

Caractérisation génétique du troupeau N'Dama au ranch de Madina-Diassa au Mali

KONATE Drissa¹, TRAORE Diakaridia², DAO Sognan¹, FANE Rokiatou¹, BABANA H. Amadou¹
Laboratoire de Recherche en Microbiologie et Biotechnologie Microbienne, Faculté des Sciences et techniques,
BP E3206, Bamako-Mali

¹Université des Sciences et Techniques et des Technologies de Bamako

² Centre National de l'Insémination Artificielle Animale, Sotuba ex PDAM, Bamako, Mali

Corresponding Email address: konatedrissa80@gmail.com

RESUME : Au Mali, peu de connaissances existent sur les caractéristiques génétiques de nos races autochtones en particulier de la N'Dama. La présente étude visait à étudier le polymorphisme de neuf (9) marqueurs microsatellites et du gène d'hémoglobine (bêta-globine) pour apprécier la variabilité génétique chez cent-vingt 120 taurins N'Dama du Centre de Conservation, de Multiplication et de Diffusion du Bétail Ruminant Endémique (CCMD/BRE) de Madina Diassa au Mali. Au total, 60 allèles et 107 profils de migration ont été identifiés, avec un nombre d'allèles variant de deux (2) pour BM1824 à douze (12) pour INRA 37. Une forte diversité génétique a été observée avec un taux d'hétérozygotie moyen de 0,58 et un PIC moyen de 0,54. L'analyse des coefficients de similarité génétiques entre les animaux par la méthode UPGMA a permis de regrouper les génotypes en 16 classes. La majorité des individus ont été regroupée dans la classe 1 (47%). Trois génotypes du gène β -globine ont été identifiés : AA, AB et AB* avec des fréquences génotypiques respectives de 10,4%, 36,2% et 53,4%. Une forte représentativité de l'allèle A (55%) par rapport à l'allèle B (18%) et B* (27%) a été observée. Cette étude de diversité génétique est nécessaire pour la conservation et la préservation durable de nos races autochtones.

Mots clés : N'Dama, Caractérisation, Marqueurs microsatellites, gène Hémoglobine, Mali

1. INTRODUCTION

Le Mali est un pays agropastoral, avec une grande diversité de races dont le cheptel bovin est estimé à près de 10 313 330 têtes (DNPIA 2014). Le cheptel bovin est composé du *Bos indicus* (ou Zébu) localisé au nord du pays et du *Bos taurus* (taurin) et leurs produits de croisement qui se rencontrent au sud du pays. Le cheptel *Bos taurus* est représenté par la N'Dama et leurs métis (mérés) au Sud du Mali. La N'Dama est une race adaptée à l'écosystème particulier des zones subhumide et humide du Mali où vivent les mouches tsé-tsé (glossines) vecteurs de la trypanosomiase animale. Une maladie qui empêche les autres races bovines de se développer dans cette zone surtout pendant la saison pluvieuse. La N'dama et ces produits de croisement (mérés etc...) ainsi d'autres taurins tels que les Baoulés, Borgou résistent mieux à cette maladie par opposition aux zébus qui sont très sensibles à la trypanosomiase. Les performances zootechniques de la N'Dama sont bien connues à travers des études effectuées par plusieurs auteurs, notamment Okouyi

et al. (2014) ou Touré (1977). La N'Dama présente plusieurs robes avec la robe fauve dominante et recherchée. Elle est très souvent associée à la pureté de la race. Les N'Dama à robe fauve font l'objet de demande croissante au niveau des stations d'élevage et des ranchs ainsi qu'au niveau des pays qui l'importent (Hoste *et al.* 1988). La robe fauve serait liée aussi à une plus grande résistance à la trypanosomiase (Hoste *et al.* 1988). Les N'Dama de race pure n'ont que l'hémoglobine de type A (Touré 1977).

Avec la demande croissante des produits animaux (en lait et en viande), les éleveurs ont tendance à introduire d'autres gènes par le biais de l'insémination artificielle avec les races exotiques ou simplement le croisement avec les zébus. Par ailleurs, aujourd'hui avec les impacts des changements climatiques, les zones de pâturage des taurins au Mali sont envahies par les zébus venant des zones sahéliennes. Cette situation a fortement contribué à un métissage de la N'Dama avec comme conséquence les croisements indésirés et la

diminution de l'effectif de la race dans son berceau. La N'dama présente un lait riche en matière grasse (4,7%), mais une production en lait relativement faible (285 kg/lactation/190jours), une bonne aptitude de production de viande avec un bon rendement carcasse malgré son faible poids moyen de 250 à 300 kg, et une bonne aptitude (endurance) à la culture attelée pour les travaux champêtres (Traoré, 1989; Coulibaly *et al.*, 2014).

Au Mali, existe peu de connaissances sur les caractéristiques génétiques de nos races autochtones en particulier sur la N'dama. Hors, plusieurs études de diversité génétique ont été entreprises sur les races animales à travers le monde (Moazani-Goudazi *et al.* 1994, Kaboré 2012). Les marqueurs microsatellites sont des outils couramment utilisés dans le cadre de ces études. Par ailleurs, le gène d'hémoglobine a été rapporté comme impliqué dans le mécanisme de tolérance à la trypanosomiase bovine (Touré, 1977). Ainsi, les génotypes AA chez les taurins N'dama, avec l'allèle A, ont été indiqués comme résistant mieux à la trypanosomiase animale (Touré, 1977).

La caractérisation permettra de faire connaître les diversités génétiques des races afin d'élaborer des programmes de valorisation de celles-ci. D'où l'intérêt de la présente étude qui s'inscrit dans le cadre de la caractérisation génétique de la race autochtone N'dama au Mali par PCR-SSRs et l'identification des génotypes du gène bêta-globine.

2. Matériel et méthodes

2.1. Les animaux et échantillonnage

• Animaux

Le troupeau du Centre de conservation, de Multiplication et Diffusion du Bétail Ruminant Endémique (CCMD/BRE) de Madina Diassa était composé de deux lots d'animaux. Le premier lot issu de la transposition et qui ont pour origine ONDY (Opération N'Dama de Yanfolila) et second a été introduit quelques années après par le PROGEBE (Projet régional de Gestion Durable du Bétail Ruminant Endémique en Afrique de l'Ouest). Ce second a été introduit dans un programme de repeuplement du centre par l'achat des animaux chez les éleveurs dans le cercle de Yanfolila, Kita, Keniéba. Lors de la constitution de ce lot, des critères préétablis ont été appliqués : uniformité de la robe (robe fauve ou robe froment) ; critère d'âge et critère de santé physiologique (tard, mauvais aplomb).

Le troupeau du centre est conduit en deux parques séparées contenant chacun deux géniteurs. Tous les animaux sont parqués ensemble sauf les veaux de 3 mois ou moins. Le suivi de la saillie est effectué par

les agents et les bergers du centre. Il est à noter que des saillies indésirées sont parfois observées au niveau du troupeau, par les jeunes taureaux qui ont l'âge de saillir mais qui ne sont pas retenus d'abord comme géniteurs et vivent encore dans troupeau. L'essentiel des animaux du CCMD/BRE de Madina Diassa sont issus de l'achat.

• Echantillonnage

L'échantillonnage a été effectué au CCMD/BRE de Madina-Diassa à Yanfolila dans la région de Sikasso. Quatre millilitres (4 ml) de sang ont été prélevés dans des tubes contenant l'anticoagulant (EDTA) chez 120 animaux choisis au hasard. Les échantillons ont été étiquetés, conservés dans la glace et transportés au Laboratoire de Recherche en Microbiologie et Biotechnologie Microbienne (LaboREM-Biotech) de la Faculté des Sciences et Techniques (FST) pour les analyses moléculaires.

2.2. Extraction de l'ADN génomique

L'ADN génomique des bovins a été extrait à partir du sang total selon le protocole d'extraction Hot-Shot (Trutt *et al.*, 2000) modifié.

2.3. Identification des génotypes des animaux

L'amplification des 120 échantillons a été réalisée en utilisant le kit de PCR Promega. Ainsi pour la PCR, 2µl de l'ADN génomique ont été amplifiés dans un volume final de 25µl de réactifs contenant 8,5µl d'eau pure, 12,5µl de Go Taq Green Master Mix, 1µl de chaque amorce (allé et retour).

Les marqueurs microsatellites utilisés ont été sélectionnés selon Moazami-Goudarzi *et al.*, (2001), Gralak *et al.*, (2004), Kaboré, (2012) et Moazami-Goudarzi *et al.*, (1994). Neuf (09) paires d'amorces microsatellites ont été utilisées : BM 1824, TGLA 53, TGLA 122, INRA 063, INRA 172, MM 12, INRA 37, ILST 005, ILSTS 011.

Le polymorphisme du gène β -globine a été analysé après la PCR par l'électrophorèse sur un gel d'agarose ordinaire de 2%. Les amorces β -globines ont été sélectionnées selon Salzano *et al.*, (2015).

Le thermocycleur TECHNE-PRIME a été utilisé pour l'amplification, en adoptant le programme d'amplification suivant : la dénaturation initiale à 94°C pendant 5 mn, Dénaturation à 94°C pendant 1 mn, Hybridation a été fonction des marqueurs microsatellites pendant 45s ou à 63.5°C pendant 45s, Elongation à 72°C pendant 1mn45s dont l'ensemble à 35 cycles, Elongation finale à 72°C pendant 10 mn et la Conservation à 4°C.

Les produits de PCR ont été migrés sur gel métaphore de 3%, pendant 2 heures 30 minutes à 90 volts.

2.4. Analyses statistiques

La taille des allèles de chaque marqueur microsatellite a été déterminée en paire de base par l'utilisation du logiciel ECapt. La diversité de chaque locus a été analysée sur la base de quatre paramètres statistiques: la fréquence des allèles, le nombre d'allèles, la diversité génétique et le PIC (polymorphism information content). L'hétérozygotie et PIC ont été calculés en utilisant le logiciel en ligne <http://w3.georgikon.hu/pic/english/default.aspx>.

L'hétérozygotie Totale a été calculée suivant la formule : $H_T = 1 - (f_1^2 + f_2^2 + \dots + f_k^2) = 1 - \sum f_i^2$, f_T est la fréquence totale.

Les fréquences génotypiques et alléliques du gène β -globine ont été calculées suivant la formule : $f(AA) = NAA/N$, $f(AB) = NAB/N$, $f(AB^*) = NAB^*/N$
 $p(A) = [2(AA) + AB]/2N$, $p(B) = [2(BB) + AB]/2N$,
 $p(B^*) = [2(BB^*) + AB^*]/2N$

3. Résultats

Les marqueurs microsatellites ont été polymorphes dans la population du CCMD/BRE de Madina

Diassa. Soixante (60) allèles différents et 107 profils de migration ont été identifiés, pour un ensemble de neuf (9) marqueurs microsatellites analysés. Le nombre d'allèles par marqueur microsatellite a été compris entre deux (2) pour BM 1824 à douze (12) pour INRA 37 (cf. figure 1). L'analyse des fréquences alléliques a révélé des profils génétiques très différents suivants les marqueurs microsatellites (cf. figure 2), avec en moyenne 6,7 allèles par marqueur microsatellite. Le taux d'hétérozygotie par marqueur a varié de 0.22 pour BM 1824 à 0.84 pour INRA 37, avec un taux moyen de 0,58. Le taux de polymorphisme information content (PIC) par marqueur microsatellite a varié de 0.20 pour BM 1824 à 0,83 pour INRA 37, avec un taux de PIC moyen de 0,54.

L'analyse des données de la PCR-SSR avec le logiciel DARwin version 6 selon la méthode UPGMA a permis de regrouper les génotypes en 16 classes en fonction de leur coefficient de similarités génétiques (cf. figure 3).

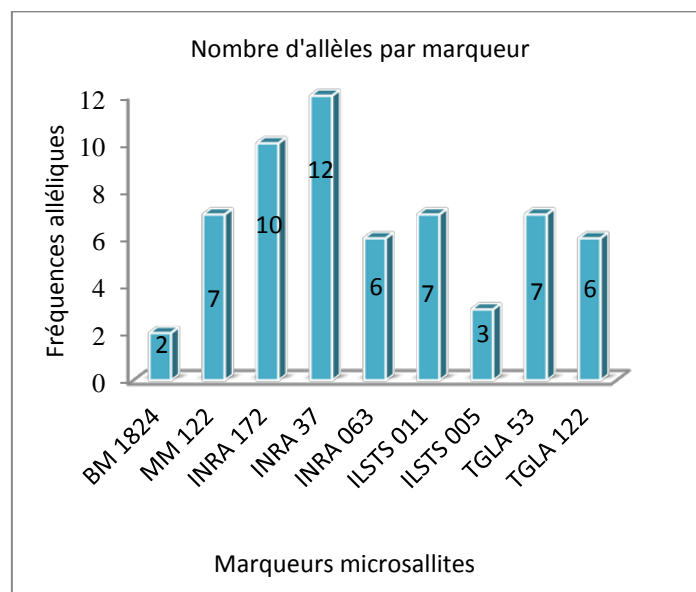


Figure 1 : Le nombre d'allèles par marqueur microsatellite sur l'ensemble de la population N'Dama du CCMD/BRE de Madina Diassa

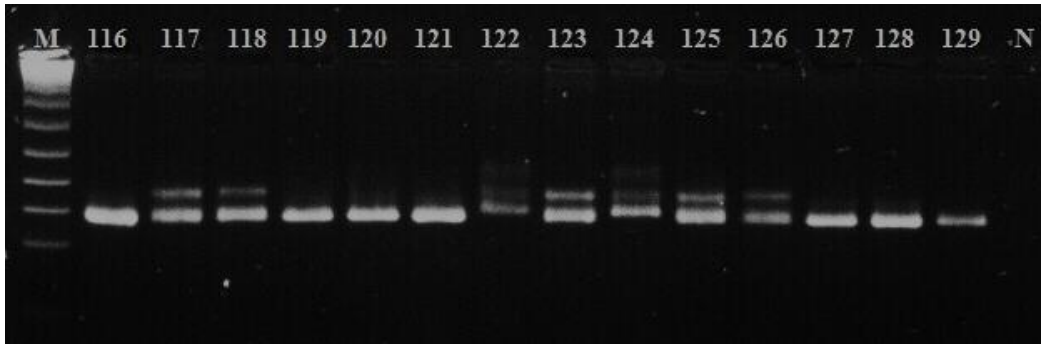


Figure 2 : Allèles du marqueur microsatellite TGLA 122 après migration sur gel métaphore de 3%, M : marqueur de taille (en paire de base), 116 à 129 : échantillons N'Dama, N : Contrôle négatif

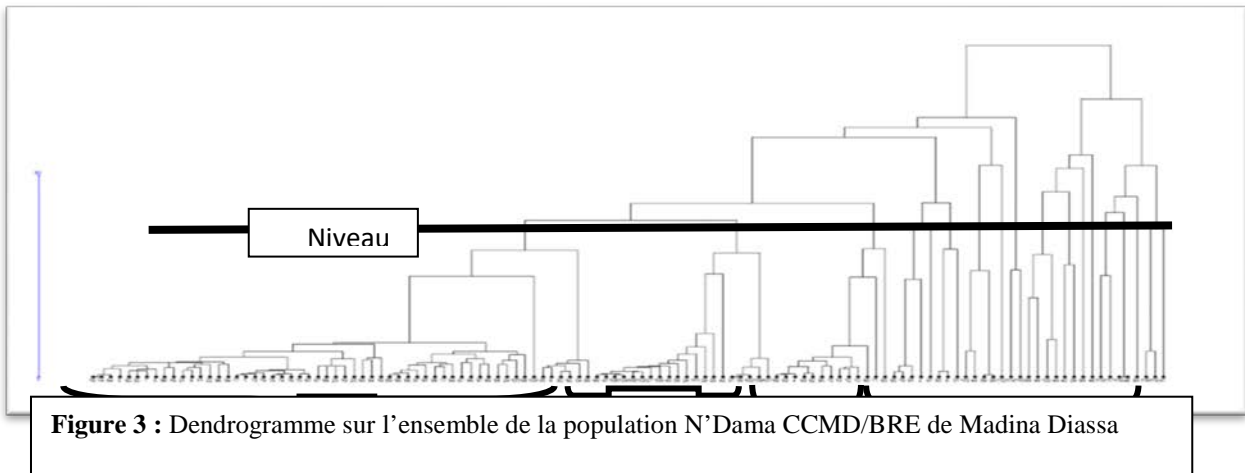


Figure 3 : Dendrogramme sur l'ensemble de la population N'Dama CCMD/BRE de Madina Diassa

Le gène β -globine a présenté trois (3) profils de migrations correspondant à trois génotypes (AA, AB et AB*). Le profil correspondant au génotype AA a montré une (1) bande de taille 445 bp, celui correspondant au génotype AB a présenté deux bandes de tailles respectives 445 bp et 716 bp. Le génotype AB* a présenté trois (3) bandes de

tailles respectives de 445 bp, 664 bp et 716 bp (cf. Image 3). Trois allèles A, B et B* ont été observés. Les fréquences génotypiques observées ont été de 10,4% de 36,2% et de 53,4% respectivement pour les génotypes AA, AB et AB*. Les fréquences alléliques ont été de 55%, de 18% et de 27% respectivement pour allèles A, B et B*.

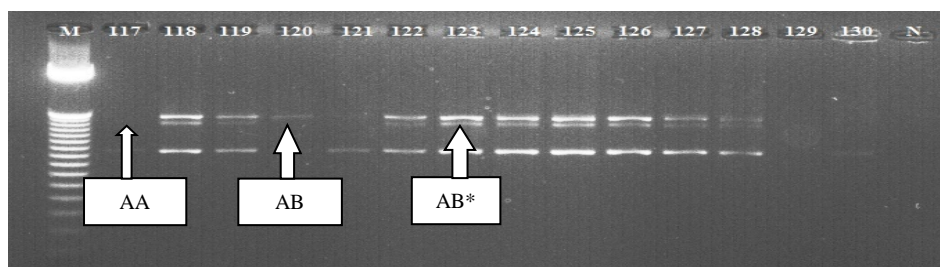


Figure 3 : Profils de migrations du gène β -globine sur gel d'agarose ordinaire de 2%, M : Marqueur de taille (en paire de base), 117 à 130 : échantillon N'dama, N : Contrôle négatif

4. Au Mali, peu d'études ont été réalisées sur la caractérisation génétique des races bovines. Les travaux existants sont relatifs aux travaux de Konaté, (2015), Traoré et *al.*, (2014) sur le polymorphisme génétique des lactoprotéines. La présente étude portait sur la caractérisation génétique

marqueurs microsatellites.

Au total soixante (60) allèles et 107 profils de migrations ont été obtenus à partir de neuf (9) marqueurs microsatellites. Le nombre d'allèles par microsatellite a été compris entre deux (2) pour BM 1824 et douze (12) pour INRA 37. En moyenne 6,7 allèles ont été observés par marqueur.

L'hétérozygotie moyenne observée dans cette population a été de 0,58 et le PIC moyen observé a été de 0,54. Les profils génétiques observés ont été très différents suivant les marqueurs. Le nombre de profils génétiques le plus élevé a été observé au locus INRA 37, et le plus faible a été observé au BM 1824. Ces résultats concordent avec ceux de Moazami-Goudarzi et al., (2001) qui, sur 33 microsatellites ont obtenu pour quatre populations de races bovines d'Afrique un taux d'hétérozygotie de 0,71. Par ailleurs, Kaboré, (2012) a révélé une forte diversité génétique sur les N'dama du pays Lobi avec un taux d'hétérozygotie de 0,57 sur 9 marqueurs pour six populations. Dans une autre étude, une forte variabilité génétique a été observée par Yaye, (2011) dans les différentes populations de zébus au Niger où 6 allèles ont été identifiés au niveau du marqueur INRA063.

Le gène β -globine a montré trois (3) profils correspondant à trois (3) génotypes AA, AB et AB* sur un gel d'agarose ordinaire de 2%. Le génotype AA a présenté une bande (1) de taille 445 bp, le profil correspondant au génotype AB a présenté deux bandes de tailles respectives 445 bp et 716 bp. Le génotype AB* a présenté trois bandes (3) de tailles respectives 445 bp, 664 bp, et 716 bp (Image 2). Trois (3) allèles A, B et B* ont été observés dans cette population d'étude

Ce génotype AB* n'est pas décrit dans la bibliographie, il pourrait avoir pour explication l'apparition d'un nouvel allèle dans cette population de Madina Diassa. Selon Touré, (1977), qui selon les études les plus récentes, les N'dama de race pure n'ont que l'hémoglobine de type A. Bien que ce troupeau étudié présente des caractéristiques phénotypiques (robe) très homogène, il présente également l'allèle B synonyme de la trypanosensibilité. Ces résultats de caractérisation pourront permettre la sélection sur l'hémoglobine AA, pour conforter la résistance de la trypanotolérance.

5. Conclusion

L'utilisation des marqueurs microsatellites, a permis de montrer une forte variabilité génétique dans la population N'dama du CCMD/BRE au Mali. Ainsi, Soixante (60) allèles ont été identifiés, avec un nombre d'allèles variant de deux (2) pour BM1824 et douze (12) pour INRA 37. Une forte diversité génétique a été observée avec un taux d'hétérozygoties moyen de 0,58 et un PIC moyen de 0,54. De même l'analyse du gène β -globine, a montré la présence des génotypes AA, AB et AB* et une forte

représentativité de l'allèle A par rapport à l'allèle B et B*.

Ces résultats offrent une première estimation de la diversité génétique des N'dama du Mali. Ils contribuent aussi au renforcement des programmes de conservation et de préservation des bétails ruminants endémiques entrepris depuis 1972 et à l'élaboration de schéma d'amélioration des ressources génétiques animales au Mali.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos très sincères remerciements

- Au WAAPP-Mali (West Africa Agricultural, Productivity Program) pour le financement des recherches Scientifiques ;
- A toutes équipes du Centre de Conservation, de Multiplication et de Diffusion du Bétail Ruminant Endémique (CCMD/BRE) de Madina-Diassa à Yanfolila au Mali pour la mise à disposition du troupeau du centre.

REFERENCES

- [1] Coulibaly, T et Diallo, L (2014) : diagnostic de la situation de l'élevage N'dama dans son berceau de race (cercles de bougouni et de yanfolila), 46 p ;
- [2] Gralak B., Krasnińska M., Niemczewski C., Krasniński Z. A., and urkowski M., 2004. Polymorphism of bovine microsatellite DNA sequences in the lowland European bison. Acta Theriologica 49: 449–456 ;
- [3] Hoste C.H., Chalon E., d'Ieteren G., et Trail J.C.M., 1988. Le bétail trypanotolérant en Afrique occidentale et centrale Vol. 3-Bilan d'une décennie, 217p;
- [4] Kaboré M., 2012. Etude de la diversité génétique des taurins Baoulé du Burkina Faso à l'aide de marqueurs microsatellites. DEA., Université d'Ouagadougou Burkina Faso unité de formation et de recherche en Sciences de la Vie et de la Terre (UFR/SVT), CERBA/LABIOGENEUF/SVT, 86 p;
- [5] Konaté D., 2015. Evaluation des Génotypes du gène kappa-Caséine chez les Bovins de la zone péri urbain de Bamako. Mémoire de fin de cycle Ingénieur de l'IPR/IFRA de Katibougou Bamako / Mali., 57 p ;
- [6] Moazami-Goudarzi K., Belemsaga D.M.A., Ceriotti G., Laloë D., Fagbohoun F., Kouagou N'T., Sidibé I., Codjia V., Crimella M.C., Grosclaude F., Touré S.M., 2001.

- Caractérisation de la race bovine Somba à l'aide de marqueurs moléculaires, *Revue Bev. Méd. vét. Pays trop.* 54 (2) : 129-138 ;
- [7] Moazani-Goudazi K, Variman D, Mercier D, Grohs C, Furet JP, Levéziél H, Martin P (1994) : Emploi de microsatellites pour l'analyse de la diversité génétique des races bovines française : premiers résultats, *Genet Sel* (1994) 26, suppl 1, 155s-165s ;
- [8] OKOUYI M.W.M., KAMGA-WALADJO A.R., DIARRA S., et HANZEN C.H., 2014. Caractéristiques de reproduction de la femelle trypanotolérance de race N'Dama, *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales* © 2014 E. I.S.M.V. de Dakar ;
- [9] Rapport annuel (2014) : direction nationale des productions et des industries animales, ministère du développement rural, effectif cheptel 2014, p 2 ;
- [10] Salzano A.M., Pauciullo A., D'Ambrosio C., Novi G., Strazzullo M., Scaloni A., 2015. Bovine hemoglobin polymorphism : a novel alpha-globin variant identified in the Agerolese breed from southern Italy, *Czech J Anim.Sci.*, 60,2015 (4) : 145-15;
- [11] Touré S.M., 1977. La trypanotolérance, *Revue de connaissances, I\$v. dlev. Méd.vét. Pays trop.*, 1977, 30 (2): 157-174;
- [12] Traoré D., Sanogo Y., Fané R., Touré A., Cissé O., and Babana A.H. 2014. Genetic polymorphism of $\alpha S1$ casein in Guéra and Sahel goat, *Animal Genetic Resources*, 2014, 54, 79–83. © Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014;
- [13] Truett G.E., Heeger P., Mynett R.L., Truett A.A., Walken T.A., and Warmen M.L., 2000. Preparation of PCR quality mouse genomic DNA with hot sodium and tris (Hotshot). *Biotechnics* 29 (1): 52–54 ;
- [14] Traoré M. (1989) : Etude de la productivité du bétail N'dama élevé en ranching et dans les troupeaux traditionnels du cercle de Yanfolila (Mali) - Perspectives d'amélioration.", Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Paris XII, Créteil (France), 314p ;
- [15] Touré S.M (1977) : La trypanotolérance *Revue de connaissances, I\$v. dlev. Méd. vét. Pays trop.*, 1977, 30 (2) : 157-174 ;
- [16] Yaye A.H., 2011. Application du polymorphisme des marqueurs microsatellites pour l'étude de la diversité génétique des zébus Niger. DEA., Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, 87p.