construire les dendrogrammes, en distinguant les hypothèses évolutives et les algorithmes. Nous avons choisi « Unweighted Pair Group Method Analysis » (UPGMA) (**Sneath et Sokal, 1973**) et « Neighbour-Joining » (NJ) (**Saitou et Nei, 1987**) car elles sont les plus couramment utilisées. Ces deux méthodes rassemblent des populations en commençant par la plus similaire à la moins similaire. Ainsi, dans un premier temps, les populations les plus proches sont

recherchées et regroupées. Une nouvelle matrice de distance est calculée, dont la méthode de calcul diffère selon la méthode (**Laliberté, 1998**).

#### **a. Méthode “UPGMA”**

C'est une méthode hiérarchique de construction d'arbre. Son principe repose sur le fait que la distance entre deux clusters (populations ou groupes de population) est égale à la moyenne arithmétique des deux par deux distances entre les membres des deux clusters. À chaque étape, les deux populations les plus proches seront agglomérées, et ainsi de suite jusqu'à ce que toutes les populations soient regroupées pour obtenir l'arbre final. Cette construction impose l'hypothèse que les vitesses d'évolution sont identiques entre les différentes branches de l'arbre, et donc la distance mesurée dans l'arbre entre deux populations est proportionnelle au temps de décalage entre ces dernières. Par conséquent, ces arbres sont naturellement enracinés.

#### **b. Méthode “Neighbor-Joining”**

L'algorithme aboutit à la construction d'un arbre où la distance entre deux objets est égale à la somme des branches qui les relie. Les longueurs des branches ne sont pas égales ici et ont une certaine signification: elles représentent la quantité d'évolution de l'objet depuis sa divergence.

Le principe de cette méthode est de déterminer les paires ou les voisins les plus proches pour minimiser la longueur totale de l'arbre. Deux voisins sont deux objets connectés par un seul nœud dans un arbre non enraciné (c'est-à-dire qu'il n'a pas d'origine et reflète la distance entre les unités sans le concept d'ascendance). La topologie de l'arbre sera obtenue par regroupement consécutif de paires adjacentes. Nous commençons par un arbre en étoile, où tous les objets sont à égale distance du nœud central, puis définissons des voisins de sorte que s'ils sont regroupés, la longueur totale de l'arbre est plus courte.

L'ensemble des dendrogrammes que nous avons produit a été obtenu en utilisant les logiciels Popgene 1.32 (**Yeh et al, 1997**) et Phylip (**Felsenstein, 1993**), à partir de la matrice de distance génétique de **Nei, (1972)**. Et **Reynolds, (1983)**, respectivement, entre les 8 populations équinaes étudiées avec 17 microsatellites.

La stabilité des branches obtenues dans les arbres est estimée à l'aide de la méthode dite Méthodes de ré-échantillonnage bootstrap (**Felsenstein, 1985**). Il consiste à dessiner et à changer le jeu de K caractères parmi les K caractères composant les données.

Finalement, le niveau de diversité de la population a été calculé à l'aide d'analyses hiérarchiques de variance moléculaire (AMOVA) réalisées par le logiciel GenAlEx 6.5 (Peakall et Smouse 2006, 2012). Il s'agit d'une analyse hiérarchique de la variance dont les données sont des distances génétiques entre individus et dont les hypothèses sont testées par des tests de permutation. Cette analyse nécessite d'identifier des groupes d'individus et d'affecter chaque unité à une sous-population au sein des groupes.

AMOVA décompose la variance totale en 3 composantes:

- Les variations entre les populations
- Les variations entre les individus à l'intérieur des populations
- Les variations dans les individus à l'intérieur des populations

### **2.6 Analyse factorielle des correspondances (AFC)**

L'analyse de correspondance factorielle (AFC) introduite par **Benzécri *et al*, (1973)** a été adaptée aux données génétiques diploïdes par **She *et al*, (1987)**. AFC place chaque individu dans l'hyperespace K-dimensionnel (K est le nombre total d'allèles présents dans tous les loci) et les projette dans des plans définis par des axes orthogonaux (et donc indépendants), ce qui explique le mieux la dispersion ponctuelle (même principe que la régression). La mesure de la précision de ces axes définis est le pourcentage d'inertie de chaque axe. Puisqu'il y a K axes, un axe représentant  $100 / K\%$  d'inertie ne veut rien dire. Ainsi, l'inertie n'est pas seulement proportionnelle à la quantité d'informations représentée par l'axe respectif, mais est également fonction du nombre total d'axes (plus il y a d'axes, plus chaque axe peut avoir une inertie très élevée). L'AFC est une procédure qui peut s'avérer utile pour classer les individus en fonction de leur proximité génétique.

Afin d'évaluer la relation phylogénétique entre les 8 races équines algériennes étudiées, les résultats du génotypage de 17 microsatellites ont été utilisés pour l'analyse de correspondance factorielle (AFC). Dans cette méthode, l'objet analysé est représenté sous la forme d'un nuage des points dans l'hyperespace, qui a autant de dimensions que la forme (race et individu). L'algorithme détermine une série d'axes de facteurs. Par convention, le premier axe est l'axe qui contribue le plus à l'inertie totale Genetix 4.03 (**Belkhir *et al*, 2002**).

## 2.7 Méthodes de clustering

La méthode développée par **Pritchard *et al*, (2000)** et décrit ci-dessus, par définition, peut être utilisée pour attribuer des individus à une population. De cette manière, chaque race forme un cluster (groupe de population).

Cette méthode définit les sous-groupes « K » en affectant des individus à un ou plusieurs groupes « cluster » avec un certain pourcentage, sans aucune information préalable pour savoir qu'ils appartiennent à un certain groupe. Démarrez l'analyse structurelle, le « vieillissement » est de 50 000, puis effectuez 100 000 itérations. Fixez K entre 2 et 9, puis effectuez vingt séries de simulation MCMC (Markov Chain Monte Carlo).

Afin de déterminer la valeur la plus probable de K et donc le nombre le plus probable de sous-populations, la courbe d'évolution de la probabilité logarithmique en fonction de K peut dans certains cas montrer un maximum ou un plateau en un point donné, qui est alors considéré comme la valeur optimale de K (**Pritchard *et al*, 2000**). Cette méthode ne réussit pas toujours, ce qui incite au développement d'une autre méthode de sélection de K (**Evanno *et al*, 2005**). Cette dernière méthode est basée sur la variation de second ordre du log-likelihood, qui semble être plus efficace pour certaines données (**Camus-Kulandaivelu, 2007**). Dans notre étude, nous avons estimé la valeur la plus probable de K en utilisant l'indice de second ordre  $\Delta(K)$  selon **Evanno *et al*, (2005)** en utilisant l'application en ligne de Structure Harvester 0.6.1 (**Earl et Vonholdt, 2011**).

## 2.8 Méthodes d'affectation des individus à une population

La capacité d'assigner un individu à une population est une approche particulière de l'étude de la diversité génétique entre les populations, car elle permet d'identifier la race de l'individu à partir de l'échantillon d'ADN de manière fiable. Cette affectation a également une utilité beaucoup plus pratique lors de l'inscription à titre initial d'un individu de généalogie inconnue à une race (**Leroy, 2008**).

L'allocation individuelle est définie comme la probabilité qu'un individu soit attribué à une race, qui est calculée selon l'algorithme proposé par **Paetkau *et al*, (2004)**. Le principe est d'ignorer les informations sur l'origine des races animales, de les classer en fonction de leur similitude avec les marqueurs microsatellites en fonction de leurs génotypes, de calculer la fiabilité de la classification dans un grand nombre de répétitions (10000) puis cette classification comparez l'origine ethnique. Le logiciel utilisé est GeneClass2 (**Piry *et al*, 2004**). Les critères de maintien de l'allocation sont les critères de **Rannala et Mountain,**

(1997), et l'individu est classé dans la population ayant la probabilité d'attribution la plus élevée.

Selon le génotype de chaque individu, la méthode de la fréquence calculée consiste à estimer la probabilité d'appartenir à une race différente et à l'attribuer à la race la plus probable. Supposons que la population soit dans un équilibre Hardy-Weinberg (**Gaouar, 2009**).

# Résultats & Discussion

## **I. RESULTATS D'ANALYSES GENETIQUES**

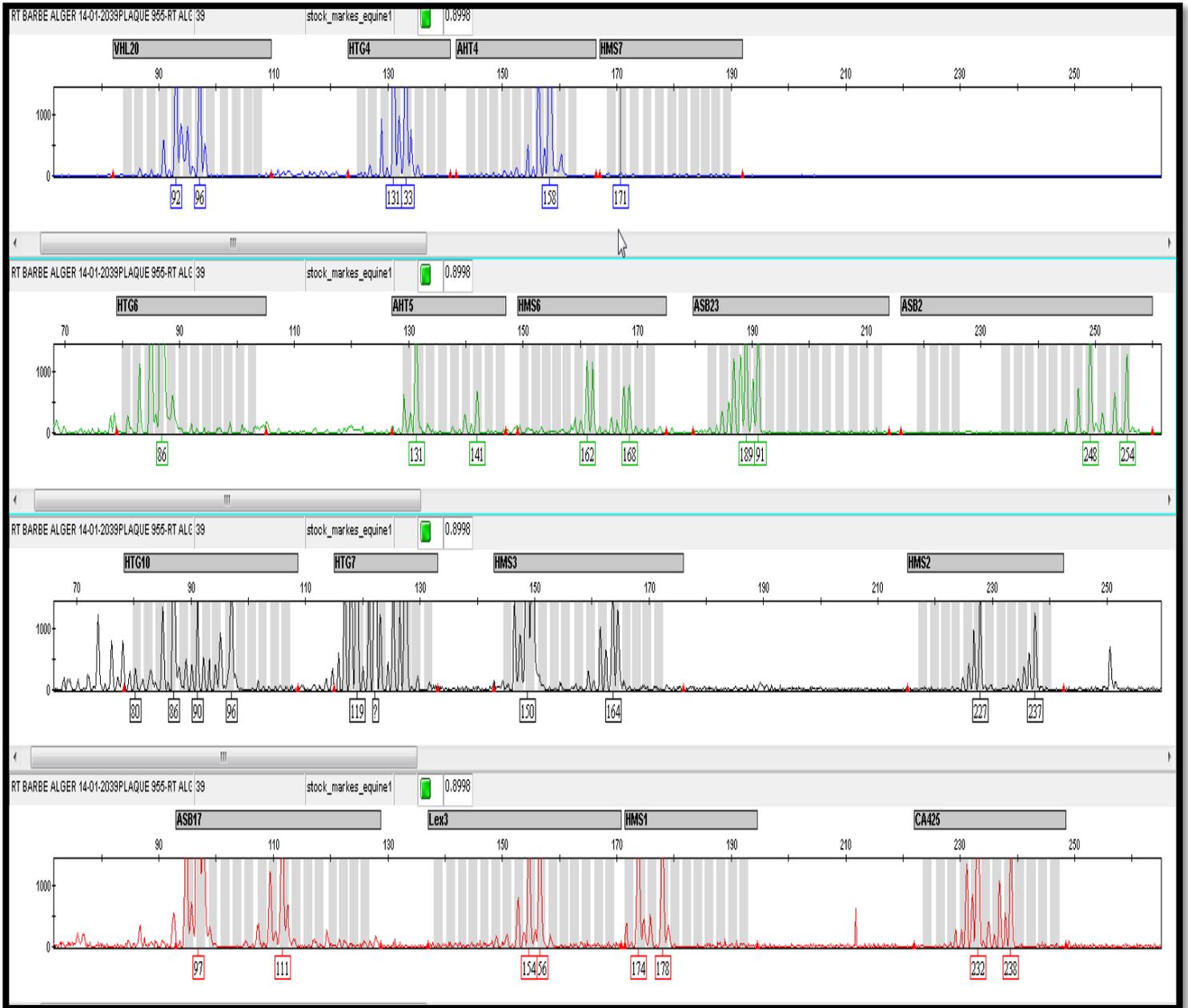
### **1. Qualité des ADN extraits**

Après analyse, du point de vue de la pureté de l'ADN, les échantillons d'ADN extraits par la méthode NaCl ont montré une bonne qualité et qu'elle que signe de contamination saline et protéique a été trouvé. D'autre part, tous les échantillons ont montré des concentrations très élevées supérieures à 1000 ng /  $\mu$ l, ce qui était dû à la nécessité de diluer l'ADN en excès de la solution mère. En utilisant la technologie de "Salting Out" de NaCl pour extraire l'ADN du sang de cheval entier, des résultats satisfaisants ont été obtenus en termes de pureté et de récupération de l'ADN extrait. Par rapport aux kits commerciaux, la technologie NaCl est rentable et peu coûteuse.

### **2. Résultat du génotypage des microsatellites**

Une fois l'opération d'analyse des fragments d'ADN par le séquenceur automatique terminée ; après lecture directe des résultats obtenus et spécification de la taille moléculaire réelle (Pb) des différents allèles génotypés, l'électrophorégramme obtenu est analysé manuellement. On a aussi observé l'apparition de pics à faible résolution qui sont due à des problèmes de niveau de qualité (pureté) de l'ADN ou à des erreurs techniques lors de la PCR, la raison pour laquelle des échantillons ont été éliminés.

Les données de génotypage sont représentées sous la forme d'une matrice, avec des étiquettes dans les colonnes et des individus dans les lignes. Chaque marqueur est représenté par deux formes génotypiques (homozygotes ou hétérozygotes) avec des tailles respectives en paires de bases (Pb) (**Figure 28**). Enfin, il convient de noter qu'en raison de l'échec de l'amplification de l'ADN, 17 échantillons (08 Barbe OI, 06 Barbe, 02 Arabe-Barbe, 01 Selle Algerien) ont été éliminées (donne un tableau montre qui montre qu'elles échantillons ont été éliminer), et aucune information n'a pu être observée après analyse des fragments. La matrice de données finale a été récupérée dans un fichier Excel qui contient 279 animaux génotypés par les 17 marqueurs microsatellites utilisés pour cette recherche.



**Figure 28.** Exemple d'un électrophorégramme obtenu pour 17 microsatellites marqués par les fluorophores (6-Fam, Vic, Ned et Pet). 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.

### 3. Erreur de génotypages des microsatellites

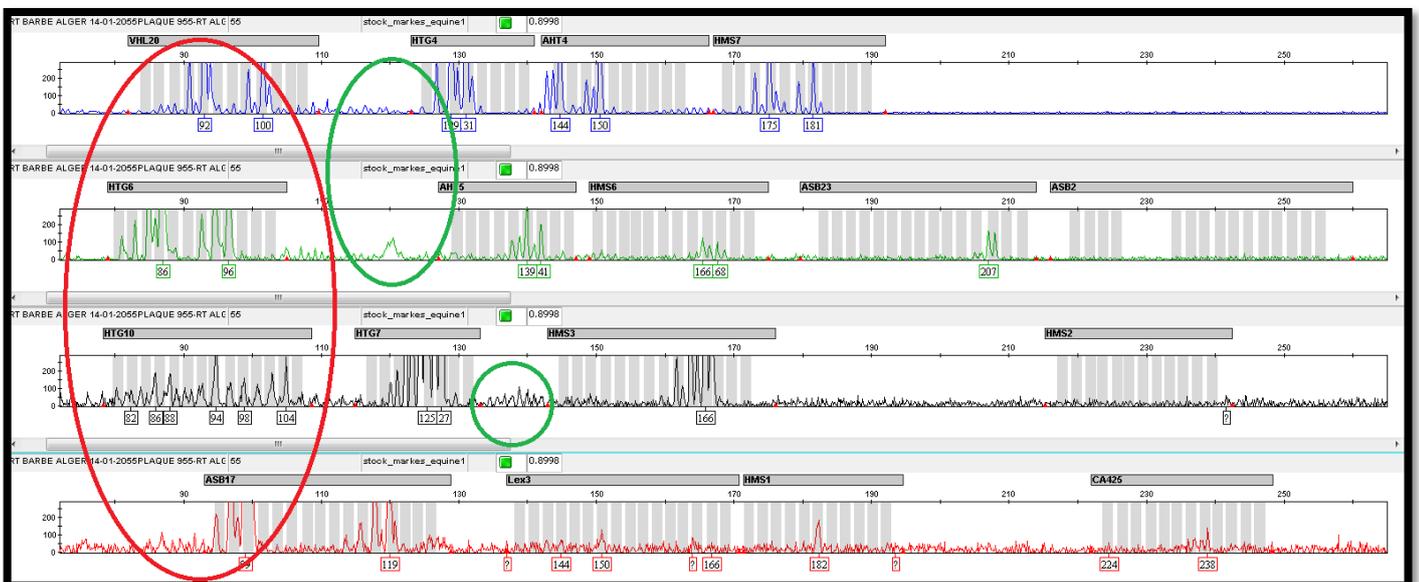
Tout le génotypage a été effectué en présence de contrôles négatifs pour estimer le taux d'erreur. Lors de la lecture des profils génotypiques, il a été observé que certains profils avaient un nombre d'allèles supérieur à 2, avec 3 ou 4 allèles (**Figure 29**). Ces profils tri ou tétra-alléliques peuvent provenir d'une simple contamination. Cependant, lorsque nous obtenons deux zones avec des amplifications différentes, dont l'une a une intensité plus faible,

cela semble être le résultat d'artefacts lors de l'amplification, associés à des conditions d'hybridation pas très strictes.

**A. Cas de contamination de l'ADN**



**B. Cas des artefacts liés à des conditions d'hybridation moins strictes lors de l'amplification.**



**Figure 29.** 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.

**4. Analyse de la diversité génétique**

**4.1 Équilibre de Hardy Weinberg**

Un test de déviation approfondi de Hardy-Weinberg (EHW) a été réalisé à l'aide du logiciel Genepop (**Raymond et Rousset, 1995**). L'écart panmixique pour chaque population a été déterminé en comparant les valeurs de probabilité non biaisées. (Valeur P) estimée par la méthode de la chaîne de Markov (**Guo et Thompson, 1992**), c'est-à-dire après correction de Bonferroni (valeur P inférieure à  $\alpha = 0,00294$ , cette correction consiste à diviser ( $\alpha = 0,05$ ) par le nombre de facteurs analysés: dans ce cas, les 17 microsatellites étudiés).

Deux tests ont été utilisés: le premier est un test d'hétérozygotie excessive et le second est un test d'hétérozygotie déficiente. Les races qui ne présentent ni excès ni déficit en hétérozygotes sont considérées en équilibre. 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 également être structurée en sous-groupes (effet Wahlund). Enfin, ce déficit peut être dû à l'existence d'allèles nuls (allèles ne conduisant à aucune amplification par PCR). Une mutation dans les séquences flanquantes des microsatellites pourrait empêcher la Taq polymérase d'amplifier l'ADN, conduisant à la présence d'allèles nuls (**Laliberté, 1998**).

### 4.1.1 Test d'excès d'hétérozygoties

Aucun cas d'excès d'hétérozygoties n'a été enregistré pour les populations étudié pour tous les marqueurs analysés.

### 4.1.2 Test de déficit en hétérozygoties

À l'échelle du test global, les résultats indiquent que les 8 populations étudiées présentent un déficit en hétérozygoties (Barbe, Barbe OI, Arabe-Barbe, Trotteur français, Pur-sang, Arabe, Selle Algérien et Selle), dont les valeurs de P sont largement inférieures à  $\alpha$  (0,00294). La race Arabe-Barbe détiennent le nombre le plus élevé (5 loci) en matière de déficit en hétérozygotie, suivie par la race : Barbe OI avec 3 marqueurs en déficit d'hétérozygotie, le reste présente un jusqu'à deux marqueurs en déficit, il s'agit des races Pur-Sang, Arabe, Trotteur Français, Selle, Selle Algérien et Barbe (**Tableau 7**). Ces résultats confirment ceux trouvés par **Berber et al, (2016)**, a expliqué ce phénomène de carence en hétérozygotie principalement par la subdivision des troupeaux en sous population (effet Wahlund) et l'effet père.

En analysant les résultats du test de déficit d'hétérozygote sur l'ensemble des populations pour chaque marqueur, nous observons que 06 loci : Lex3, HMS7, ASB23, HTG10, HMS3 et , CA425 présentent un écart significatif à l'équilibre de Hardy-Weinberg (EHW), pour le reste

des marqueurs (11)HMS2,HTG7, HTG6, VHL20, AHT5, AHT4, ASB17, HMS6, HTG4,

HMS1 et ASB2 les valeurs de  $P$  sont supérieures à  $\alpha = 0,00625$  et donc il y a absence de déficit en hétérozygotie pour ces dernier.

Ce déficit trouvé chez 06 loci sur 17 (environ 35,29 %) est le reflet de la localisation génétique de chaque marqueur. En effet, les différentes régions du génome ne réagissant pas de la même manière face aux différentes forces évolutives, la proximité ou la liaison fonctionnelle d'un marqueur par rapport à une région importante du génome diminuerait sa probabilité à évoluer est donc sa variabilité génétique (**Gaouar, 2009**).

## **4.2 Fiabilité des loci microsatellites**

### **4.2.1 Détection des allèles nuls**

Les allèles nuls sont souvent rencontrés dans la recherche en génétique des populations naturelles, bien qu'ils soient souvent négligés. En fait, il est probable que ce type d'allèle provoque un grand nombre de déficits d'hétérozygotie (**De Meeûs, 2012**). La fréquence de l'allèle nul ( $p$ ) détecté dans cette étude n'a pas eu d'impact sur nos interprétations. En effet, sur toutes les locus analysés pour les différentes populations,  $r$  (la fréquence des allèles nul) été inférieur à 0,20 (<20%). La valeur maximale de  $r$  (la seule > 20%) a été enregistrée pour le microsatellite (Lex3) où  $r = 0.40$  (**annexe 3**).

En général, dans la plupart des ensembles de données microsatellites, la fréquence allélique nulle acceptable ( $r$ ) est inférieure à 0,4 et  $p < 0,20$  (**Dakin et Avise, 2004**). Par conséquent, nous réservons tous les loci pour analyser la diversité et la structure génétique de toutes les populations de notre recherche.

### **4.2.2 Déséquilibre de liaison**

Ce paramètre de déséquilibre de liaison entre les locus explique l'indépendance des informations fournies par chaque site (**Saleh, 2008**). Dans cette étude, nous avons analysé le déséquilibre de liaison entre des marqueurs appariés à deux niveaux : à l'échelle des 8 populations étudiées et à l'échelle de la population globale (toutes les populations sont traitées comme une seule race).

a. Les résultats obtenus après une analyse du déséquilibre d'association ( $P$  inférieur à  $\alpha = 0,00294$ ) au niveau des 8 races équines étudiées (Pur-sang Arabe, Barbe, Arabe-Barbe, Barbe Origine inconnue, Trotteur Français, Pur-sang Anglais, Selle Algérien et Selle.) ont révélé un nombre de 117 cas de déséquilibre d'association parmi les 1088 combinaisons possibles entre les allèles des 17 microsatellites utilisés.

Pour les 8 races étudiées, 5 races étudiées présentent des déséquilibres de liaison (**Annexe 4**), la race qui présente le plus de locus en déséquilibre est la race Barbe OI et Arabe-Barbe, avec

30 cas de déséquilibre identifiés, presque les mêmes résultats ont été rapportés par **Berber et al, (2016)**. Sur 5 races algérienne en utilisant 14 Microsatellites. Pour le reste des races le nombre de cas de déséquilibres d'associations est : (14) pour le Selle, (04) pour le Barbe et (03) pour l'Arabe. les trois races qui reste (Selle Algérien, Pur-sang et Troutteur Français) ne présente aucun cas de déséquilibre de liaison.

En absence de liaison physique entre ces microsatellites, ce résultat peut être expliqué par des relations fonctionnelles spécifiques à l'environnement, un comportement social différent d'une race à une autre et/ou une consanguinité élevée (**Gaouar, 2009**).

Environ 34 cas de manque d'information ont été observés : 17 cas pour le Barbe OI, 15 cas pour l'Arabe-Barbe et 2 cas pour le Barbe.

b) à l'échelle global le test de déséquilibre de liaison, pour chaque paire de locus pour l'ensemble des populations, met en évidence 45 cas de déséquilibres d'association ( $P$  value < 0,00625).

Ce résultat peut être expliqué d'une part par un déséquilibre fonctionnel spécifique à l'espèce et/ou l'environnement n'a que peu ou pas d'influence et d'autre part, par la présence probable des microsatellites CA425, HMS1, Lex3, HMS3, ASB17, HMS2, HTG7, HTG10, ASB2, ASB23, HMS6 et AHT5 dans une région à effet pléiotropique du génome.

### 4.2.3 Polymorphisme des marqueurs microsatellites

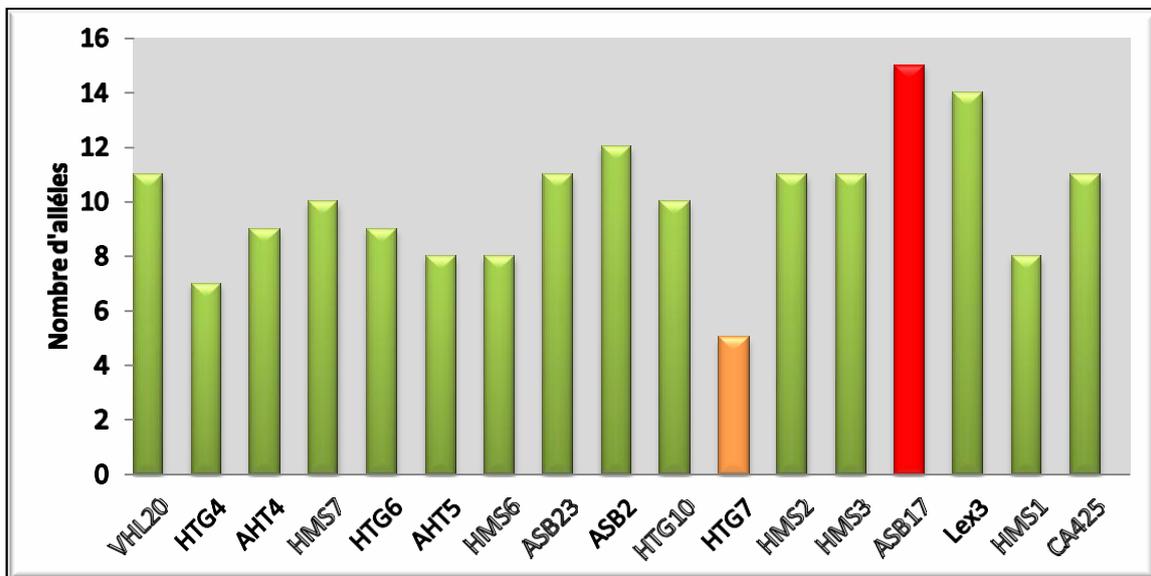
Un total de 170 allèles provenant de 17 loci microsatellites a été observé pour les 279 chevaux étudiés (**Tableau 8**). Ces résultats sont légèrement similaires aux 177 allèles observés par une étude coréenne sur 17 microsatellites pour les 3880 chevaux Halla (**Seo et al, 2016**). Cependant, il était beaucoup plus élevé que d'autres études utilisant des marqueurs microsatellites, soit 157 allèles observés chez 96 individus (pour trois races de chevaux indiennes) avec 20 microsatellites polymorphes (**Chauhan et al, 2011**), 118 allèles détectés chez 1032 pur-sang italiens (**Mario et al, 2019**), 137 allèles pour 17 marqueurs microsatellites détectés sur 200 chevaux Barbe du maroc (**Piro et al, 2019**), 130 allèles **Szilvia et al, (2013)** et 115 allèles ont été observés chez les 300 chevaux en Tunisie (**Ouled Ahmed et al, 2018**) et 123 allèles obtenus chez les 201 chevaux en Algérie (**Berber et al, 2014**). D'un autre côté, il était bien inférieur aux 330 allèles détectés dans les 26 races de chevaux chinoises indigènes en utilisant 27 marqueurs microsatellites par **Ling et al, (2011)** et bien inférieur aux 282 allèles identifiés chez 74 animaux pour les 29 microsatellites utilisés par **Dorji et al, (2018)**.

Le nombre d'allèles varie de 5 (HTG7) à 15 (ASB17), avec une valeur moyenne de 10 (**Figure 30**). Le nombre d'allèles observés à un locus indique sa variabilité génétique. Ainsi, selon **Barker, (1994)**, ce nombre doit être supérieur à 4 pour réduire l'erreur standard dans l'estimation des distances génétiques. Le nombre d'allèles efficaces ( $A_e$ ) varie de 2.213 (HTG7) à 5.923 (Lex3), avec une moyenne globale de 3.977.

Le nombre moyen d'allèles dans notre étude (6,632) est inférieur à la valeur rapportée par **Berber et al, (2014)** (8,89) sur 5 races algériennes et **Solis et al, (2005)** sur quatre races de chevaux indigènes d'Europe du Sud, soit (9,1). Mais elle est supérieure à la valeur de 5,2 trouvée dans l'étude de **Behl et al, (2007)** sur cinq races de chevaux indiens, la valeur de

5,8 trouvée par **Tozaki et al, (2003)** sur les chevaux japonais et asiatiques, la valeur de 6,6 observées par **Canon et al, (2000)** sur les chevaux celtiques espagnols et **Kusza et al, (2013)**. La différence de valeur observée entre les races étudiées peut être due au nombre de microsatellites utilisés, au nombre d'individus analysés dans chaque étude, ou aux particularités liées à la structure de population de chevaux étudiée.

Le PIC est un indice idéal pour mesurer le polymorphisme des marqueurs. Selon **Botstein et al, (1980)**, un PIC supérieur à 0,50 indique un locus très informatif, un PIC compris entre 0,50 et 0,25 indique un locus moyennement informatif, et un PIC inférieur à 0,25 indique un locus peu informatif. Dans notre étude, toutes les valeurs (PIC) sont supérieures au seuil d'information ( $PIC > 0,5$ ) pour tous les microsatellites, de sorte que la valeur la plus élevée est la plus faible a été observée pour Lex3 (0,909) et CA425 (0,742) avec une moyenne globale de 0,832 (**Tableau 08**). Les résultats de cette étude indiquent que la majorité des marqueurs sont très informatifs, et tous les marqueurs ont montré un écart significatif par rapport à l'équilibre Hardy-Weinberg. Selon **Botstein et al, (1980)**, si les valeurs (Pic et  $H_o$ ) obtenues dépassent respectivement 0,6 et 0,5, les marqueurs microsatellites sont considérés comme très informatifs. Dans cette étude, tous les marqueurs ont une moyenne PIC supérieure à 0,5. En revanche, cinq marqueurs (Lex3, HMS3, HTG7, HMS1 et CA425) n'ont pas atteint la fréquence de 0,6 d'hétérozygotie observée.



**Figures 30** : Nombre d'allèles mis en évidence pour chaque marqueur microsatellite dans les 8 populations étudiées.

La valeur moyenne d'hétérozygotie observée ( $H_o$ ) la plus faible et la plus élevée étaient de 0,435 pour le microsatellite Lex3 et de 0,831 pour le microsatellite HTG7, respectivement,

avec une moyenne globale de 0,672 parmi les 17 microsatellites étudiés. La valeur moyenne estimée d'hétérozygotie attendue ( $H_e$ ) variait de 0,536 (HTG7) à 0,828 (Lex3) avec une moyenne globale de 0,714 (**Tableau 8**).

Les F-statistiques de **Wright, (1968)** (Fis, Fit et Fst) a décrit le niveau statistiquement attendu d'hétérozygotie dans la population. Les valeurs moyennes de Fis, Fit et Fst étaient respectivement de 0,053, 0,102 et 0,052.

Le déficit d'hétérozygotie à l'intérieur des populations (Fis) varie entre -0.0117 pour HMS6 et 0,474 pour Lex3 avec une moyenne totale de 0,053 pour l'ensemble des loci. Sept marqueurs VHL20, HTG4, AHTG4, HTG6, HMS6, ASB2 et ASB17 ont présenté des valeurs de Fis négatives ce qui signifie que, dans l'ensemble des populations, il y a eu plus d'hétérozygotes que prévu pour ces marqueurs.

La valeur  $F_{IT}$  représente le déficit global en hétérozygoties dans les populations. Le tableau 8 montre que les valeurs des paramètres de F-statistiques obtenues pour l'ensemble des 8 populations équines étudiées et pour chaque microsatellite varient de -0,076 pour le marqueur HMS6 à 0,499 pour le marqueur Lex3, la valeur moyenne est de 0,102. La moyenne de l'indice de fixation de chaque population ( $F_{ST}$ ) est de 0,052, variant de 0,026 pour HMS1 à 0,092 pour HTG6 (**Tableau 8**).

La valeur  $F_{ST}$  que nous avons obtenue est égale à 0,052, indiquant qu'il existe une différenciation génétique modérée parmi les 8 populations de chevaux étudiées. En fait, 5,2% de la variation totale est due aux différences entre les populations, tandis que les différences intra-population expliquent 94,8% de la variation totale.

La valeur globale obtenue ( $D_{ST}$ ) décrivant la diversité entre les races était de 0,025. La moyenne globale de la valeur ( $G_{ST}$ ) déterminant le coefficient de différence des gènes était de 0,033. La diversité des gènes de Nei ( $H_T$ ) variait entre 0,574 (HTG7) et 0,872 (Lex3). Tous les loci microsatellites se sont écartés de l'équilibre de Hardy – Weinberg. La présence d'allèles nuls, définis comme des allèles non amplifiés dus à des mutations au niveau des sites d'amorçage PCR, entraîne une surestimation des valeurs de Fst et de distance génétique. La fréquence de l'allèle nul variait de 0,0070 pour le marqueur HMS6 à 0,2155 pour le marqueur Lex3 avec une moyenne globale de 0,043 (**Tableau 8**).

La fréquence globale des allèles nuls dans notre étude est présente avec une moyenne inférieure à 0,2 (seuil Null  $f < 0,2$ ) indiquant que le génotypage a un taux d'erreur très faible (**Dakin et Avise, 2004**). La valeur moyenne de nos génotypes pour  $D_{ST} = 2,5\%$ . Cette valeur est inférieure à la valeur  $D_{ST} = 7,6\%$  observée par **Ouled Ahmed et al, (2018)** pour les mêmes

marqueurs microsatellites. Ces résultats montrent l'existence d'une faible diversité génétique entre les populations équines étudiées. La valeur moyenne de G<sub>st</sub> obtenue (3,3%) dans notre étude est supérieure à celle observée (1,2%) par **Piro et al, (2019)**. Mais, inférieur à celle qui a été observé chez les races équines tunisiennes (8,8%) (**Ouled Ahmed et al, 2018**). La valeur moyenne du G<sub>st</sub> de 3,3% explique que la variation génétique totale résulte de différences entre les populations. À tous autres égards, on peut dire que 96,7% de la variation génétique est causée par la différence entre les individus.

### **4.3 Diversité intra populationnelle**

Ces dernières années, le nombre de chevaux en Algérie a considérablement augmenté, ce qui signifie que les races de chevaux occupent actuellement une place importante par rapport aux autres animaux d'élevage. En Algérie, l'identification des races équinnes est devenue un phénomène très important. L'identification génétique moléculaire est un outil très important qui doit être pris en compte pour les enregistrements de performance et l'évaluation morphologique des élevages équestres. L'étude de la variabilité intra-race a été menée à travers les résultats du génotypage de 279 animaux appartenant à 8 espèces par 17 microsatellites.

#### **4.3.1 Diversité allélique**

L'analyse des fréquences de tous les allèles de chaque race a donné une idée sur la variabilité génétique au sein de chaque race, mais l'information était encore trop vague et ne donnait pas d'idées précises sur la différenciation raciale. L'analyse d'autres indicateurs de variabilité révélera plus d'informations sur leur diversité génétique au sein de la population. **Le tableau 9** énumère les paramètres de la diversité génétique au sein de la population.

#### **4.3.2 Nombre allélique**

Il représente le nombre total d'allèles ( $N_a$ ) à un locus donné. Cependant, si le nombre d'individus étudiés est petit et que les marqueurs sont hautement polymorphes, les allèles peuvent être sous-estimés, et les allèles rares ont peu de chances d'être échantillonnés (**Rognon et Verrier, 2007**). Sur la base des résultats des 8 races étudiées, nous avons remarqué que le nombre d'allèles pour chaque race variait de 84 à 134, avec une moyenne de (112,75), et le nombre moyen d'allèles (MNA) par locus le plus élevé est observée chez la race Arabe-Barbe (7,882), la race Barbe (7,706) et la race Barbe OI (7,529). Les races Pur-sang et Selle avaient les allèles moyens les plus bas 5,529 et 4,941, respectivement, ce qui peut s'expliquer par la faible taille de l'échantillon de ces deux races (**tableau 9**) (**Andru, 2012**).

#### **4.3.3 Richesse allélique ( $R_a$ )**

Le logiciel Fstat (**Goudet, 2001**) a été utilisé pour calculer la richesse allélique, qui pondère le nombre d'allèles lié à la taille de l'échantillon et limite l'écart causé par l'échantillonnage. Pour toutes les races étudiées, les valeurs de richesse allélique étaient comprises entre 4,672 et 5,783. La valeur la plus faible est enregistrée pour la race Pur-sang, (4,672). La race Arabe-Barbe possède le plus grand nombre d'allèles (5,783). Dans notre étude la richesse allélique est de l'ordre de 5,124 pour l'ensemble des 8 populations étudiées, ce qui est relativement important dans les études de caractérisation des races équinnes (**Tableau 9**).

#### 4.3.4 Nombre efficace d'allèles (Ae)

Le nombre effectif d'allèles (Ae) est défini comme l'inverse de la probabilité que deux marqueurs, choisis au hasard, aient le même allèle (**Rognon et Verrier, 2007**). Le nombre d'allèles efficaces (Ae) dans la population équine algérienne est de 3,977. La valeur de ce paramètre varie de 3,492 pour la race Selle à 4,522 pour la race Arabe-Barbe. (**Tableau 9**).

#### 4.3.5 Allèles privés

Les allèles privés sont à l'origine de la diversité génétique (**Petit et al, 1998**). 21 allèles privés sont représentés avec des fréquences inférieures à 5% dans toutes les races, à l'exception de la race Selle Algérien et Selle, où aucun allèle privé n'a été détecté (**tableau 10**). 5 allèles privés étaient spécifiques pour les races Arabe-Barbe et Trotteur Français, et les races Barbe OI, Barbe, Arabe et Pur-sang présentés respectivement 4, 3 et 1 allèles privés. Ces résultats sont supérieurs aux 20 et 12 allèles privés identifiés par **Putnová et al, (2019)**, chez les chevaux tchèques et **Berber et al, (2014)**, chez 5 races algériennes, respectivement. La majorité de ces allèles privés sont exprimés par de faibles fréquences, dont la fréquence maximale est de l'ordre de **4,8 %** pour l'allèle 102 (HTG6) chez la race Pur-sang, la faiblesse de ces fréquences indique une faible contribution de ces allèles à la variation génétique. Par ailleurs l'existence de nombreux allèles privés dans une population démontre son originalité (**Fotsa, 2008**). 11 marqueurs génétiques utilisés dans cette étude présentent au moins un allèle privé dont la majorité est exprimé chez la race Barbe OI (**Tableau 10**), les microsatellites (HTG4, HTG10, HTG7, HMS1, CA425) sont dépourvus d'allèle privé. On remarque aucuns allèles privés pour les races Selle Algérien et Selle.

#### 4.3.6 L'hétérozygotie observée et attendue

**Le tableau 11** résume le taux d'hétérozygote observé (Hobs), le taux d'hétérozygote attendu (He) et le taux non biaisé (Hnb) de 17 microsatellites calculés à l'aide du logiciel GenALEx6.5 (**Peakall et Smoke 2006, 2012**). Le nombre d'échantillons représentant certaines des races étudiées étant faible (par exemple 10 pour la race Selle), il est préférable de considérer l'hétérozygotie attendue non biaisé. En effet, comme l'hétérozygotie et le taux d'hétérozygotie théorique observés varient en fonction du nombre d'allèles détectés, ils peuvent être sous-estimés si le nombre échantillon est trop faible.

Le plus faible taux d'hétérozygotie non biaisé enregistré a été observé pour la race Pur-sang (0,717) tandis que le taux le plus important est celui de la race Arabe-Barbe (0,753) qui présente la plus importante diversité génétique, parmi les 8 races étudiées, pour les 17 marqueurs analysés. (**Tableau 11**).

Nous notons que ces taux sont fortement affectés par le nombre total d'allèles dans chaque race car le taux d'hétérozygote le plus bas est celui qui a le moins d'allèles, mais cet effet n'est pas proportionnel en raison de la différence entre les contextes zootechniques et environnemental: effet paternel, déséquilibre d'association, sélection et consanguinité (**tableau 11**).

Nous constatons que les huit populations étudiées ont une valeur d'hétérozygotie observée plus faible que celle de l'hétérozygotie attendu ( $H_o = 0,672$  et  $H_e = 0,714$ ). Cela est probablement dû au type de gestion du bétail (**Jemmali et al, 2015**), le même rapport a été obtenu par **Piro et al, (2019)** et **Ouled Ahmed et al, (2018)**. En effet, la moyenne attendue des hétérozygotes pour les huit races étudiées est parmi les plus élevées comparées avec les populations équines étudiées par (**Piro et al, 2019 ; Senju et al, 2016 et Khanshour et al, 2019 ; 2013**) à l'étude menée par (**Berber et al.2014 et Bigi et al.2012**), et inférieure à celle obtenue par (**Ouled Ahmed et al, 2018 ; Seyedabadi et al, 2017 et Cortés et al, 2017**).

## 4.4 Diversité inter populationnelle

### 4.4.1 Paramètres de différenciation des populations

La méthode la plus classique et probablement la plus ancienne de caractérisation de la population sont les indices de fixation proposés par **Wright, (1969)**. En effet, les statistiques  $F$  permettent de décrire la structure de la population, la distribution de la variation génétique entre et au sein des populations en estimant la variance standardisée de la fréquence des allèles entre les sous-populations (**Wright, 1978**). Les statistiques de  $F$  Wright permettent également de comprendre la structure génétique d'une espèce en estimant d'une part la liaison allélique dans toutes les populations ( $F_{IT}$ ) et dans les sous-populations ( $F_{IS}$ ) et d'autre part la variation génétique entre sous-populations ( $F_{ST}$ ).

#### a. Indice de fixation $F_{IS}$

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

- Système de reproduction hétérosexuel (entre différents individus).
- la sélection de l'hétérozygotie au locus considéré.

Cependant, si le  $F_{IS} > 0$  cela signifie que la sous-population présente un déficit d'hétérozygotie dû à :

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

Dans notre étude, le  $F_{IS}$  moyen calculé pour tous les loci de chaque population (**tableau 12**), sont tous positives, variant de 0,137 pour la race Selle à 0,048 pour la race Arabe.

- Toutes les races étudiées ont des valeurs de  $F_{IS}$  qui sont significativement supérieures à zéro. Par conséquent, ces populations présentent un déficit général en hétérozygotes.

**b. Indice de différenciation  $F_{ST}$** 

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 importante différenciation génétique.
- L'intervalle  $F_{ST} > 0,25$  : indique une très importante différenciation génétique.

Ce dernier intervalle de valeur peut nous indiquer sur le fait que les deux taxons appartiennent à deux espèces différentes mais proches sur le plan phylogénétique.

**Le tableau 13** donne les valeurs de  $F_{ST}$  entre les différentes populations équinées étudiées. D'une manière générale, les valeurs sont modérément faibles et similaires pour tous les systèmes étudiés, mais très significatives ( $p < 0,001$ ). La valeur globale du  $F_{ST}$  était bien supérieure aux 0,3% et 0,6% obtenus par **Jemmali et al, (2015)** et **Dorji et al, (2018)**, respectivement sur les races tunisiennes et trois races de chevaux traditionnelles du Bhoutan, et légèrement similaires aux 5% rapportés par l'étude de **Berber et al, (2014)** sur 5 races algériennes. Cependant, il était inférieur à 10% rapporté par **Petersen et al, (2013)** sur 36 races équinées. La grande valeur de  $F_{ST}$  dans ces études est probablement liée au fait que ces

travaux ont étudié des races sans relation génétique entre elles (Races de cheval / équitation, chevaux lourds, poneys). En revanche, dans notre étude, toutes les races analysées ne sont pas isolées, car en général, les éleveurs pratiquent une reproduction anarchique entre eux expliquant la valeur  $F_{ST}$  faible.

### **c. Indice $F_{IT}$**

$F_{IT}$  est une composante du  $F_{IS}$  et du  $F_{ST}$ . **Le tableau 14** présente les valeurs des paramètres statistiques  $F$  obtenus pour les huit populations équines étudiées et pour chaque microsatellite. Les valeurs  $F_{IT}$  vont de -0,0760 pour le locus HMS6 à 0,4986 pour le locus Lex3. La valeur  $F_{IT}$  indique un déficit en hétérozygote global de 10,7% parmi les huit populations étudiées. Nous avons obtenu une valeur  $F_{ST}$  de 0,052 sur les populations étudiées, indiquant une variation génétique modérée entre ces dernières. En fait, 5,2% de la variation totale est donc due aux différences entre les populations, tandis que les différences intra-population expliquent 94,8% de la variation totale.

### **d. Flux des gènes**

Le flux génétique ( $Nm$ ) entre les populations appariées étudiées montre que la valeur entre la race Arabe-Barbe et la race Barbe est le plus élevée (72,97), entre la race Arabe-Barbe et la race Barbe OI (52,92) est relativement élevé. Le  $Nm$  le plus faible (3,26) a été enregistré entre la race Selle et le Pur-sang (**tableau 15**). Ces résultats confirment l'influence plus significative de la race Barbe et Barbe OI sur le génome de la race Arabe-Barbe.

## **4.4.2 Distances génétiques et établissement des relations phylogéniques**

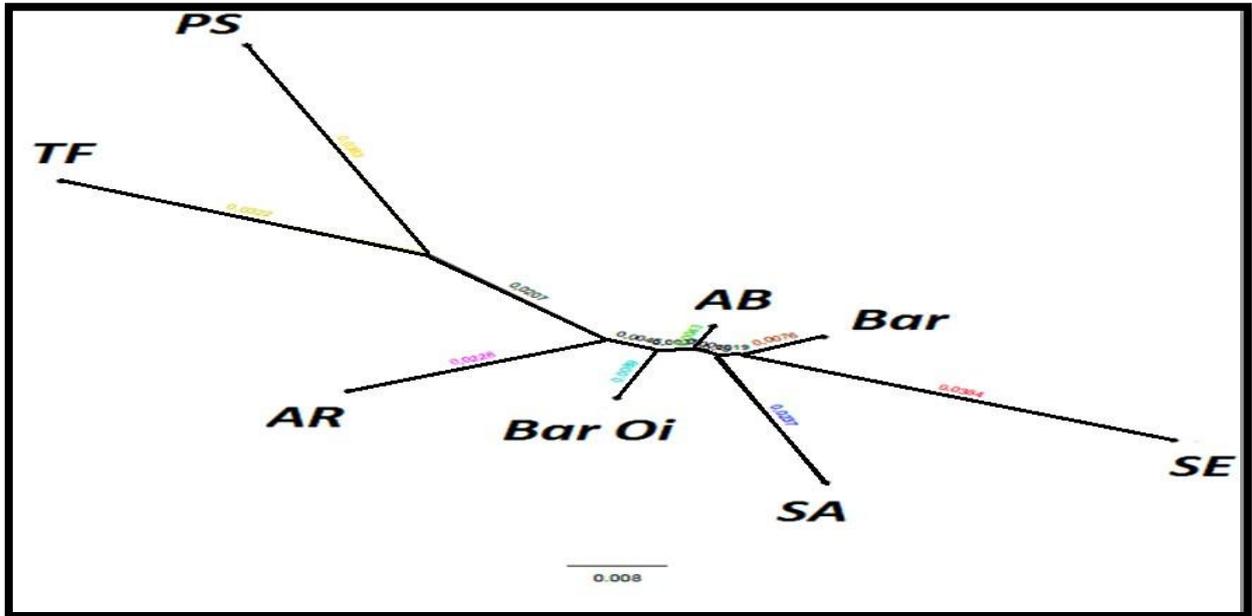
### **a. Distances génétiques et corrélation**

Les fréquences alléliques obtenues à partir des 17 microsatellites nous ont permis de calculer deux types de distances : la distance standard de **Nei, (1972)** à l'aide du logiciel Popgene (**Yeh et al, 1997**) et de **Reynolds, (1983)** à l'aide du logiciel. Phylip (**Felsenstein, 1993**). Ces deux distances sont basées sur différentes théories évolutives : le modèle de (dérive – mutation) pour la distance standard de Nei et la dérive génétique seule pour la distance de Reynolds. Les résultats de ces deux distances sont présentés dans **le tableau 16**. Ensuite, cette matrice de distance nous a permis de construire un arbre phylogénétique.

Le calcul de la distance génétique de Nei ou celle de Reynolds montre que : la valeur la plus faible est trouvée entre la race Barbe et la race Arabe-Barbe avec la distance de Nei (0,038) et de (0.003) avec la distance de Reynolds (**Tableau16**), tandis que la race Pur-sang montre une grande distance génétique avec la race Selle par l'utilisation de la distance Reynolds (0,076) et avec la race Selle Algérien par l'utilisation de la distance de Nei (0,272).

### **b. Arbres phylogénétiques (dendrogramme).**

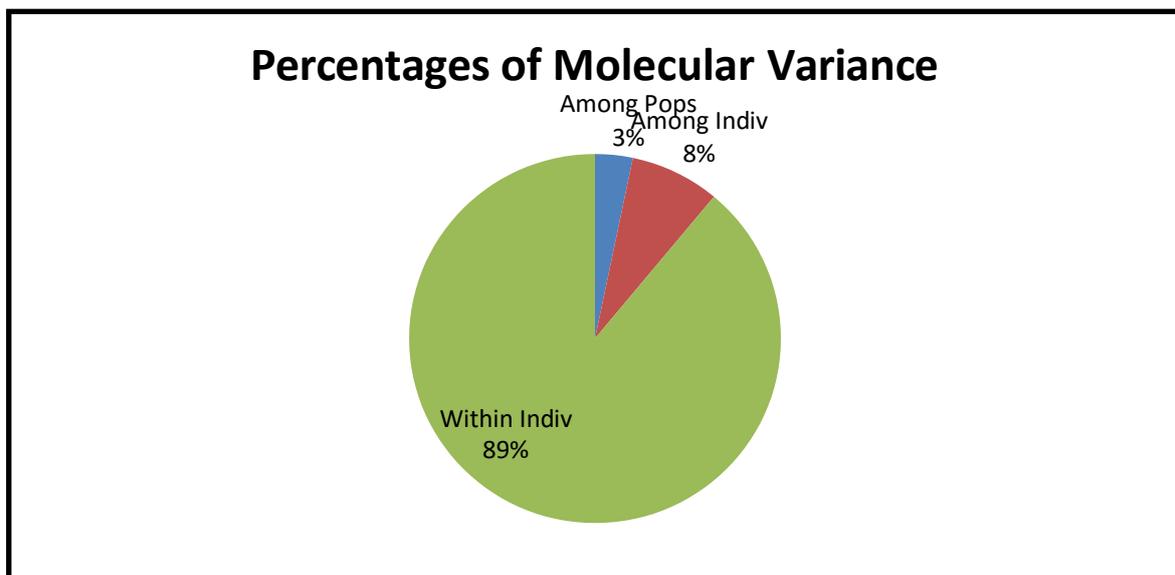
Un arbre phylogénétique a été construit à partir des résultats de distance génétique de **Reynolds, (1983)** en utilisant la méthode de construction « Neighbours-Joining » grâce aux logiciels MEGA 6 (**Tamura *et al*, 2013**) et Dendroscope (**Huson et Scornavacca, 2012**). **La figure 31** représente le dendrogramme des 8 populations équines étudiées obtenu à partir du polymorphisme des 17 microsatellites utilisés. L'analyse de la robustesse des arbres a été réalisée par le test de bootstrap après 1000 permutations des marqueurs.



**Figure 31.** Arbre Neighbour-Joining basé sur la distance de Reynolds pour les huit races équines étudiées.

**Bar:** Barbe, **Bar Oi:** Barbe origine inconnu, **AB:** Arabe-Barbe, **AR:** Arabe, **PS**Thoroughbred (Pur-sang); **TF:** Trotteur Français, **SA:** Selle Algérien, **SE:** Selle.

L'Arbre Neighbour-Joining obtenu montre une répartition claire des races et 3 groupes peuvent être distingués. Le premier groupe contient « la race Barbe, Arabe-Barbe, Barbe OI, Selle Algérien et la race Selle » est formé un groupe isolé. Cependant, les chevaux pur-sang Anglais et les trotteurs français constituent le deuxième groupe. La race Arabe est située entre ces deux groupes. Cette classification génétique confirme les données historiques de ces races de chevaux, ainsi que l'utilisation de la race Arabes comme améliorateur pour d'autres races (à l'exception de la race Trotteur Français).



**Figure 32.** Pourcentages de la variabilité moléculaire chez la population équine algérienne

La hiérarchie de la diversité globale de toutes les populations équines de cette étude a été réalisée par AMOVA à l'aide du logiciel GenALEx 6.5 (Peakall et Smouse 2006, 2012). **Figure 32.** Le résultat a montré que le pourcentage de variation entre les populations étudiées est de 3%, et entre les individus de ces groupes est de 8%, en revanche, une grande variation se trouve entre les individus - 89%. Ce résultat signifie que la diversité globale est principalement due à la diversité entre les individus au sein d'une population.

### 4.4.3 Résultat d'analyse factorielle des correspondances (AFC)

Les associations génétiques entre huit populations étudiées basées sur l'analyse de compatibilité des facteurs (AFC) sont illustrées à la **Figure 33**. Au cours de notre étude, nous avons relancé l'AFC sur les deux ensembles de données suivants pour mieux utiliser les données :

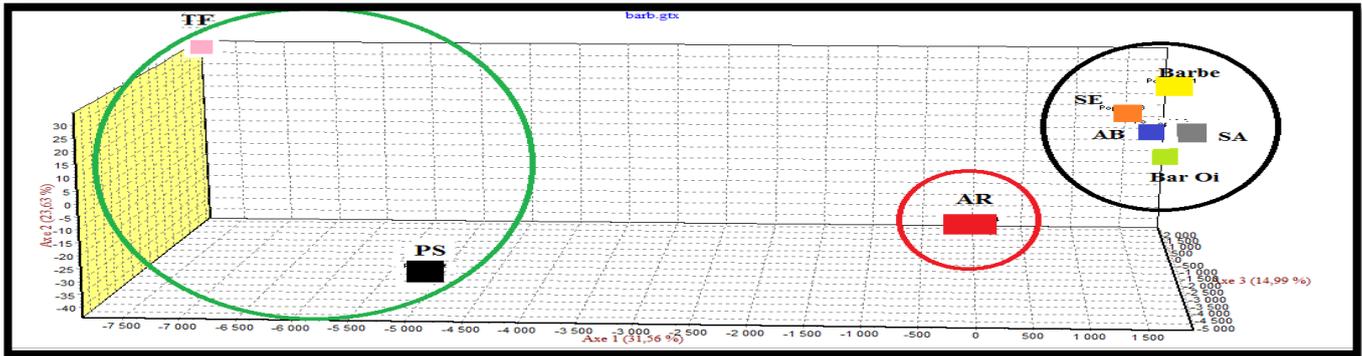
- **Premier AFC** : il a été réalisé en prenant comme élément de base l'ensemble des 8 races étudiées Figure (33.A)
- **Deuxième AFC** : il a été réalisé en prenant comme élément de base les 05 races autochtones (Barbe, BarbeOI, Arabe-Barbe, Selle, Selle Algerien) étudiés Figure (33.B).

Le résultat de l'AFC est présenté au niveau de la **figure 33**. Au total, 70,18 % de la variabilité peut être expliquée par les trois premiers axes avec respectivement : 31,56 % (premier axe), 23,63 % (deuxième axe 2) et 13,99 % (troisième axe) de la variabilité totale.

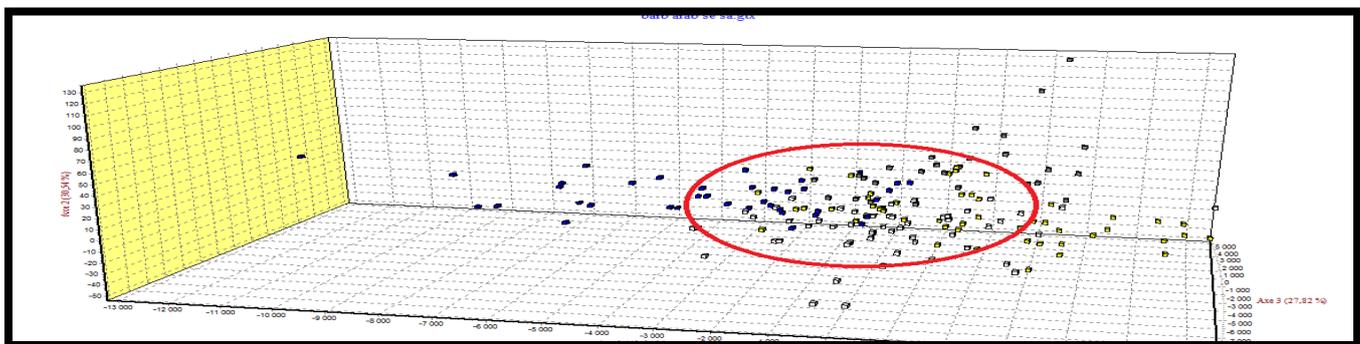
- La première analyse des résultats obtenus après un AFC sur les deux niveaux, nous a permis de séparer la population équine en quatre groupes distincts (**figure 33.A**). Une séparation nette est visible entre la race Pur-sang Arabe et les autres races. Alors que les 5 races autochtones se regroupent ensemble.
- Cependant, Après avoir retiré les races importées (**Figure 33.B**), on a observé à ce niveau un grand mélange entre les 5 populations autochtone (Barbe, Barbe OI, Arabe-Barbe, Selle et Selle Algérien) qui reflète probablement la situation du terrain où aucune notion de race n'est respectée par les éleveurs (croisement incontrôlé, non-respect des berceaux,...). (**Figure 33.B**).

En général, les résultats obtenus par l'analyse factorielle des correspondances (AFC) sont similaires à ceux donnés par le dendrogramme, dont lequel les races sont divisées en trois groupes, les mêmes résultats sont rapportés par **Berber et al, (2014)**.

A) Sur l'ensemble de 8 races.



B) Sur l'ensemble de 5 races autochtone du premier groupe.



**Figure 33.** Représentation par AFC dans l'espace de 3 -dimensions des échantillons des 8 races équinés étudiées. **A)** Sur l'ensemble de 8 races. **B)** Sur l'ensemble de 5 races autochtone du premier groupe.

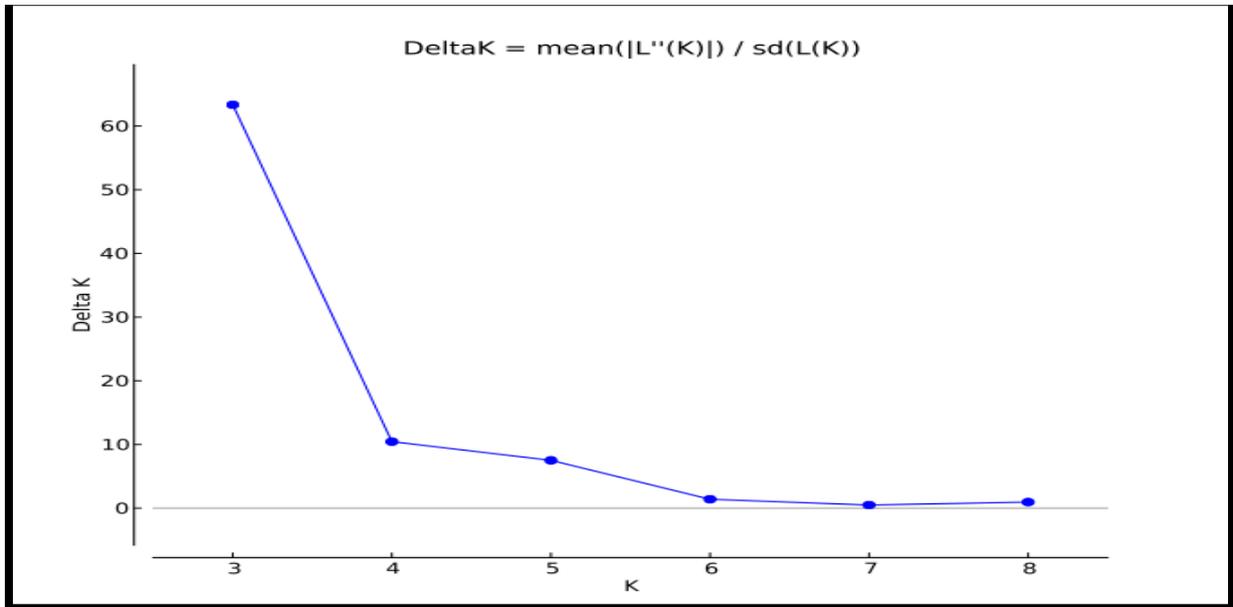
#### 4.4.4 Assignment des individus à des populations génétiques et clustering

- **Assignment des individus par le logiciel Structure**

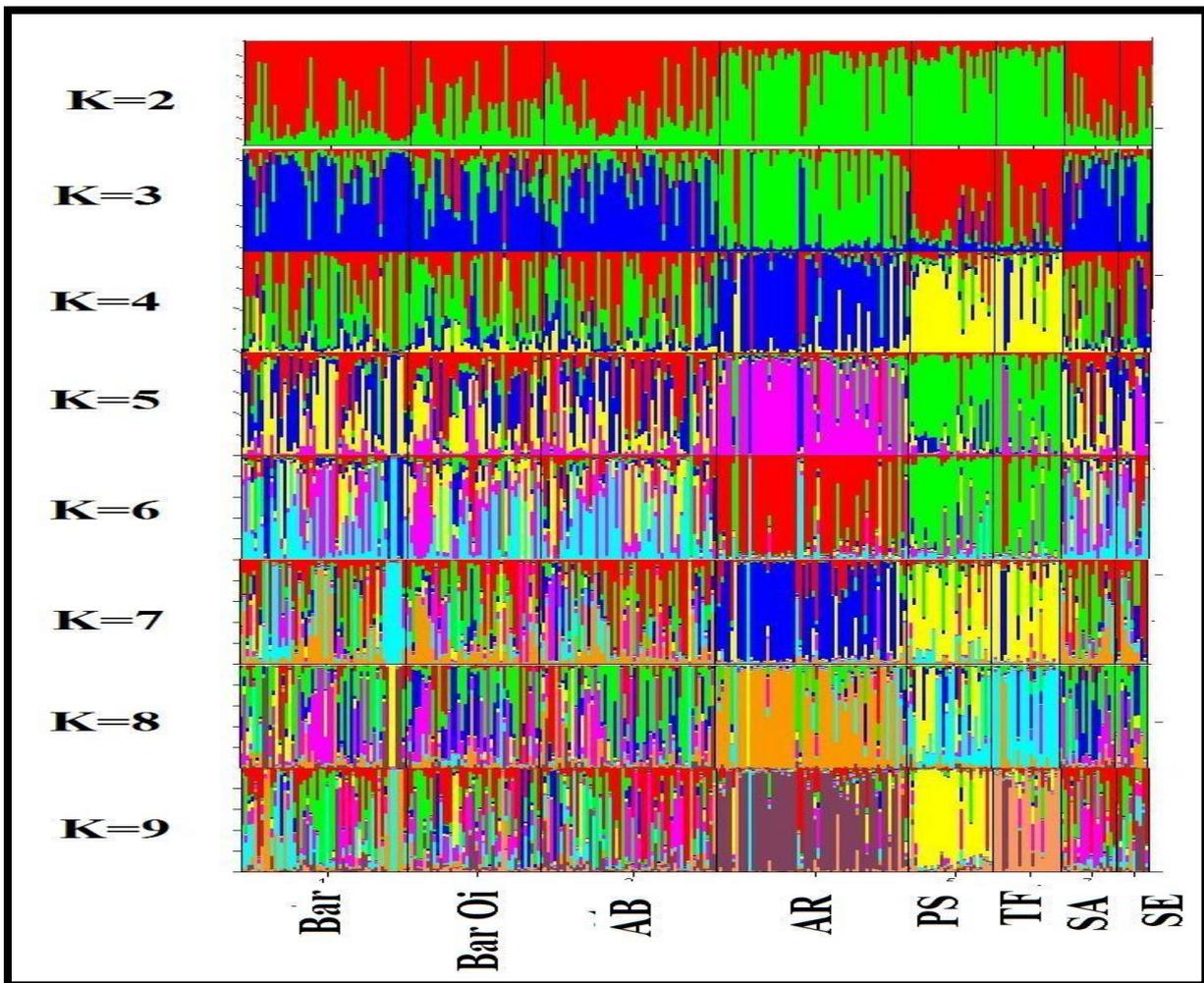
La structure génétique des populations a été étudiée à l'aide du logiciel STRUCTURE 2.3.4 (Oxford, Royaume-Uni) (Hubisz *et al*, 2009). L'analyse a été réalisée avec combustion de 20000 en longueur, suivie de 100000 itérations de Monte Carlo en chaîne de Markov pour chacune des K analyser (2 à 9), avec 20 répétitions pour chaque K, en utilisant des fréquences d'allèles indépendantes et un modèle de mélange. Ce logiciel structure nous a permis d'identifier le degré de mélange entre nos populations équinés, de sorte qu'il nous donne une idée claire sur la situation génétique de notre cheptel. La méthode d'Evanno (Evanno *et al*, 2005) a été utilisée pour identifier le nombre approprié de groupes en utilisant DK (Figure 34), sur la base du taux de changement de la probabilité logarithmique des données. Les valeurs K optimales ont été sélectionnées par STRUCTURE HARVESTER (Earl et von Holdt, 2012).

Nous remarquons que les valeurs de  $\Delta(K)$  représenté dans la figure 34 a montré un pic net à  $K = 3$  qui représente une valeur maximale ( $\Delta K = 63,34$ ) puis elles diminuent rapidement à

K=4 avec une valeur de  $\Delta(K) = 10,44$  (Tableau 17). Après cela, nous observons une fluctuation dans les valeurs de  $\Delta(K)$  avec un enregistrement d'un seul pic, avec la valeur de K=8, mais reste très faible à ce qui a enregistré au niveau de la valeur K=3 donc, cette valeur de  $\Delta K$  est considérée comme la meilleure valeur de K, ce qui signifie que notre population locale équine avec 8 races est regroupée en trois clusters (Figure 35).



**Figure 34.** 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 ( $\Delta K$ ).



**Figure 35.** Estimation de la structure de la population avec différentes valeurs de K (en supposant que  $K = 2$  à 9). **Bar**: Barbe, **Bar Oi**: Barbe origine inconnu, **AB**: Arabe-Barbe, **AR**: Arabe, **PS**: Thoroughbred (Pur-sang); **TF**: Trotteur Français, **SA**: Selle Algérien, **SE**: Selle.

La figure 35 montre que, Les races Arabe (AR), Pur-sang (PS) et Trotteur Français (TF) ont été séparées d'autres populations dès les premiers clusters ( $K = 2$ ). La race arabe (AR) est séparée des races pur-sang (PS) et de trotteur français (TF) à  $K = 3$ . À  $K = 9$ , les races pur-sang (PS) et trotteur français (TF) ont été séparées. Le Barbe, l'Arabe-Barbe, le Selle Algérienne, le Selle et le Barb OI présentaient relativement la même structure génétique. Les résultats de l'analyse STRUCTURE nous a donné une idée assez précise sur le taux de mélange des populations étudiées. L'investigation de la structure génétique confirme les résultats du dendrogramme ainsi que ceux de l'AFC.

# *Conclusion & Perspectives*

L'Algérie est connue pour ses vastes terres et son environnement naturel, ses ressources ont d'importantes capacités qualitatives et quantitatives, qui peuvent assurer le développement durable de ses ressources animales. Cependant, ces ressources sont difficiles à utiliser correctement. Les espèces animales et végétales et toutes leurs races, variétés et populations ne sont pas seulement inconnues, mais sont également en état d'extinction voir de disparition, avec toutes conséquences négatives sur le plan écologique et économique.

Les ressources zoogénétiques jouent un rôle important dans le domaine, de l'économie, la nourriture, l'environnement et la culture sociale d'un pays. En Algérie, Les ressources génétiques équestres font partie de notre patrimoine national et ont une valeur importante, culturelle économique et sociale. Cependant, des informations sur la diversité génétique des races de chevaux algériens sont très importantes dans l'établissement de stratégies de conservation et Gestion durable, en particulier la gestion des races autochtones Algérienne, Barbe indigène et ces dérivés « Barbe OI, Arabe-Barbe, Selle et Selle Algérien ».

C'est dans ce contexte, afin de trouver des mesures appropriées pour conserver ces ressources, que cette thèse se concentre sur les caractéristiques génétiques des huit chevaux algériens (Barbe, Barbe OI, Arabe-Barbe, trotteurs français, chevaux pur-sang, Selle, Selle Algérien).

Suite à notre étude, 296 animaux non apparentés appartenant à 8 races ont été échantillonnés. (201 échantillons provenant d'une banque d'ADN déjà établie par **Berbère et al, (2014)**).

74% (219 échantillons) des animaux de notre étude sont enregistrés au niveau du stud-book, les autres animaux (26% ; 77 animaux) ont été identifiés comme appartenant à une race donnée avec l'aide de l'ONEDEC (Office National du Développement de l'élevage équin et camelin) et de l'OMCB (l'Organisation mondiale du cheval Barbe). Nos échantillons sont répartis au niveau de différentes régions algériennes connues pour l'élevage de chevaux. La zone de prospection représente 360 000 km<sup>2</sup> ce qui représente la surface d'un pays européen comme l'Allemagne.

Sur les 296 ADN extraits, seuls 279 ont pu être amplifiés par PCR et génotypés par séquenceur automatique via 17 marqueurs moléculaires de type microsatellites "VHL20, HTG4, AHT4, HMS7, HTG6, AHT5, HMS6, ASB23, ASB2, HTG10, HTG7, HMS2, HMS3, ASB17, Lex3, HMS1, "CA425". 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 élevée au niveau des races équines étudiées. En effet, sur un total de 279 animaux génotypés, un total de 170 allèles différents ont été trouvés par les 17 microsatellites testés. L'indice moyen d'hétérozygotie non

biaisé obtenu pour toutes les races est de 0,820. La comparaison des races étudiées a montré que c'était la race Arabe-Barbe qui présente la plus grande variation génétique intra-race avec 170 allèles et une hétérozygotie théorique non biaisé la plus élevée avec  $0,753 \pm 0,025$ . En revanche, la race Selle a la plus faible variation génétique intra-race avec 84 allèles et le taux le plus bas d'hétérozygotie non biaisé ( $0,720 \pm 0,024$ ). Cela est probablement dû à la petite taille de l'échantillon analysé et au petit nombre d'animaux de cette race existant dans notre pays.

Afin d'estimer la variabilité inter-race, une analyse de la structuration des huit populations étudiées a été réalisée. Cette analyse a montré que la diversité totale de l'ensemble des huit races est due majoritairement à la diversité intra-population (97%), le taux de diversité inter-populations a été estimé à 3%, ce qui indique que la diversité globale est principalement due à la diversité entre les individus au sein d'une population et que les races ne sont pas isolées les unes des autres (probablement du au mélange non contrôlé pratiqué par les éleveurs).

Dans cette étude, il est permis d'abord de constater une richesse allélique de l'ordre de 3,977 pour l'ensemble des 8 populations étudiées ; ce qui est relativement important dans les études de caractérisation des races équines. On a constaté que pour les 8 races étudiées on a 5 races sont en déséquilibre d'EHW à cause du déficit en hétérozygoties. Les hypothèses qui peuvent expliquer ces déséquilibres sont liées à des facteurs génétiques (relation consanguine, déséquilibre d'association et effet paternel), à l'existence d'allèles nuls et à l'effet Wahlund (des sous-groupes existent au niveau des races). Au total, 117 cas de déséquilibre d'association ont été détectés dans les huit populations étudiées. Les races Barbe OI et Arabe-Barbe présentent le plus grand nombre de cas de déséquilibre d'association ( $n = 30$ ), et tous les loci étaient dans l'état de déséquilibre d'Hardy-Weinberg.

La démonstration des relations phylogénétiques entre les 8 races équines algériennes a mobilisé plusieurs approches : **a)** distances génétiques (distance standard Nei-Reynolds) ; **b)** analyse factorielle de la correspondance ; **c)** l'analyse factorielle de correspondances. Les informations obtenues grâce à ces méthodes montrent que les races équines en Algérie appartiennent à trois grands groupes qui pourraient être préservés indépendamment pour maintenir leur diversité génétique. On a aussi remarqué qu'il existe une distinction claire entre les races indigènes et importées du pays.

Une proximité génétique entre les races autochtones « Barbe, Barbe OI, Arabe-Barbe, Selle et Selle Algérien » a également été démontrée. Ainsi, notre étude a montré qu'il existe une proximité génétique entre les deux races autochtones « Barbe et Arabe-Barbe ».

D'une manière générale, ces résultats constituent le pas fondamental vers une prise de décision judicieuse avant le développement de programmes de valorisation génétique et de préservation sans interférer avec le caractère unique des races équine en Algérie.

Les résultats mettent en évidence le déclin de la diversité génétique des races de chevaux en Algérie. La pollution génétique est particulièrement prononcée par les croisements incontrôlés réalisés par les éleveurs (notamment de fantasia) qui utilisent les races les plus lourdes de chevaux de différentes races pour les croisés avec le cheval Barbe. On doit donc formuler d'urgence un plan national de gestion et de préservation de ces ressources génétiques.

La mise en place urgente d'un plan national de gestion et de conservation de ces ressources génétiques nécessite, d'une part, une réponse rapide des autorités nationales en créant des fonds spécifiques pour la caractérisation, contrôle de la filiation et la protection des ressources génétiques menacées des races équine locales (Barbe authentique), et d'autre part, le soutien de la communauté scientifique en encourageant leurs travaux de recherche sur l'évaluation et la caractérisation des races équine locales en étroite collaboration avec des éleveurs motivés pour créer des associations locales de chaque race (notamment les races Barbe, Arabe-Barbe et Selle Algérien) afin de préserver la diversité génétique de chaque race équine locale.

De plus, pour les dirigeants de la filière équine algérienne, l'identification des chevaux d'origine inconnue pour l'inscription dans un stud-book spécial est un défi de longue haleine, car la plupart des chevaux indigènes ne sont pas affiliés, à origine inconnue. Dans cette thèse, nous avons adopté plusieurs méthodes pour évaluer la structure génétique de huit races équine élevées en Algérie et leurs relations. Il semble difficile de prouver une population homogène entre deux races indigènes génétiquement similaires (Barbe, Barbe OI, Selle Algérien, Selle et Arabe-Barbe) Sur la base du nombre d'individus analysés et des 17 microsatellites utilisés dans ce travail,

Cette thèse propose un certain nombre de recommandations pouvant contribuer à la création du support et à long terme, mettre en place des systèmes de protection de la variabilité génétique des races équine locales. Ces recommandations son :

- Encourager vivement les autorités locales à promulguer des lois pour protéger et gérer les ressources génétiques végétales et animales en fixant des priorités en termes d'économie de ces ressources.
- Établir et améliorer les méthodes de gestion des animaux d'élevage (construire un arbre généalogique et le contrôle de la filiation des races équine locale (Barbe, Arabe-Barbe, Selle Algériens, Selle) au niveau national.

- Mettre en place un comité départemental des ressources génétiques pour s'assurer que la gestion des ressources génétiques, les plans de sélection et d'hybridation sont améliorés pour minimiser le risque d'hybridation consanguine et incontrôlée, en particulier pour les races à faible effectif. De tels programmes doivent aussi viser les aspects de reproduction et de production intra race. Par conséquent, certaines stratégies peuvent être envisagées pour sélectionner parmi ces races de chevaux indigènes celles qui montrent les meilleures aptitudes afin de créer le noyau d'un programme de sélection génétique des races de haute performance en Algérie.

Cette étude nous a permis de faire le premier pas vers la caractérisation génétique du troupeau équin algérien. Le fait est qu'à la suite de ces travaux, un certain nombre d'éléments méritent d'être approfondis dans les recherches futures.

- Élargir le périmètre d'échantillonnage : nous prévoyons d'élargir le périmètre de recherche à plus de races, notamment en échantillonnant des animaux répartis dans d'autres régions du pays, afin d'avoir une idée plus ou moins complète sur les caractéristiques du troupeau équestre algérien.
- Utilisation de nouveaux marqueurs (tels que les SNP) produira des résultats plus informatifs.
- Mise en œuvre des affectations raciales par l'outil moléculaire.

En étroite coopération avec les associations de sélection et les experts dans ce domaine, un réseau national de formation, recherche et développement dédié aux ressources zoogénétiques doit être mis en place. Un tel réseau consultera dans les domaines suivants :

-Inventaire de la biodiversité.

-Guide pour la conservation et l'amélioration génétique des animaux.

-Continuité et renforcement des travaux réalisés pour le secteur équin.

-Suggérer de nouvelles actions nécessaires pour mieux contrôler la situation raciale.

-Évaluer et vérifier les projets de recherche et développement liés aux ressources zoogénétiques locales.

***Article scientifique***

## Molecular characterization of eight horse breeds in Algeria using microsatellite markers

BENAHAMADI MOHAMMED EL AMINE<sup>1,♥</sup>, BERBER NAIMA<sup>2</sup>, BENYAROU MOHAMMED<sup>1</sup>,  
AMEUR AMEUR ABDELKADER<sup>1</sup>, HADDAM HADI YOUSOUF<sup>1</sup>, PIRO MOHAMMED<sup>3</sup>,  
GAOUAR SEMIR BECHIR SUHEIL<sup>1,♥♥</sup>

<sup>1</sup>Laboratory Physiopathology and Biochemistry of Nutrition (PpBioNut), Department of Biology, SNV-STU Faculty, University of Tlemcen, Algeria. Tel. +21-355-5681312, ♥email: moha-sywat@hotmail.fr

<sup>2</sup>Laboratory of Biotoxicology, Pharmacognosy, and Biological Valorisation of Plant, University of Saida Algeria. ♥♥email: naima.berber@univ-saida.dg

<sup>3</sup>Veterinary Genomics Laboratory, Hassan II Agronomic and Veterinary Medicine Institute, Rabat, Morocco.

Manuscript received: 21 May 2020. Revision accepted: 13 August 2020.

**Abstract.** Benhamadi MA, Berber N, Benyarou M, Ameer A, Haddam HY, Piro M, Gaouar SBS. 2020. Molecular characterization of eight horse breeds in Algeria using microsatellite markers. *Biodiversitas* 21: 4107-4115. The Algerian horse population Barb, Origin Barb unknown, Arabian-Barb, Arabian, Thoroughbred (Pur sang); French Trotter, Algerian Selle, and Selle are under a significant loss of genetic variability. This should be evaluated before any breed conservation and management program. For this purpose, genetic analyzes of diversity and differentiation were carried out on eight breeds horses reared in Algeria with 17 microsatellites. All microsatellite markers were highly polymorphic in all Breeds. A total of 170 alleles from 17 microsatellite loci were detected in 279 horses. The average number of alleles per locus was highest in Arabian-Barb horses (7.88) and lowest in Selle breed (4.94). The observed heterozygosity interbreeds ranged from 0.685 to 0.625 for Barb and Selle, while the expected heterozygosity was ranged from 0.746 to 0.678 for Arabian-Barb and Algerian Selle respectively, the  $H_o$  value is lower than that of  $H_e$  value. Genetic diversity between breeds was significant, based on  $F_{st}$ . Three different approaches to assess genetic relationships have been applied; namely, genetic distances, factorial correspondence analysis, and admixture analysis have shown that a significant amount of genetic variation is maintained in populations of native horses and other breeds: the Barb, Arabian-Barb, Barb (Oi). Algerian Selle and Selle breeds appear to be the most genetically related and support that there are crosses between these two breeds.

**Keywords:** Algeria, genetic diversity, native horse breeds, microsatellites, population genetic structure

### INTRODUCTION

In Algeria, animal genetic resources offer a great diversity of breeds in terms of their adaptation and production capacity in their natural environment. Equines are no exception to this observation. As such, they constitute a varied wealth, with high economic and socio-cultural importance.

The horse industry occupies a special place in the history and economy of North Africa (Benhamadi et al. 2016; 2017 and 2019) for a long time, the horse is a real player in sustainable development in Algeria, particularly in the environmental field. It plays an important role in the management of spaces and landscapes beneficial to the maintenance and development of biodiversity, but also its relationship with human, by contributing to sports, social and

cultural activities. In this context, the development of equine breeding requires its rationalization and, therefore, the use of modern techniques for the management of equine genetic resources (Berber et al. 2016, Benhamadi et al. 2016, 2017, 2019).

The Algerian equine population has been estimated at approximately 250,000 horses, composed of 90% of Barb and Arabian-Barb and Algerian Selle horses (Berber et al. 2016). The remaining 10% is divided between Arabian horses, Thoroughbreds, and French Trotters (Berber et al. 2016).

The DAD-IS database lists in 2018 two breeds of horses bred in Algeria: the Arabian-Barb and the Barb (DAD-IS consulted in October 2018). However, the Arabian (Élise Rousseau 2014), the Thoroughbred, and the French Trotter are also the subject of more

or less important breeding (Berber et al. 2016). The cradle of the Barb and Arabian-barb horse in North Africa. They are generally used in fantasia (traditional horse-riding exhibition in the Maghreb at cultural festivals), as well as in the equestrian sports.

Approximately 10,000 heads are belonging to the Barb breed and 80,000 to the Arabian-Barb heads (Berber et al. 2016, Benhamadi et al. 2016; 2017, 2019).

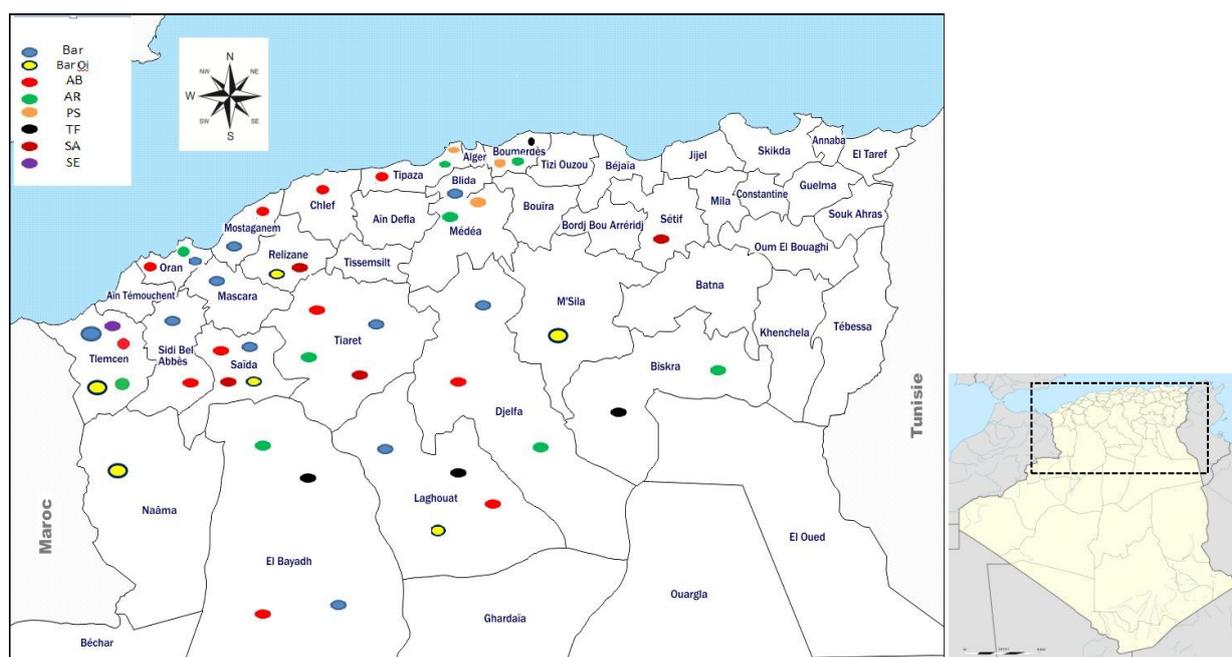
In 1886, the first Algerian studbook of the Barb horse was established. Tunisians and Moroccans followed in 1896 and 1914, respectively (Piro et al. 2019; Berber et al. 2016). The Arabian-Barb is the predominant Breed in Algeria as a creation of the broodmares of Tiaret in 1877, crossing between Barb and Arabian horses breeds (Berber et al. 2016). It combines the robustness and the endurance of the Barb horse, the elegance, and the speed of the Arabian horse. In addition, another Breed named Algerian Selle breed was developed. It is the product of a cross between the Algerian Barb breed and the heavily French horses (Rayan 2015). The Arabian Breed, the Thoroughbred and the French Trotter, mainly used in equestrian sports, dressage, and show jumping events are mostly imported and distributed unevenly over Algerian territory and are well adapted to mountainous regions and arid lands of North Africa (Berber et al. 2016). Unfortunately, in recent years, breeders have started to make uncontrolled crosses between several breeds, which has mostly contributed to genetic pollution leading to serious identification ambiguity. The objective of this study is to carry out the genetic characterization of the eight breeds using 17 microsatellites, and to

genetically identify the horse Barb as well as the Algerian Selle The genetic characterization of the Barb horse (registered and of unknown origin), as well as the Algerian Selle, also aims to build a specific database for these breeds. This step is crucial for the improvement and preservation of our equine genetic heritage, which is undergoing the harmful hazards of inbreeding. Indeed, registering horses on a fundamental basis at the level of the existing stood-book has the immediate effect of restoring genetic variability and therefore restoring performance.

## MATERIALS AND METHODS

### Animal samples

The samples studied consisted of a total of 296 animals (201 of these were taken from a DNA bank of Berber et al. 2014) belonging to 8 equine breeds reared in different Algeria regions (Figure 1). About 219 animals (57% of total samples) in this study are registered at the stud-book level, while the other 77 animals (26% of total samples) were identified as belonging to a given breed with the help of ONEDEC (National Office for the Development of Equine and Camelin Livestock) expert and the OMCB (the World Barb Horse Organization). Our samples are spread over different Algerian regions known for horse breeding. The prospecting area represents 360,000 km<sup>2</sup>, which represents the surface of European payee like Germany. The origin and sample sizes of these eight breeds are presented in Table 1. The blood samples were taken in EDTA tubes (5 mL) from the jugular vein and were stored at -20 °C until DNA extraction.



**Figure 1.** Map of sampling sites in Algeria for the eight equine breeds studied. Bar: Barb, Bar Oi: Origin Barb unknown, AB: Arabian-Barb, AR: Arabian; PS: Thoroughbred (Pur sang); TF: French Trotter, SA: Algerian Selle, SE: Selle

**Table 1.** Origin and size of the samples of the breeds studied

Breed	Origin of samples	Number of samples
Barb	Tlemcen, Sidi Bel Abbas, El Bayedh, Saida, Oran, Mascara, Mostaganem, Tiaret, Laghouat, Djelfa, Blida	57
Origin Barb unknown	Tlemcen, Naama, Saida, Laghouat, Relizaine, Msila	49
Arabian-Barb	Tlemcen, Sidi Bel Abbas, Oran, Saida, Mostaganem, Chlef, Tiaret, El Bayedh, Laghouat, Tipaza	56
Arabian	Tlemcen, El Bayedh, Oran, Tiaret, Médéa, Alger, Boumerdes, Djelfa, Biskra	59
French Trotter	El Bayedh, Laghouat, Biskra, Boumerdes	26
Thoroughbred	Alger, Médéa, Boumerdes	21
Algerian Selle	Tiaret, Saida, Relizaine, Sétif	18
Selle	Tlemcen	10
Total		296

### DNA extraction

The genomic DNA was extracted according to the conventional NaCl method described by Miller et al. (1988). DNA extraction was performed in the Physiopathology and Biochemistry of Nutrition laboratory, University of Tlemcen, Algeria, and the Molecular and Cellular Genetics laboratory (USTOMB) University of Sciences and Technology of Oran Mohamed-Boudiaf. The DNA concentration for some (Number) samples was carried out using a fluorometer device (Qubit 3 metic).

### PCR and fragment analysis

This step was carried out in the Veterinary Genetic laboratory of the Hassan II Agronomic and veterinary

institute, Rabat Morocco. The PCR amplification was carried out using the StockMarks kit (PE Applied Biosystems. Foster City. California. the USA) which includes 17 microsatellite markers (VHL20, HTG4, AHT4, HMS7, HTG6, AHT5, HMS6, ASB23, ASB2, HTG10, HTG7, HMS2, HMS3, ASB17, Lex3, HMS1, CA425) used routinely for the identification and parentage control of horses. The final concentration for each reagent used for PCR are stock Buffer=1.25  $\mu$ L, D ntp=2  $\mu$ L, Taq=0.25  $\mu$ L, H<sub>2</sub>O=1.5  $\mu$ L and 1.5  $\mu$ L DNA, with the final Mixed PCR volume is 8.5 $\mu$ L. The PCR was carried out in Applied Biosystems Thermal Cycler (GeneAmp PCR 2700 system).. The DNA was first denatured at 95 °C for 15 minutes before undergoing 30 amplification cycles. Each cycle was

comprising a denaturation step at 95°C for 30 seconds, a hybridization step at 60 °C for 1 minute, and an elongation step of 46 seconds at 72°C. After the 30 amplification cycles, A final extension lasts 60 minutes at 72 °C to optimize the action of Taq polymerase. PCR fragment was resolved on an ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems), and data were analyzed using GENEMAPER 5 software (PE Applied Biosystems. Foster City. California, USA).

#### Data analysis

The number of alleles per locus ( $N_a$ ), mean number of alleles ( $MN_a$ ), the effective number of alleles ( $N_e$ ), polymorphic information content (PIC), observed ( $H_o$ ) and expected heterozygosity ( $H_e$ ), average heterozygosity ( $H^a$ ), Hardy–Weinberg equilibrium and null allele frequencies were calculated using GenAlEx 6.5 (New Brunswick, NJ) (Peakall and Smouse 2012), POPGENE Version 1.32 (Alberta, Canada) (Yeh et al. 1997), CERVUS 3.0.3 (Bozeman, MT) (Marshall et al. 2006). The genetic distance and the construction of a dendrogram (neighbor-joining method) for the different Breeds studied was carried out using phylip-3.695 software (Felsenstein, 2013). The bootstrap resampling methodology (1000 replicates) was performed to test the robustness of the dendrogram topology using the same software. Wright's F-statistics ( $F_{it}$ ,  $F_{is}$ ,  $F_{st}$ ) (Wright 1931; Weir and Cockerham 1984) were calculated using POPGENE (Yeh et al. 1997). Nei's gene diversity ( $H_t$ ), diversity between breeds ( $D_{st}$ ), and the coefficient of gene differentiation ( $G_{st}$ ) values were calculated with FSTAT 2.9.3 software (Goudet 2001). The factorial correspondence analysis (FCA) is performed to visualize the relationships between individuals from different breeds and to test possible admixtures between the populations. AFC was computed using Genetix 4.05 (Montpellier, France) (Belkhir et al. 2000). The genetic structure of the populations was investigated using STRUCTURE 2.3.4 software (Oxford, UK) (Hubisz et al. 2009). The analysis was performed with a burn of 20,000 in length, followed by 100,000 Markov chain Monte Carlo iterations for each from K (2 to 9), with 20 replicate runs for each K, using independent allele frequencies and an

admixture model. Evanno's method (Evanno et al. 2005) was used to identify the appropriate number of clusters using DK, based on the rate of change in the log probability of the data. The optimal K values were selected by STRUCTURE HARVESTER (Earl and von Holdt 2012).

## RESULTS AND DISCUSSION

#### Genetic diversity within markers and breeds

Of the 296 samples of extracted DNA, only 279 could be amplified by PCR and genotyped by the automatic sequencer; this can be explained either by contamination or by bad DNA quality. A total of 170 alleles from 17 microsatellite loci were observed. The number of alleles ranged from 5 (HTG7) to 15 (ASB17), with an average number of 10 alleles, and the average number of effective alleles was 3.97. The estimated heterozygosity ( $H_e$ ) value varied from 0.536 (HTG7) to 0.828 (Lex3). The content of polymorphic information (PIC) was above the information threshold ( $PIC > 0.5$ ) for all microsatellites, so that the highest value is the lowest were observed for (Lex3 (0.909) and CA425 (0.742) with an overall average of 0,692 for all loci. The  $H^a$  value for all loci studied was 0.714 (Table 2).

The lowest and highest observed heterozygosity ( $H_o$ ) values were 0.435 for the Lex3 microsatellite and 0.831 for the HTG7 microsatellite, respectively, with an overall average of 0.672. Wright F Statistics ( $F_{is}$ ,  $F_{it}$  and  $F_{st}$ ) described the statistically expected level of heterozygosity in the population. The mean values of  $F_{is}$ ,  $F_{it}$ , and  $F_{st}$  were 0.053, 0.102, and 0.052, respectively. The obtained overall ( $D_{st}$ ) value describing the diversity between breeds was 0.025. The overall mean of the ( $G_{st}$ ) value determining the difference in genes was 0.033. Nei gene diversity ( $H_t$ ) ranged between 0.574 (HTG7) to 0.872 (Lex3). All microsatellite loci deviated from the Hardy–Weinberg equilibrium. The presence of null alleles, defined as non-amplifying alleles due to mutations at the PCR priming sites, causes overestimation of both  $F_{st}$  and genetic distance values. The frequency of the

null allele ranged from 0.0070 (HMS6) to 0.2155 (Lex3) with an overall average of 0.043.

The results of genetic diversity by breeds are summarized in Table 3. The average number of lower and upper alleles per locus ranged from 4.941 (Selle) to 7.882 (Arab-Barb) with an allele number ranging from 84 alleles (Selle) to 134 (Arab-Barb) per population. The estimated value of heterozygotes by population ( $H_e$ ) ranged from 0.683 (Sadle) to 0.746 (Arab-Barb). The Barb and Arabian breeds showed (0.685) the highest observed mean heterozygotic compared to (0.625) in Selle breed (lowest value). Some 21 specific alleles with a frequency higher than 5% are identified for all breeds except (Algerian Selle and Selle) and with a relatively large number of specific alleles (05) in Arabian-Barb and Trotter breed and (04) in Barb Oi. It was determined that some of the loci studied in the eight equine breeds in this study (36 loci) are not in equilibrium with Hardy-Weinberg. On the contrary, the population structure defined by the  $F_{is}$  values indicates a loss of heterozygosity ranging from 0.048 (Arabic) to 0.137 (Selle).

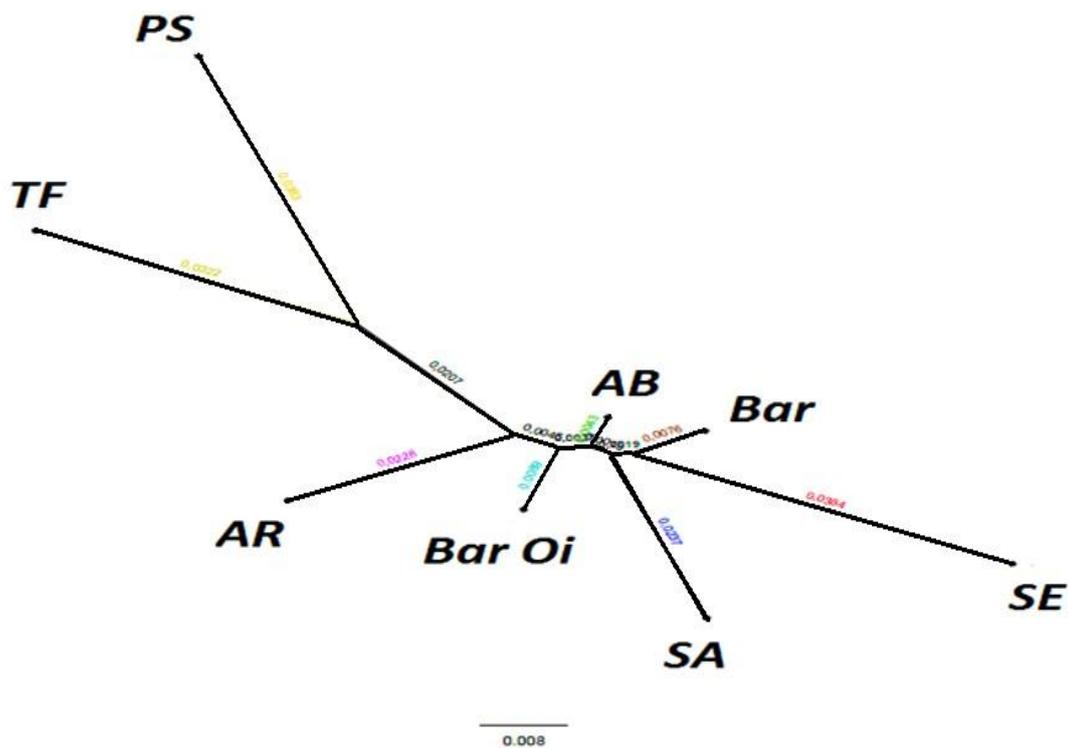
#### Genetic diversity between breeds

The Molecular Analysis of Variance indicates (89%) the total variability is mainly due between individuals within populations. 8% between individuals and 3% between populations. All  $F_{st}$  values estimated in Table 4 show a differentiation between the pairs of breeds ranging from 0.007 (Arabian-Barb/Barb) to 0.058 (thoroughbred/Selle).

Table 4 shows the values ( $N_m$ ) between the pairs of breeds of the populations studied varied between 72.97 to 3.26. In general, the pairs of the breeds Arabian-Barb/Barb shows a very high number ( $N_m=72.97$ ) compared to other couples of the breeds studied.

The dendrogram tree was constructed using the neighbor-joining method (Figure 2), based on the minimum Reynolds genetic distances obtained from the present study. Three different groups were observed on the dendrogram. The FCA explains 70.18% of the total variation (Figure 3). The factor analysis of the FCA correspondences confirmed the distinctive genetic character of the eight-horse breeds (Figure 3). The taxa appear separated into three groups as in the dendrogram (Figure 2), group 1, which represents the indigenous populations and Selle (the Barb, Arabian-Barb, Selle Algerian, Selle and Barb Oi). The foreign breeds are represented by group 2 (Arabian) and group 3 (Thoroughbred English, French trotter).

The Bayesian clustering method has proven to be powerful analytical tools for identifying genetic structure in data sets (Evanno et al. 2005). This method, based on the second-order probability of variation of  $K$  (DK), showed a clear peak at  $K = 3$  (Table 5) The Arabian breed (AR), Thoroughbreds (PS) and French Trotter (TF) breeds were separated from other populations after the first calculation clusters ( $K = 2$ ). The Arabian breed (AR) is separated from the Thoroughbreds (PS), and French Trotter (TF) breeds at  $K = 3$ . At  $K = 9$ , Thoroughbreds (PS) and French Trotter (TF) breeds were separated into their clusters. The Barb, the Arabian Barb, the Algerian Selle, the Selle, and the Barb Oi showed relatively the same genetic structure. . The results of the STRUCTURE analysis containing different numbers of clustering performed to determine the population structure of the studied breeds are displayed in Figure 4. The structure of genetic investigation confirms the dendrogram and FCA results.



**Figure 2.** Dendrogram based on minimum genetic Raynolds distances between 8 breeds (Bootstrap resampling methodology (1000 replicas)). Bar. Barb, Bar Oi. Origin Barb unknown, AB. Arabian-Barb, AR. Arabian; PS. Thoroughbred (Pur sang); TF. French Trotter, SA. Algerian Selle, SE. Selle

**Table 2.** Values of the genetic parameters for each chosen locus and in all equine breeds studied

Loci	N	Allelic range, bp	Ra	Na	Ne	PIC	Ho	He	H <sup>a</sup>	Fis	Fit	Fst	Dst	Gst	Ht	Nm	HW	F(Null)
VHL20	276	86-106	7.103	11	5.639	0.893	0.831	0.815	0.8145	-0.017	0.035	0.051	0.029	0.034	0.861	4.652	***	0.0094
HTG4	279	125-137	4.357	7	2.732	0.791	0.639	0.626	0.6255	-0.017	0.045	0.061	0.029	0.043	0.669	3.879	***	0.0293
AHT4	278	144-160	5.226	9	3.954	0.832	0.755	0.740	0.7401	-0.021	0.015	0.035	0.012	0.016	0.769	6.972	***	0.0239
HMS7	276	169-185	5.762	10	4.344	0.872	0.701	0.759	0.7589	0.074	0.129	0.060	0.033	0.041	0.811	3.908	***	0.0403
HTG6	279	80-102	3.807	9	2.791	0.792	0.659	0.624	0.6241	-0.056	0.041	0.092	0.052	0.076	0.691	2.469	***	0.0180
AHT5	279	131-145	4.923	8	3.715	0.836	0.723	0.727	0.7269	0.001	0.072	0.071	0.042	0.053	0.786	3.279	***	0.0162
HMS6	277	158-170	4.601	8	2.929	0.771	0.728	0.655	0.6547	-0.117	-0.076	0.037	0.015	0.021	0.683	6.493	***	0.0070
ASB23	277	183-211	5.720	11	4.783	0.879	0.641	0.785	0.7846	0.187	0.218	0.038	0.013	0.016	0.82	6.290	***	0.0835
ASB2	271	222-254	5.940	12	4.524	0.878	0.773	0.757	0.7572	-0.021	0.024	0.044	0.02	0.025	0.794	5.370	***	0.0099
HTG10	265	86-106	7.023	10	5.322	0.893	0.794	0.805	0.805	0.013	0.066	0.054	0.031	0.036	0.853	4.397	***	0.0191
HTG7	279	119-129	3.304	5	2.213	0.692	0.513	0.536	0.5363	0.043	0.103	0.063	0.026	0.045	0.574	3.700	***	0.0304
HMS2	204	217-239	6.219	11	4.190	0.855	0.730	0.731	0.7307	0.000	0.076	0.076	0.046	0.058	0.792	3.053	***	0.0183
HMS3	278	148-172	5.723	11	4.009	0.861	0.540	0.739	0.7392	0.270	0.306	0.049	0.021	0.027	0.78	4.848	***	0.1147
ASB17	250	95-123	7.274	15	5.336	0.891	0.826	0.802	0.802	-0.030	0.020	0.048	0.026	0.031	0.844	4.985	***	0.0124
Lex3	236	99-166	7.288	14	5.923	0.909	0.435	0.828	0.8285	0.474	0.499	0.046	0.017	0.02	0.872	5.195	*	0.2155
HMS1	278	172-190	3.891	8	2.642	0.753	0.587	0.615	0.6147	0.045	0.070	0.026	0.005	0.007	0.633	9.310	***	0.0445
CA425	245	224-244	4.928	11	2.558	0.742	0.556	0.595	0.5949	0.065	0.099	0.036	0.011	0.017	0.619	6.640	***	0.0438
<b>Mean</b>			5.476	10	3.977	0.832	0.672	0.714	0.714	0.053	0.102	0.052	0.025	0.033	0.756	5.026		0.043

Note: Na: The number of alleles, Ne: the Effective number of alleles, PIC: Content of the polymorphic information, Ho: Heterozygosity observed, He: Expected heterozygosity, H<sup>a</sup>: Average heterozygosity, FIS, FIT, FST: Wright's F-statistics Wright 1931; Weir et Cockerham. 1984); HT: The diversity of Nei genes, DST: The diversity between Breeds, Gst: Coefficient of differentiation of genes, \* Nm: estimated genetic flow for Nm = 0.25 (1- FST)/FST (Nei. 1987) by Popgene software (Yeh et al. 1997)

**Table 3.** Measurement of genetic diversity by breed for the 17 loci studied

Breeds	MNA	Ra	Ho Mean/SE	He Mean/SE	Fis	HWE	NPA		Total
							>5%	<5%	
Bar	7.706	5.256	0.685±0.033	0.721±0.023	0.059	2	/	3	3

Bar Oi	7.529	5.526	0.676±0.037	0.735±0.027	0.098	5		4	4
AB	7.882	5.783	0.676±0.035	0.746±0.025	0.102	8	/	5	5
AR	6.824	5.034	0.685±0.028	0.712±0.024	0.048	4	/	3	3
TF	6.529	4.951	0.680±0.037	0.714±0.025	0.067	6	/	5	5
PS	5.529	4.672	0.672±0.034	0.700±0.025	0.065	3	/	1	1
SA	6.118	5.068	0.678±0.044	0.699±0.033	0.061	2	/	/	/
SE	4.941	4.707	0.625±0.063	0.683±0.023	0.137	6	/	/	/

Note: MNA: mean number of alleles; FIS: within-breed heterozygote deficiency; HWE: number of loci not in the Hardy–Weinberg equilibrium ( $p < 0.05$ ); NPA: number of private alleles. Bar. Barb, Bar Oi. Origin Barb unknown, AB. Arabian-Barb, AR. Arabian; PS. Thoroughbred (Pur sang); TF. French Trotter, SA. Algerian Selle, SE. Selle.

**Table 4.**  $F_{st}$  estimated (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)

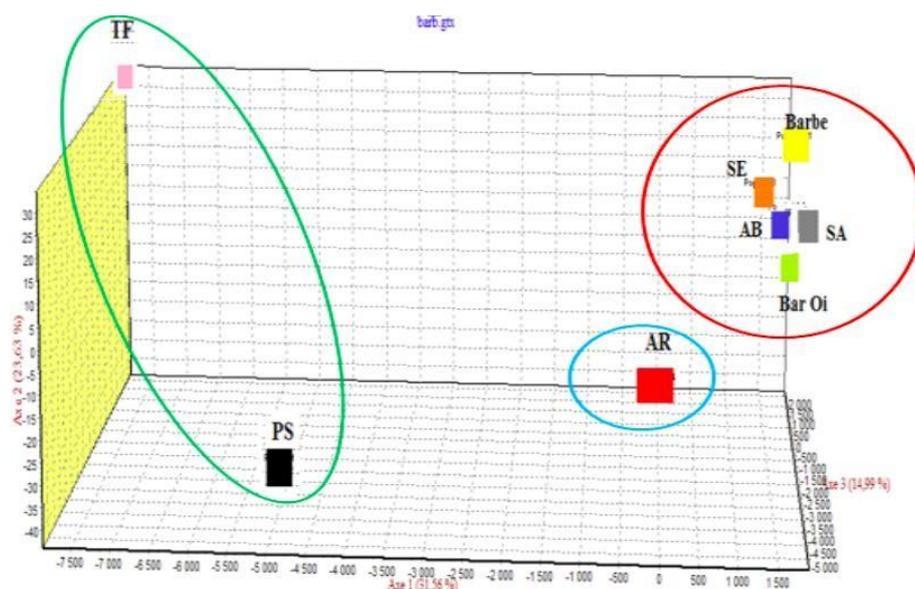
Bar	Bar OI	AB	AR	TF	PS	SA	SE	
-	25.50	72.97	6.06	4.41	3.38	19.32	18.18	<b>Bar</b>
0,011	-	52.92	8.94	4.54	4.95	22.60	9.60	<b>Bar OI</b>
0,007	0,008	-	10.65	4.98	4.17	25.45	19.71	<b>AB</b>
0,025	0,018	0,016	-	3.39	3.96	6.14	7.23	<b>AR</b>
0,035	0,035	0,032	0,043	-	4.90	3.83	3.70	<b>TF</b>
0,045	0,035	0,039	0,040	0,036	-	3.53	3.26	<b>PS</b>
0,017	0,017	0,016	0,029	0,046	0,049	-	11.80	<b>SA</b>
0,023	0,031	0,024	0,034	0,052	0,058	0,033	-	<b>SE</b>

Note: Bar: Barb, Bar OI: Origin Barb unknown, AB: Arabian-Barb, AR: Arabian, PS: Thoroughbred (Pur sang); TF: French Trotter, SA: Algerian Selle, SE: Selle.

**Table 5.** Show the appropriate number of clusters using DK, by STRUCTURE HARVESTER (Earl and vonHoldt 2012)

K	Reps	Mean LnP(K)	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	Ln''(K)	Delta K
2	20	15590.0900	1.7244	-	-	-
3	20	15299.9700	2.8623	290.120000	181.290000	63.337271
4	20	15191.1400	3.1745	108.830000	33.150000	10.442686
5	20	15115.4600	8.7241	75.680000	65.525000	7.51080
6	20	15105.3050	11.1003	10.155000	15.550000	1.400859
7	20	15110.7000	29.7053	-5.395000	14.540000	0.489474
8	20	15130.6350	90.5976	-19.935000	86.510000	0.954881
9	20	15237.0800	221.5462	106.445000	-	-

Note: The highlight zone is to show the suitable cluster number (K) in structure analysis results (k=3)



**Figure 3.** The factorial correspondence analysis (FCA) results showing the relationship between 8 breeds. Bar: Barb, Bar Oi: Origin Barb unknown, AB: Arabian-Barb, AR: Arabian; PS: Thoroughbred (Pur sang), TF: French Trotter, SA: Algerian Selle, SE: Selle

## Discussion

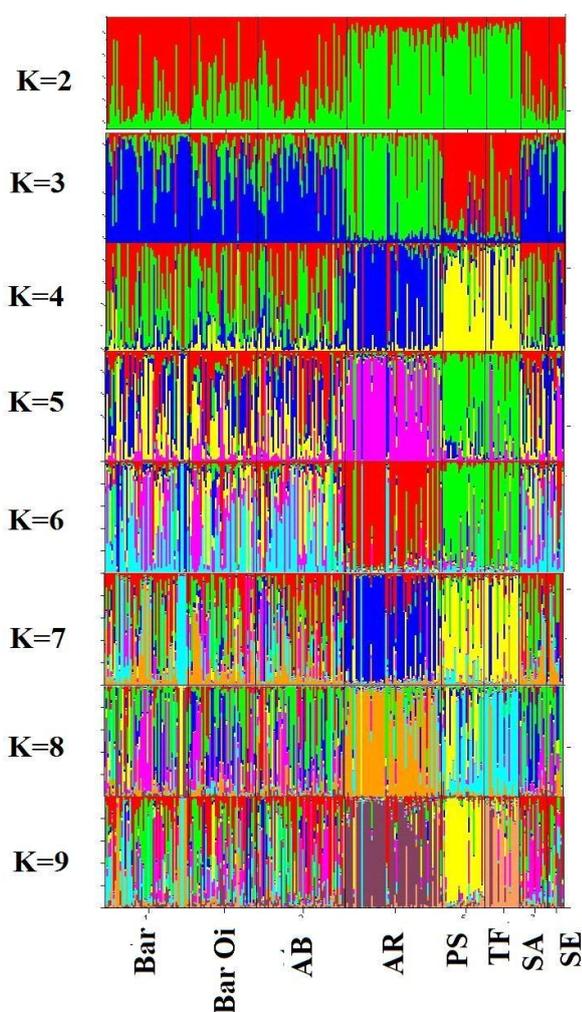
### *Genetic diversity within markers and breeds*

A total of 170 alleles from 17 microsatellite loci were observed for the 279 horses studied. These results were slightly similar to 177 alleles observed by a Korean study on 3880 Halla horses (Seo et al. 2016). However, it was much higher than other studies using microsatellite markers, i.e 157 alleles observed in 96 individuals with 20 polymorphic microsatellites (Chauhan et al. 2011), 118 alleles detected in 1032 thoroughbreds (Mario et al. 2019), 137 alleles were detected for 200 horses (Piro et al. 2019), 130 alleles Szilvia et al. (2013) and 115 alleles were observed in the 300 horses in Tunisia (Ouled Ahmed et al. 2018) and 123 alleles obtained in the 201 horses in Algeria (Berber et al. 2016). On the other hand, it was much lower than the 330 alleles detected in the 26 native Chinese horse breeds using 27 microsatellite markers by Ling et al. (2011) and much lower than the 282 alleles identified in 74 animals for the 29 microsatellites used by Dorji et al. (2018).

The results of this study may indicate that the majority of markers are very informative, and all the markers showed a significant deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium. According to Botstein

et al. (1980), if the values (Pic and Ho) obtained exceed 0.6 and 0.5, respectively, the microsatellite markers are considered as very informative. In this study, all markers have a PIC mean greater than 0.5. On the other hand, five markers (Lex3, HMS3, HTG7, HMS1, and CA425) did not reach the 0.6 of heterozygote observed. The overall frequency of null alleles represented in our study with a lower average of 0.2 (Nullf threshold <0.2) indicating that the genotyping has a very low error rate (Dakin and Avise 2004). The mean value of our genotypes (Dst=2.5%) was lower than (Dst=7.6%) observed in Ouled Ahmed et al. 2018 for the same microsatellite markers. These results showed a low genetic diversity between the equine populations studied. Indeed, the obtained Gst mean value (3.3%) in our study is higher than that observed (1.2%) by Piro et al. (2019). Moreover, much lower than that observed in Tunisian equine breeds (8.8%) (Ouled Ahmed et al. 2018). In fact, the average value of the Gst stressed that 3.3% of the total genetic variation results from differences between populations. In all other respects, it can be said that 96.7% of genetic variation is caused by the difference between individuals.

Molecular genetic identification was an important factor as well as performance recordings and morphological evaluations for equine breeding. The present study was conducted to detect the genetic variability and the structure of the equine population through microsatellite markers on eight equine breeds bred in Algeria. Twenty-one private alleles are represented with frequencies below 5% in all breeds, except the Algerian Selle and Selle breed, where no private allele was detected (Table 3). These results are superior to the 20 and 12 private alleles identified by Putnová et al. 2019, in Czech horses and Berber et al. 2014, in Algerian breeds, respectively.



**Figure 4.** Estimation of the population structure with different K values (supposing  $K= 2$  to 9). Bar: Barb, Bar Oi: Origin Barb unknown, AB: Arabian-Barb, AR: Arabian; PS: Thoroughbred (Pur sang); TF: French Trotter, SA: Algerian Selle, SE: Selle

We have also observed a relatively large number of specific alleles in the Arabian-Barb, Trotter, and Barb Oi Breeds, which is in favor of their differentiation with the other populations. It was also observed that in the Barb, the Selle, the Arabian-Barb, and the Barb Oi breeds, the Fis value was significantly positive. In Algeria, most of the same stallions are used for the Barb and the Arabian-Barb breed mating and are reared in the same national stud. On the other hand, the Selle and Barb Oi breed mating is managed independently by breeders throughout the country but always using a very small quantity of bloodstock, which can explain the low level of heterozygosity (Benhamadi et al. 2017, 2019).

The eight populations studied have a lower value of observed heterozygosity than that of expected heterozygote ( $H_o=0.672$  and  $H_e=0.714$ ). This probably due to the type of livestock management (Jemmali et al. 2015), the same report was obtained by Piro et al. 2019 and Ouled Ahmed et al. 2018. Indeed, the expected mean heterozygous for the eight breeds studied is among the highest and most heterozygous reported for other equine populations studied by (Piro et al. 2019, Senju et al. 2016 and Khanshour et al. 2019, 2013) But similar to the study conducted by (Berber et al. 2014 and Bigi et al. 2012), and lower than that obtained by (Ouled Ahmed et al. 2018, Seyedabadi et al. 2017 and Cortés et al. 2017).

#### *Genetic diversity between breeds*

Our results showed genetic differentiation for all the populations studied, but the group of Barb/Arabian-Barb and Barb Oi breeds demonstrated a very close genetic structure. The level of differences is explained by 5.2% of the total genetic variation, and all the loci contribute to this differentiation.

Concerning  $F_{st}$ , the values being moderately low and similar for all systems studied, but very significant ( $p < 0.001$ ). The overall value of the  $F_{st}$  was much higher than the 0.3% and 0.6% obtained by Jemmali et al.

2015 and Dorji et al. 2018, respectively, and slightly similar to the 5% reported by the study of Berber et al. 2014. However, it was smaller 10% than reported by (Petersen et al. 2013). The high value of  $F_{st}$  in these studies is probably related to the fact that these works have studied breeds without genetic flow between them (Breeds horse/riding, heavy horses, ponies). In contrast, in our study, all the breeds analyzed are not isolated, and in general, the breeders practice an anarchic reproduction between them explaining the lower  $F_{st}$  value.

The divergence between the horse breeds studied was assessed using different approaches (Genetic distances, factorial analysis of FCA, and Clustering method). These three methods, based on genetic relationships, gave approximately similar results. Globally there is genetic differentiation between native Algerian horses and other breeds, and the same results are reported by Berber et al. 2014. The neighbor-joining tree (DR) showed a clear subdivision of the breeds, and the Arabian-Barb horse was closer to the Barb horses, Barb Oi horse, Algerian Selle horses, and Selle breeds. The thoroughbred and French trotting breeds are separated from the native breeds, and the Arabian horses have taken an intermediate position (Figure 3).

This result can be explained by a certain influence of the Arabian breed in the formation of a breed of origin in more recent years. The genetic proximity of the four indigenous breeds Barb, Barb Oi, Arabian-Barb, and Selle Algerian have also been demonstrated using the FCA and the Bayesian grouping. This approach gives more precise information on the relationships between the breeds. However, our estimates of the native breeds (Barb and Arabian-Barb) are similar to those reported by (Berber et al. 2014).

In conclusion, the results from this study are the first to recount the genetic diversity and constitution of equine breeds from Algeria. Overall, these breeds had high levels of significant genetic variability as per different genetic diversity parameters applied in this

study such as a relatively large number of alleles specific. Therefore, data on genetic diversity estimated by assimilating within and between breed variances may inform preservation strategies and the better establishment of priorities. The mismanagement of the breeding of some of these breeds like the Barb, Selle, Arabian-Barb, and Barb Oi breeds also can be explained by the values of  $F_{is}$ , which are positive. In addition, this study found that equine breeds in Algeria belong to three major groups that could be preserved independently to uphold their genetic diversity. Generally, these findings provide the fundamental step in the direction of judicious decision-making before the development of genetic enhancement and preservation programs without interfering with the uniqueness of equine breeds in Algeria.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the partners who provided samples: the Haras National CHAOUCHAOUA of Tiaret and the National Office for the Development of Equine and Camel Breeding (ONDEEC). We would like to thank the team of the Veterinary Genetics Laboratory of the Hassan II Agronomic and Veterinary Institute, Rabat Morocco, where the molecular analysis was performed. We also thank Amar Khaled Belalia, Prof Aumassip Kadri G., and the association Adjr. Big thanks for Tabet Aoul Mohammed, Tabet Aoul Hichem and the association Nadi Forsen Tlemcen, A special thanks to Ms. Imane Meghelli, Dr. Djahdou Ahmed, Dr. Tifiel Hakim, Dr. Brahim Youcef, Jamil Abed El Mojib, Bouandasse Amer, Madani Labbaci, and all genetics team of the University of Tlemcen, Algeria for their kind collaboration.

#### REFERENCES

- Ahmed Rayane. 2015. Parution du livre de Ahmed Rayane: "Le Barbe dans sa première greteur". Publié le 7 Septembre 2015 par LAGHOUATI. ISBN978-9947-0-4308-0.
- Belkhir K, Borsa P, Goudet J, Chikhi L, Bonhomme F. 2001. Genetix: Logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Genome et Populations, CNRS UPR 9060, Université Montpellier II, France.

- Benhamadi MA, Kamel M, Gaouar SBS. 2016. Mémoire master. Caractérisation morphométrique de la race équine Barbe dans le Nord-Ouest de l'Algérie. [http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac\\_css/doc\\_num.php?explnum\\_id=1861](http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac_css/doc_num.php?explnum_id=1861).
- Benhamadi MA, Mezouar K, Benyarou M, Bouendasse A, Gaouar SBS. 2017. Morphometric characterization of the equine barb breeds in northwest of Algeria. *Genet Biodiv J* 1 (2): 48-65.
- Benhamadi MA, Kamel M, Gaouar SBS. 2019. Livre intitulé "Caractérisation morphométrique de la Breed équine Barb dans l'Algérie".
- Berber N, Gaouar S, Leroy G, Kdidi S, Tabet Aouel N, Mehtar NS. 2014. Molecular characterization and differentiation of five horse breeds raised in Algeria using polymorphic microsatellite markers. *J Anim Breed Genet* 131 (5): 387-394. DOI: 10.1111/jbg.12092
- Berber N. 2016. [Thèses Doctorat]. Constitution d'une bibliothèque d'ADN équin. Caractérisation génétique des Breeds équines en Algérie par l'étude des microsatellites.
- Bigi D, Perrotta G. 2012. Structure génétique et différenciation du cheval italien Catria. *J Heredity* 103 (1): 134-139. DOI: 10.1093/jhered/esr121
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 32 (3): 314-331.
- Chauhan M, Gupta AK, Dhillon S. 2011. Diversité génétique et structure des populations de trois races de chevaux indiennes. *Mol Biol Rep* 38: 3505-3511. DOI: 10.1007/s11033-010-0461-z
- Cortés O, Dunner S, Gama LT, Martínez AM, Delgado JV, Ginja C, Jimenez LM, Jordana J, Luis C, Oom MM, Sponenberg DP, Zaragoza P, Biohorse Consortium, Vega-Pla JL. 2017. The legacy of Columbus in American horse populations assessed by microsatellite markers. *J Anim Breed Genet* 134 (4): 340-350. DOI: 10.1111/jbg.12255
- DAD-IS. 2018. Browse by species and country: Algeria, Horse. Accessed in October 2018.
- Dakin EE, Avise JC. 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity* 93: 504-509.
- Dorji J, Tamang S, Tshewang T, Dorji T, Dorji TY. 2018. Genetic diversity and population structure of three traditional horse breeds of Bhutan based on 29 DNA microsatellite markers. *PLoS ONE* 13 (6): e0199376. DOI: 10.1371/journal.pone.0199376
- Élise Rousseau. 2014. Tous les chevaux du monde, Delachaux and Niestlé, Septembre 2014.
- Felsenstein J. 2013. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.695. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- Goudet J. 2001. FSTAT, A Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices (Version 2.9.3). Université de Lausanne, Lausanne, Suisse (available at <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> last accessed 1 October 2011).
- Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, Pritchard JK. 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol Ecol Resour* 9 (5): 1322-1332. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x
- Jemmali B, Haddad Mm, Ouled Ahmed H, Lasfer F, Ben Aoun B, Ezzar S, Kribi S, Gtari S, Ezzaouia Mh, Rekek B. 2015. Investigation de la diversité génétique des races Barbe et Arabe Barbe en Tunisie. *J New Sci Agric Biotechnol* 21 (1): 948-956.
- Khanshour A, Conant E, Juras R, Cothran EG. 2013. Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Arabian horse populations. *J Hered* 104 (3): 386-398. DOI: 10.1093/jhered/est003
- Khanshour AM, Hempsey EK, Juras R, Cothran EG. 2019. Genetic characterization of Cleveland bay horse breed. *Diversity* 11 (10): 174. DOI: 10.3390/d11100174.
- Ling YH, Ma YH, Guan WJ, Cheng YJ, Wang YP, Han JL, Mang L, Zhao QJ, He XH, Pu YB, Fu BL. 2011. Evaluation of the genetic diversity and population structure of Chinese indigenous horse breeds using 27 microsatellite markers. *Anim Genet* 42 (1): 56-65. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2010.02067.x
- Mario C, Valentina R, Raffaella R, Vincenzo C. 2019. Genetic diversity of the Italian thoroughbred horse population. *Italian J Anim Sci* 18 (1): 538-545. DOI: 10.1080/1828051X.2018.1547128
- Marshall TC. 2006. CERVUS, 3.0, Cervus is a computer program for assignment of parents to their offspring using genetic markers, Cervus, a Windows package for parentage analysis using likelihood approach, CERVUS was written by Tristan Marshall (1998/2006) <http://www.fieldgenetics.com>.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16 (3): 1215. DOI: 10.1093/nar/16.3.1215
- Ouled Ahmed H, Fatnassi M, Ferchichi H, Baccouche R, Lasfar F, Zaouia M, Ben Younes A, Haddad M, Trimeche A. 2018. Analyse génétique et relations phylogénétiques du cheval Barbe par l'utilisation des microsatellites. *Revue Méd Vét* 169 (4-6): 103-109.
- Peakall R, Smouse PE. 2012. GenAIEx 6.5: Genetic analysis in Excel, population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* 28 (19): 2537-2539. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts460
- Petersen JL, Mickelson JR, Cothran EG, Andersson LS, Axelsson J, Bailey E, et al. 2013. Genetic diversity in the modern horse illustrated from genome-wide SNP data. *PLoS ONE* 8 (1): e54997. DOI: 10.1371/journal.pone.0054997
- Piro M, Alyakine H, Ezzaouia M, Lasfar F, Ouled Ahmed H, Ouragh L. 2019. Analyse génétique and relations phylogénétiques du cheval Barbe par l'utilisation des microsatellites. *Rev Mar Sci Agron Vét* 7 (1): 149-157.
- Putnová L, Štöhl R, Vrtková I. 2019. Using nuclear microsatellite data to trace the gene flow and population structure in Czech horses. *Czech J Anim Sci* 64: 67-77.
- Senju N, Tozaki T, Kakoi H, Shinjo A, Matsuyama R, Almunia J, Takasu M. 2016. Genetic diversity of the Yonaguni horse based on polymorphisms in microsatellites and mitochondrial DNA. *J Vet Med Sci* 79 (2): 425-431. DOI: 10.1292/jvms.16-0040
- Seo JH, Park KD, Lee HK, Kong HS. 2016. Genetic diversity of Halla horses using microsatellite markers. *J Anim Sci Technol* 58 (1): 40. DOI: 10.1186/s40781-016-0120-6.
- Seyedabadi HR, Savar Sofla S. 2017. Microsatellite analysis for parentage verification and genetic characterization of the Turkmen horse population. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 23 (3): 467-471. DOI: 10.9775/kvfd.2016.17096.
- Szilvia K, Katalin P, Ante I, Bogumila J, Tomasz P, András J, Sándor M. 2013. Genetic characterization and population bottleneck in the Hucul horse based on microsatellite and mitochondrial data. *Biol J Linnean Soc* 109 (1): 54-65. DOI: 10.1111/bij.12023.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle TBJ, et al. 1997. Popgene: The user-friendly shareware for population genetic analysis. Edmonton, University of Alberta, Canada.

# ***ANNEXE***



	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>	<b>Male</b>	<b>Total= / Poulains =                      Adultes =</b>
		<b>Femelle</b>	<b>Total=                                      /Poulains =                      Adultes=</b>

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 02

**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 15 ML 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 30 MN (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 15 MN, LE SURNAGEANT EST ÉLIMINÉ ET LE CULOT OBTENU EST SUSPENDU DANS 30 ML 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 ML DE SOLUTION DE LYSE (SLB : TRIS/HCL 10MM, EDTA 0,1 M, 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, 25 L ML 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 ML 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 SOLVATATION 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'OEIL 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 ML 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 24 H POUR AVOIR ENFIN UN ADN COMPLÈTEMENT DISSOUT PRÊT À ÊTRE UTILISÉ (DOSAGE, PCR...).

# **Références Bibliographiques**

**A, DeNise S, Hanotte O, Dhara S, Glazko V, Broadhead A, Davoli R, Russo V, Soller M.** (2000). Geographic and breed distribution of an Msp I PCR-RFLP in bovine growth, *Animal Genetics*, 31: 210–213.

**Aberle KS, Hamann H, Drogemuller C, Distl O.** (2007). Phylogenetic relationships of German heavy draught horse breeds inferred from mitochondrial DNA D-loop variation, *J, Anim, Breed, Genet*, 124, 94–100.

**Ahmed Rayane.** (2015). Parution du livre d'Ahmed Rayane: "Le Barbe dans sa première greteur". Publié le 7 Septembre 2015 par LAGHOUATI. ISBN978-9947-0-4308-0.

**Ajmone-Marsan P, Valentini A, Cassandro M, Vecchiotti-Antaldi G, Bertoni G, Kuiper MTR.** (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.

**Andru J.** (2012). Les populations invasives de rongeurs en milieu agricole : une étude menée dans des cultures de grande échelle, les plantations de palmiers à huile en Indonésie - Approche paysagère, génétique et écotoxicologique – Thèse de doctorat, Université de Lyon, France p180.

**Baumung R., Simianer H. et Hoffmann I.** (2004). Genetic diversity studies in farm animals a survey. *J Anim Breed Genet.* 121, 361–373.

**Bautista Salas AM.** (2009). Caractérisation agro-morphologique et moléculaire d'une collection de landraces péruviennes de pigeonpea (*Cajanus cajan* L, Millsp,) pour l'analyse de sa diversité, PhD Thesis, FUNDP, p, 245.

**Beckman JS, Weber JL.** (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, Goudet J, Chikhi L, Bonhomme F.** (2001). GENETIX : logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations, Laboratoire Genome et Populations, CNRS UPR 9060, Université Montpellier II, France.

**Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N., Bonhomme F.** (2002). GENETIX 4.04, Logiciel sous Windows™ pour la Génétique des Populations. Montpellier (France):

Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II.

**BEN AISSA R. et TAMZALI Y.** (1989). La situation actuelle du cheval Barbe en Algérie, *Maghreb Vét.*, 3, 14, 21-23.

**BENABDELMOUMENE M.S.** (2003). Races équine (chevaux, mulets, ânes). In : Recueil des Communications «Biodiversité Importante pour l'Agriculture», Tome X, Atelier 3. MATE-GEF/PNUD Projet ALG/97/G31, 62-67.

**Benhamadi MA, Kamel M, Gaouar SBS.** (2016). Mémoire master. Caractérisation morphométrique de la race équine Barbe dans le Nord-Ouest de l'Algérie. [http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac\\_css/doc\\_num.php?explnum\\_id=1861](http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac_css/doc_num.php?explnum_id=1861).

**Benhamadi MA, Kamel M, Gaouar SBS.** (2019). Livre intitulé "Caractérisation morphométrique de la Breed équine Barb dans l'Algérie".

**Benhamadi MA, Mezouar K, Benyarou M, Bouendasse A, Gaouar SBS.** (2017). Morphometric characterization of the equine barb breeds in northwest of Algeria. *Genet Biodiv J* 1 (2): 48-65.

**Benzécri JP.** (1973). Théorie de l'information et classification d'après un tableau de contingence. L'analyse des données, tome 1, Ed. Dunod, Paris.

**Berber N, Gaouar S, Leroy G, Kdidi S, Tabet Aouel N, Mehtar NS.** (2014). Molecular characterization and differentiation of five horse breeds raised in Algeria using polymorphic microsatellite markers. *J Anim Breed Genet* 131 (5): 387-394. DOI: 10.1111/jbg.12092.

**Berber Naima.** (2016). [Thèses Doctorat]. Constitution d'une biothèque d'ADN équin. Caractérisation génétique des Breeds équines en Algérie par l'étude des microsatellites.

**Bigi D, Perrotta G.** (2012). Structure génétique et différenciation du cheval italien Catria. *J Heredity* 103 (1): 134-139. DOI: 10.1093/jhered/esr121.

**Black W.** (1993). PCR with arbitrary primers: approach with care, *Insect Molecular Biology*, 2(1), 1{6}.

**Boichard D, Le Roy P, Levéziel H, Elsen JM.** (1998). Utilisation des marqueurs moléculaires en génétique animale, *INRA Prod, Anim*, 11(1) : 67-80.

- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW.** (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms, *Am J Hum Genet*, 32(3):314-31.
- Bowling AT, 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, In Aberle et al 2007.
- Bruford MW, Wayne RK.** (1993). Microsatellites and their application to population genetic studies current opinion in Genetics and Development 3, 939 –943, In Moazami – Gondarzi K, (1994).
- Bucheton P, Murail MA, Thiéblemont C.** (2008). L'“évolution comment ça marche, Editions Bordas- Manuel de l'élève, p : 112.
- 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). Etude 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 GK, MacAvoy ES.** (2000). Microsatellites : consensus and controversy, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 126, 455-476.
- Chapuis MP, Estoup A .** (2007). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol Biol Evol* 24: 621–631.
- Chauhan M, Gupta AK, Dhillon S.** (2011). Diversité génétique et structure des populations de trois races de chevaux indiennes. *Mol Biol Rep* 38: 3505-3511. DOI: 10.1007/s11033-010-0461-z.

**Cooper DN, Krawczak M, Antonorakis SE.** (1995). The nature and mechanisms of human gene mutation, In: C, Scriver, AL Beaudet, WS Sly, D, Valle (eds), *Metabolic and molecular bases of inherited disease*, 7th ed, 259-261, McGraw-Hill, New-York.

**Cortés O, Dunner S, Gama LT, Martinez AM, Delgado JV, Ginja C, Jimenez LM, Jordana J, Luis C, Oom MM, Sponenberg DP, Zaragoza P, Biohorse Consortium, Vega-Pla JL.** (2017). The legacy of Columbus in American horse populations assessed by microsatellite markers. *J Anim Breed Genet* 134 (4): 340-350. DOI: 10.1111/jbg.12255.

**Cribiu J.M., Senius C., Cristian L.C., Ono S.** (1998) Chromosomes of the horse, the donkey and the mule. *Chromosoma*. 13, 243–248.

**DAD-IS.** (2018). Browse by species and country: Algeria, Horse. Accessed in October 2018.

**Dakin EE, Avise JC.** (2004). Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity* 93: 504-509.

**De Meeûs T.** (2012). *Initiation à la génétique des populations naturelles : Applications aux parasites et à leurs vecteurs*, Marseille : IRD Editions.

**Delacretaz-Wolff AS.** (1997). *Etudes génétiques et sérologiques des systèmes de groupes sanguins du mouton*. Thèse Doctorat, Ecole Polytechnique Fédérale De Zurich, Suisse. p.190.

**Dorji J, Tamang S, Tshewang T, Dorji T, Dorji TY.** (2018). Genetic diversity and population structure of three traditional horse breeds of Bhutan based on 29 DNA microsatellite markers. *PLoS ONE* 13 (6): e0199376. DOI: 10.1371/journal.pone.0199376.

**Earl DA, vonHoldt BM.** (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method, *Conservation Genetics Resources* vol, 4 (2) 359-361.

**Élise Rousseau.** (2014). *Tous les chevaux du monde*, Delachaux and Niestlé, Septembre 2014.

**El-Kohen M.** (2006). Le cheval barbe : présentation. *Rev Organism Mond Cheval Barbe*.3, 7–8.

**Evanno G, Regnaut S, Goudet.** (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study, *MolEcol*, 14: 2611–2620.

- Excoffier L, Lischer HEL.** (2010). Arlequin suite v 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK.** (2007). Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles, *Mol, Ecol, Notes*, 7:574–578.
- 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. P 3888.
- FAO/PNUE.** (2000). Liste mondiale d'alerte pour la diversité des animaux domestique, 3ème édition édité par B.D. Scherf. Rome.
- Felsenstein J.** (1985). Confidence limits on phylogenics: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783-791.
- Felsenstein J.** (1993). PHYLIP Phylogeny inference Package, Version 3.5 Edition. Department of Genetics. Washington University, Seattle.
- Felsenstein J.** (2013). PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.695. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- Fotsa JC.** (2008). Caractérisation des populations de poules locales (*Gallus gallus*) au Chaid–
- Saoudi Y.** (1988). La préhistoire du cheval en Afrique du Nord. *Maghreb vétérinaire*. 3,14, 7. Cameroun. Ph.D thesis, AgroParisTech, p. 301.
- Frankham R.** (2005). Genetics and extinction. *Biological Conservation*. 126, 131–140.
- Franz Hančar.** (1955). *Das Pferd in prähistorischer und früher historischer Zeit*, Vienna-Munich.
- Gallimard .**(1997). 484 p., chap. 9 (« Les zèbres, les mariages malheureux et le principe de Anna Karénine »).
- Gaouar SBS.** (2009). Etude de la biodiversité : Analyse de la variabilité génétique des races ovines algériennes et de leurs relations phylogénétiques par l'utilisation des microsatellites, Thèse de Doctorat, Université des sciences et de technologie d'Oran (USTO).

**Goudet J.** (2001). FSTAT, A Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices (Version 2.9.3). Université de Lausanne, Lausanne, Suisse (available at <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> last accessed 1 October 2011).

**Guo SW, Thompson EA.** (1992). Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles, *Biometrics*, 48, 361-372.

**Hall, Marvin H. and Patricia M. Comerford.** (1992). "Pasture and Hay for Horses - Ergonomy facts 32," University of Pennsylvania, Cooperative Extension Service.

**Haras Nationaux Français.** (2010). Chevaux de sang : le barbe (2009d). [En ligne] Adresse URL : [http://www.haras-nationaux.fr/uploads/tx\\_dlcubehshop/sang\\_barbe\\_04.pdf](http://www.haras-nationaux.fr/uploads/tx_dlcubehshop/sang_barbe_04.pdf) consulté le 01/12/2010.

**Harrison RG.** (1989). Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolution biology, *Trends in Ecology and Evolution*, 4, 6-11.

**Hartl DL, Clark AG.** (1997). Principles of population genetics, Sinauer Associates, INC Cenderland.

**Hartl DL.** (1988). Génétique des populations. Médecine-Science Flammarion, Paris : p.305

**Helen Briggs.** (2002). Les origines du cheval domestique révélées sur BBC News Online, consulté le 7 juillet 2008.

**Hill EW, Bradley DG, Al-Barody M, Ertugol O, Splan R K, Zakharov I, Cunningham EP.** (2002). History and integrity of thoroughbred dam lines revealed in equine mtDNA variation, *Anim, Genet*, 33, 287–294.

**Horse Nutrition-Feeding factors.** (2013). Bulletin 762-00, Ohio State University. consulté le 2013-04-09.

**HOUP, KA, WILLIS, MB.** (2001). Genetics of Behaviour. In: A. Ruvinsky (Ed.): The Genetics of the Dog. CABIPublishing, Wallingford-New York, pp. 371-400.

**Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, Pritchard JK.** (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol Ecol Resour* 9 (5): 1322-1332. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x

**Huson DH, Scornavacca C.** (2012). Dendroscope 3- An interactive viewer for rooted phylogenetic trees and networks, *Systematic Biology*; doi: 10,1093/sysbio/sys062.

**J. Weinstock et al.** (2005). « Evolution, systematics, and phylogeography of Pleistocene horses in the New World: a molecular perspective », *PLoS Biology*, vol. 3, no 8, 2005, e241 ([PMID 15974804](#), [PMCID 1159165](#), [DOI 10.1371/journal.pbio.0030241](#), [lire en ligne \[archive\]](#)], consulté le 19 décembre 2008).

**Jaime Lira , Anna Linderholm , Carmen Olaria , Mikael Brandström Durling , M. Thomas P. Gilbert , Hans Ellegren, Eske Willerslev, Kerstin Lidén , Juan Luis Arsuaga , Anders Götherström .** (2010). « Ancient DNA reveals traces of Iberian Neolithic and Bronze Age lineages in modern Iberian horses », *Molecular Ecology*, vol. 19, no 1, 2010, p. 64–78 (PMID 19943892, DOI 10.1111/j.1365-294X.2009.04430.x, [lire en ligne \[archive\]](#)).

**Jean Guillaume.** (2010). *Ils ont domestiqué plantes et animaux : Prélude à la civilisation*, Éditions Quæ, 2010, 480 p. (ISBN 978-2-759-20892-0 et 2-759-20892-3).

**Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL.** (1985). Hypervariable „minisatellite“ regions in human DNA. *Nature*, 314, 67-73.

**Jemmali B, Haddad Mm, Ouled Ahmed H, Lasfer F, Ben Aoun B, Ezzar S, Kribi S, Gtari S, Ezzaouia Mh, Rekik B.** (2015). Investigation de la diversité génétique des races Barbe et Arabe Barbe en Tunisie. *J New Sci Agric Biotechnol* 21 (1): 948-956.

**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 Organismes Mond. Cheval Barbe*. 7, 9–45.

**Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC.** (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment, *Molecular Ecology* 16:1099-1106.

**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, Dovc P.** (2002). History of Lipizzan horse maternal lines as revealed by mtDNA analysis, *Genet, Sel, Evol*, 34, 635–648, In Aberle et al 2007.

**Khanshour A, Conant E, Juras R, Cothran EG.** (2013). Microsatellite analysis of genetic diversity and population structure of Arabian horse populations. *J Hered* 104 (3): 386-398. DOI: 10.1093/jhered/est003.

- Khanshour AM, Hempsey EK, Juras R, Cothran EG.** (2019). Genetic characterization of Cleveland bay horse breed. *Diversity* 11 (10): 174. DOI: 10.3390/d11100174.
- Klasset J.** (2006). Le lait de jument. Revue de presse éditée par Lactarium Parallèle Vitale. 2, 5 – 8.
- Klungland H, Vage DI, Gomez-Raya L, Adalsteinsson S, 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., Jávor 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.
- Lætitia Bataille.** (2008). « Barbe », dans *Races équines de France*, France Agricole Editions, (ISBN 2855571545 et 9782855571546), p. 41-46.
- Laliberté HY.** (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. Mémoire de maîtrise en science biologiques. Université de Sherbrooke, Québec, Canada, 74 P.
- Leroy G.** (2008). Genetic diversity and breed management in dogs, Ph,D Thesis, AgroParisTech, p:210.
- Levinson G, Gutman GA.** (1987). *Molecular Biology and Evolution*, 4(3), 203-221.
- Ling YH, Ma YH, Guan WJ, Cheng YJ, Wang YP, Han JL, Mang L, Zhao QJ, He XH, Pu YB, Fu BL.** (2011). Evaluation of the genetic diversity and population structure of Chinese indigenous horse breeds using 27 microsatellite markers. *Anim Genet* 42 (1): 56-65. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2010.02067.x.
- Mantel N.** (1967). The detection of disease clustering and generalized regression approach. *Cancer Res.* 27 : 209-220.
- Mario C, Valentina R, Raffaella R, Vincenzo C.** (2019). Genetic diversity of the Italian thoroughbred horse population. *Italian J Anim Sci* 18 (1): 538-545. DOI: 10.1080/1828051X.2018.1547128
- Marshall TC.** (2006). CERVUS, 3,0, Cervus is a computer program for assignment of parents to their offspring using genetic markers, Cervus, a Windows package for parentage

- analysis using likelihood approach, CERVUS was written by Tristan Marshall (1998/2006) <http://www.fieldgenetics.com> (Eriřimtarihi: 02,07,2008).
- 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.
- Montaldo HH, Meza-Herrera CA.** (1998). Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement livestock, *Electronic journal of Biotechnology*, 1, 1 – 7.
- Nei M.** (1987). *Molecular evolutionary genetics*, Columbia 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.
- Nielsen D, Steele MR, et al.** (1994). Chromosomal localization of the callipyge gene in sheep (*Ovis aries*) using bovine DNA markers, *Proc Natl Acad Sci USA*. 91:3019–3023.
- Nikolic N.** (2009). Diversité génétique et taille efficace chez les populations de poissons sauvages : le cas du saumon atlantique un poisson migrateur amphihaline menacé. Ph.D Thesis, Université Toulouse III, p. 301.
- Ollivier L, Chevalet C, Fouley JL.** (2000). Utilisation des marqueurs pour la caractérisation des ressources génétiques, *INRA Prod, Anim*, numéro hors série « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales », 247-252.
- Ouled Ahmed H, Fatnassi M, Ferchichi H, Baccouche R, Lasfar F, Zaouia M, Ben Younes A, Haddad M, Trimeche A.** (2018). Analyse génétique et relations phylogénétiques du cheval Barbe par l'utilisation des microsatellites. *Revue Méd Vét* 169 (4-6): 103-109.
- 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.
- Pauline Agoutin.** (2004). Guide vert : Les chevaux ; Solar ; 2000 ; pg 14-16. Jussiaux M., Trillaud C. ; La reproduction chez le cheval, l'étalon ; Ed André Lesson ; 1977. Les Haras Nationaux ; Gestion de la Jument, guide pratique ; 2001 ; 3ème édition, Paris. Les Haras Nationaux ; Le cheval : technique d'élevage ; 2001 ; 9ème édition, Paris. Les Haras Nationaux Reproduction en liberté chez la jument ; 1999, Paris. Palmer E. ; La reproduction chez le cheval, la jument ; Ed Maloine ; 1978. <http://webtab.ac-bordeaux.fr/Pedagogie/SVT/Res-Peda/Prog-Lyc/Term-S/Procreat/Cheval/Reprod.pdf>.

- Peakall R, Smouse PE.** (2006). GENALEX 6: Genetic Analysis in Excel, Population genetic software for teaching and research, *MolEcol Notes*, 6: 288–295.
- Peakall R, Smouse PE.** (2012). GenAlEx 6,5: genetic analysis in Excel, Population genetic software for teaching and research – an update, *Bioinformatics* 28: 2537-2539.
- Petersen JL, Mickelson JR, Cothran EG, Andersson LS, Axelsson J, Bailey E, et al.** (2013). Genetic diversity in the modern horse illustrated from genome-wide SNP data. *PLoS ONE* 8 (1): e54997. DOI: 10.1371/journal.pone.0054997.
- Petit RJ, El Mousadik A, Pons O.** (1998). Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers, *Conservation Biology*, 12:844-855.
- Pierre-André Poncet.** (2009). Le Cheval des Franches-Montagnes à travers l'histoire, [Société jurassienne d'émulation](#), 2009, 485 p. ([ISBN 294004340X](#) et [9782940043408](#)).
- Piro M, Alyakine H, Ezzaouia M, Lasfar F, Ouled Ahmed H, Ouragh L.** (2019). Analyse génétique and relations phylogénétiques du cheval Barbe par l'utilisation des microsatellites. *Rev Mar Sci Agron Vét* 7 (1): 149-157.
- Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, 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 JK, Stephens M, Donnelly P.** (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data, *Genetics*, 155: 945–959.
- Putnová L, Štohl R, Vrtková I.** (2019). Using nuclear microsatellite data to trace the gene flow and population structure in Czech horses. *Czech J Anim Sci* 64: 67-77.
- Rahal K., Guedioura A., Oumouna M.** (2009). Paramètres morpho métriques du cheval barbe de Chaouchaoua. *Rev Méd Vét.* 160, 586–589.
- Rannala B, Mountain JL.** (1997). Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 94, 9197-9201.
- Rao KB, Bhat KV, Totey SM.** (1996). Detection of species – specific genetic markers infarm animal thought random amplified polymorphic DNA (RAPD), *Genetic anal*, 13 (5), 135 – 138.
- Raymond M, Rousset F.** (1995). GENEPOP (Version 1, 2): Population Genetics software for exact tests and ecumenism, *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.

**Rincon G, D'Angelo M, Gagliardi R, Kelly L, Llambi S, Postiglioni A.** (2000). Genomic polymorphism in Uruguayan Creole cattle using RAPD and microsatellite markers, *Research in Veterinary Science*, 69:171-174.

**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.

**Rose-Marie Arbogast.** (2002). Archéologie du cheval : des origines à la période moderne en France, Errance, coll. « des Hespérides », 2002, 127 p. (ISBN 978-2-877-72211-7 et 2-877-72211-2).

**Rothfels K.M., Axelrad A.A., Chtiminovi L., Chmlel 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. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406-425.

**Saleh D.** (2008). Structuration génétique des populations de l'aleurode *Bemisia tabaci* : Importance du biotype, de l'origine géographique et de la plante-hôte chez un complexe d'espèces phytophages, Thèse Master 2, Centre de Biologie et de Gestion des Populations (CBGP), MONTPELLIER, France, P59.

**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.

**Sam. Y.** (2018). Révision des Équidés (Mammalia, Perissodactyla) du site pléistocène moyen du lac Karâr (Tlemcen, Algérie). *Geodiversitas* 40 (8): 171-182. <https://doi.org/10.5252/geodiversitas2018v40a8>. <http://geodiversitas.com/40/8>.

**Senju N, Tozaki T, Kakoi H, Shinjo A, Matsuyama R, Almunia J, Takasu M.** (2016). Genetic diversity of the Yonaguni horse based on polymorphisms in microsatellites and mitochondrial DNA. *J Vet Med Sci* 79 (2): 425-431. DOI: 10.1292/jvms.16-0040.

**Seo JH, Park KD, Lee HK, Kong HS.** (2016). Genetic diversity of Halla horses using microsatellite markers. *J Anim Sci Technol* 58 (1): 40. DOI: 10.1186/s40781-016-0120-6.

**Seyedabadi HR, Savar Sofla S.** (2017). Microsatellite analysis for parentage verification and genetic characterization of the Turkmen horse population. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 23 (3): 467-471. DOI: 10.9775/kvfd.2016.17096.

**SheJX, Autem M, Kotoulas G, Pasteur N, Bonhomme F.** (1987). Multivariate analysis of genetic exchanges between *Solea aegyptiaca* and *Solea senegalensis* (Teleosts, Soleidae), *Biol, J, Linn, Soc*, 32: 357-371.

**Solignac M, Periquet G, Anxolabéhère D, Petit C.** (1995). Génétique et évolution Tome II. L'espèce, l'évolution moléculaire. Collection Méthodes ; Hermann, Editeurs des Sciences et des Arts. 367pp.

**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.

**Stockwell, G. and Harrington, M.** (2003). The incidental development of L2 proficiency in NS-NNS email interactions. *CALICO Journal* 20 (2), 337–359.

**Syvanen, A.C.** (2001). Accessing genetic variation genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nature Reviews Genetics*, 2: 930–941.

**Szilvia K, Katalin P, Ante I, Bogumila J, Tomasz P, András J, Sándor M.** (2013). Genetic characterization and population bottleneck in the Hucul horse based on microsatellite and mitochondrial data. *Biol J Linnean Soc* 109 (1): 54-65. DOI: 10.1111/bij.12023.

**Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S.** (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6,0, *Molecular Biology and Evolution*:30 2725-2729.

**Toro M, Lero A.** (2004). charecterisation and concervation of genetic diversity between breeds. 55 the Annual Meeting of the European Association of Animal Production, Bled, Slovenia, 5-8 September 2004.

**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.

**Trommelen GJ, Den Daas JH, Vijg J, Uitterlinden AG.** (1993). DNA profiling of cattle using microsatellite and minisatellite, *Animal Genetics*, 24 (4), 235 – 241.

**Vawter L, Brown WM.** (1986). Nuclear and mitochondrial DNA comparison reveal externe rate in the molecular clock, *Science*, 234, 194-196.

**Vera Eisenmann.** (1997). « La domestication du cheval : nouvelles découvertes, nouvelle approche », Journée de la recherche équine, CEREOPA, 27 janvier 1997.

**Vera Warmuth, Anders Eriksson, Mim Ann Bower, Graeme Barker, Elizabeth Barrett, Bryan Kent Hanks, Shuicheng Li, David Lomitashvili, Maria Ochir-Goryaeva, Grigory V. Sizonov, Vasilij Soyonov et Andrea Manica.** (2012). « Reconstructing the origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe », Francisco Mauro Salzano, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil, 30 mars 2012, PNAS Direct Submission. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* .

**Verrier E, colleau JJ, Foulley JL.** (1989). Perspectives d'évolution de la variabilité génétique et possibilité de progrès à long terme dans les populations animales sélectionnées, In : Molénat M, et Verrier E, la gestion des ressources génétiques des espèces animales domestiques, Ed Lavoisier, 62-70.

**Vos P, Hogers R, Bleeker M, Van De Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M.** (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting, *Nucleic Acids Research*, 23, 4407-4414.

**Wade CM, Giulotto E, Sigurdsson S, Zoli M, Gnerre S, Inslan F, Lear TL, Adelson DL, Bailey E, Bellone RR, Blöcker H, Distl O, Edgar RC, Garber M, Leeb T, Mauceli E, MacLeod JN, Penedo MC, Raison JM, Sharpe T, Vogel J, Andersson L, Antczak DF, Biagi T, Binns MM, Chowdhary BP, Coleman SJ, Della Valle G, Fryc S, Guérin G, Hasegawa T, Hill EW, Jurka J, Kiialainen A, Lindgren G, Liu J, Magnani E, Mickelson JR, Murray J, Nergadze SG, Onofrio R, Pedroni S, Piras MF, Raudsepp T, Rocchi M, Røed KH, Ryder OA, Searle S, Skow L, Swinburne JE, Syvänen AC, Tozaki T, Valberg SJ, Vaudin M, White JR, Zody MC; Broad Institute Genome Sequencing Platform;**

**Broad Institute Whole Genome Assembly Team, Lander ES, Lindblad-Toh K** .(2009). Science. 2009 Nov 6; 326(5954):865-7. doi: 10.1126/science.1178158.

**Williams JGK, Kublik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV.** (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acids research*, 18, 6531-6535.

**Wong, G.K., Liu, B., Wang, J., Zhang, Y., Yang, X., Zhang, Z., Meng, Q., Zhou, J., Li, D., Zhang, J., Ni, P., Li, S., Ran, L., Li, H., Zhang, J., Li, R., Li, S., Zheng, H., Lin, W., Li, G., Wang, X., Zhao, W., Li, J., Ye, C., Dai, M., Ruan, J., Zhou, Y., Li, Y., He, X., Zhang, Y., Wang, J., Huang, X., Tong, W., Chen, J., Ye, J., Chen, C., Wei, N., Li, G., Dong, L., Lan, F., Sun, Y., Zhang, Z., Yang, Z., Yu, Y., Huang, Y., He, D., Xi, Y., Wei, D., Qi, Q., Li, W., Shi, J., Wang, M., Xie, F., Wang, J., Zhang, X., Wang, P., Zhao, Y., Li, N., Yang, N., Dong, W., Hu, S., Zeng, C., Zheng, W., Hao, B., Hillier, L.W., Yang, S.P., Warren, W.C., Wilson, R.K., Brandstrom, M., Ellegren, H., Crooijmans, R.P., van der Poel, J.J., Bovenhuis, H., Groenen, M.A., Ovcharenko, I., Gordon, L., Stubbs, L., Lucas, S., Glavina, T., Aerts, A., Kaiser, P., Rothwell, L., Young, J.R., Rogers, S., Walker, B.A., van Hateren, A., Kaufman, J., Bumstead, N., Lamont, S.J., Zhou, H., Hocking, P.M., Morrice, D., de Koning, D.J., Law, A., Bartley, N., Burt, D.W., Hunt, H., Cheng, H.H., Gunnarsson, U., Wahlberg, P., Andersson, L., Kindlund, E., Tammi, M.T., Andersson, B., Webber, C., Ponting, C.P., Overton, I.M., Boardman, P.E., Tang, H., Hubbard, S.J., Wilson, S.A., Yu, J., Wang, J., Yang, H.; International Chicken Polymorphism Map Consortium.** (2004). A genetic variation map for chicken with 2.8 million singlenucleotide polymorphisms. *Nature*, 432: 717–722.

**Wright S.** (1931). Evolution in Mendelian populations. *Genetics*. 16, 97–159.

**Wright S.** (1978). *Evolution and the Genetics of populations Variability within and Among Natural Population*. University of Chicago.

**Yeh FC, Yang RC, Boyle TBJ, et al.** (1997). *Popgene: The user-friendly shareware for population genetic analysis*. Edmonton, University of Alberta, Canada.

**Yeh FC, Yang RC, Boyle TBJ, Ye ZH, Mao JX.** (1997). *POPGENE: The User-Friendly Shareware for Population Genetic Analysis*, Edmonton, AB, Canada: University of Alberta; 1997.

**YH, Kim KI, Cothran EG, Flannery AR.** (2002). Genetic diversity of Cheju Horses (*Equus caballus*) determined by using mitochondrial DNA D-loop polymorphism, *Biochem, Genet*, 40, 175–186.

## *Abstract*

The Algerian horse populations Barbe, Barbe of unknown origin, Arab-Barbe, Arab, English Thoroughbred, French Trotter, Selle Algérien and Selle, undergo a significant loss of genetic variability due to uncontrolled crossbreeding and sales for The foreigners. This should be evaluated before any breed conservation and management program. To this end, genetic analyzes of diversity and differentiations were carried out on eight populations of horses of breeds bred in Algeria with 17 microsatellites. All microsatellite markers were highly polymorphic for all races. A total of 170 alleles were detected in the 279 horses studied. The mean number of alleles per locus was highest in Arabe-Barbe horses (7.88) and lowest in the Selle breed (4.94). The observed heterozygosity ranged from 0.685 to 0.625 for the Barbe breed and the Selle breed, respectively, while the expected heterozygosity varied from 0.746 to 0.678 for the Arab-Barbe breed and the Algerian Selle breed respectively. The  $H_o$  value is lower than that of  $H_e$ . The genetic diversity estimated via  $F_{st}$  between breeds was significantly important. Three different approaches to assess genetic relationships have been applied; namely, genetic distances, factorial correspondence analysis and mix analysis have shown that a significant amount of genetic variation is maintained in native and autochthonous horse populations. The Selle Algerian and Selle breeds appear to be the most genetically related and support the fact that there are crosses between these two breeds.

**Keywords:** Algeria, native horse breeds, microsatellites, genetic structure of the population.

