

# Molecular Characterization of Sheep Genetic Resources in Tunisia : A Step Forward to Management and Adaptation to Climate Change

## Caractérisation moléculaire des ressources génétiques ovines en Tunisie : Apport à la gestion et à l'adaptation au changement climatique

Y. BEN SASSI-ZAIDY<sup>1,2,\*</sup>, A. HAMROUNI<sup>1</sup>, F. CHARFI-CHEIKHROUHA<sup>2</sup> ET M. DJEMALI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Animal Genetic and Feed Resources Research Lab, INAT, Carthage University, Tunis, Tunisia

<sup>2</sup> Laboratory of Diversity, Management and Conservation of Biological Systems, LR18ES06, Université de Tunis El Manar, Faculty of Sciences of Tunis, 2092 Tunis, Tunisia.

\*Corresponding author: bensassizaidyousra@yahoo.fr

**Abstract** – Animal genetic resources for food and agriculture play a crucial role in tackling climate change. Animal genetic diversity, especially of locally well-adapted breeds, provides the basis for climate change adaptation. Thus, there is a general need to improve the inventory and the genetic diversity characterization of these “targeted” breeds in order to support the planning of climate change adaptation measures and conservation strategies for animal genetic resources. The objectives of this paper were to: 1) characterize the Tunisian sheep genetic resource at the molecular level using 17 microsatellites markers, 2) Identify the “targeted” Tunisian sheep breeds to be conserved and considered in a reviewed breeding goals adapted to account for the effects of climate change. The molecular investigation of the genetic variability within and among the five Tunisian sheep breeds; Barbarine (BAR), Queue Fine de l’Ouest (QFO), Noire de Thibar (NTH), Sicilo-Sarde (SS), D’man (DM) and the crossbred (CRO: BAR x QFO), reveals a high genetic diversity reservoir especially for BAR and NTH breeds. The well-adapted and rustic BAR sheep breed reared in harsh and fluctuating climate ranges, is the most variable breed. The crossbred population CRO appeared the least genetically variable with the largest inbreeding value. This crossbreeding trend is a real threat to the sheep genetic variability and to the BAR’s integrity leading to a genetic erosion of the BAR gene pool. Improvement and conservation strategies for the sustainable use and development of BAR breed coping with climate change are urgently needed.

**Keywords:** Sheep genetic resources; Genetic diversity; microsatellites markers; climate change; conservation strategies.

**Résumé-** Les ressources zoogénétiques pour l’alimentation et l’agriculture sont cruciales pour l’adaptation au changement climatique. Ceci ne sera assuré que par une base de diversité génétique de ces ressources, particulièrement la diversité des races traditionnelles rurales, bien adaptées aux fluctuations climatiques. Ces races doivent être classées « prioritaires » à être conservées et mobilisées pour l’adaptation au changement climatique. Pour ce faire, l’identification des races et l’évaluation de leurs niveaux de diversité génétique est une étape primordiale pour la mise en œuvre des stratégies nationales de gestion et d’adaptation. Cette étude s’est donc fixée comme objectifs : 1) la caractérisation génétique des ressources génétiques ovines de la Tunisie à l’échelle moléculaire par les marqueurs microsatellites, 2) l’identification des races ovines prioritaires à conserver et à mobiliser pour l’adaptation au changement climatique. L’analyse des paramètres de diversité génétique intra-populationnelle de la totalité des races étudiées : Barbarine (BAR), Queue Fine de l’Ouest (QFO), Noire de Thibar (NTH), Sicilo-Sarde (SS) et D’man (DM) ainsi que de la population hybride (CRO : BAR x QFO), a révélé que toutes les races ovines de la Tunisie ont montré un réservoir de diversité génétique appréciable, notamment la BAR et la NTH. La BAR, la race rustique et la plus adaptée à tous les étages climatiques du pays est la plus variable génétiquement. Elle doit être classée prioritaire à des fins de conservation sur la base des prévisions au changement climatique. La population CRO résultante des croisements anarchiques est la moins variable génétiquement. Cette pratique d’hybridation constitue une vraie menace pour la durabilité de la diversité génétique ovine à cause de l’érosion et la dilution des gènes de la BAR qui en découle. Une urgente mise en œuvre des stratégies de gestion des ressources génétiques ovines de la Tunisie s’avère indispensable pour assurer leur amélioration et leur durabilité et pour lutter contre le changement climatique.

**Mots clés:** Ressources génétiques ovines/ Variabilité génétique/ Microsatellites/ changement climatique/ Conservation.



## 1. Introduction

Afin d'offrir un avenir durable à la population mondiale croissante, il est nécessaire de lutter contre le changement climatique. De véritables efforts doivent, ainsi, être fournis pour garantir la sécurité alimentaire qui ne saurait elle-même atteinte sans assurer la durabilité des ressources génétiques pour l'alimentation et l'agriculture (FAO, 2015a). En effet, la future adaptation au changement climatique doit se baser sur la conservation et l'utilisation des ressources génétiques pour l'alimentation et l'agriculture (RGAA), essentiellement les ressources les plus adaptées à l'évolution climatique caractérisée par la hausse des températures, la modification des régimes pluviométriques et l'accroissement de la variabilité du climat et de la fréquence des événements extrêmes. Pour ce, un plan national d'adaptation au changement climatique intégrant la conservation et de l'utilisation des RGAA est donc d'une nécessité cruciale pour chaque pays comme il est recommandé par la FAO (2015a). Outre que les ressources phylogénétiques et forestières, les ressources zoogénétiques constituent l'un des piliers de la sécurité alimentaire pour les générations actuelles et futures. La diversité zoogénétique fournit une contribution majeure à la sécurité de l'alimentation et de la vie et devrait être intégrée dans les plans d'adaptation au changement climatique (FAO, 2015a). Dans cette optique, le recensement et la caractérisation de la diversité génétique des races locales rustiques bien adaptées aux environnements difficiles et des races menacées est une étape primordiale avant leur implication prioritaire dans les stratégies d'adaptation au changement climatiques (Pilling et Hoffmann, 2011 ; FAO, 2015a). Dans ce cadre, nous nous proposons par la présente étude d'évaluer le niveau de la diversité génétique de toutes les races ovines de la Tunisie à l'échelle moléculaire, afin de cibler celles qui sont prioritaires à considérer dans les plans d'adaptation au changement climatique et de contribuer à l'élaboration d'une bonne gestion de ces ressources qui, associées aux autres RGAA, constituent un réservoir et un outil essentiel pour adapter l'agriculture et renforcer la résilience des systèmes de production agricole et alimentaire (FAO, 2016).

## 2. Méthodologie

### 2.1. Matériel animal

La caractérisation moléculaire de la diversité génétique nucléaire a concerné toutes les races ovines natives de la Tunisie : la Barbarine (BAR), la Queue Fine de l'Ouest (QFO), la Noire de Thibar (NTH) et la Sicilo-Sarde (SS), la race exotique D'man (DM) introduite du Maroc, ainsi que la population (CRO) issue du croisement entre la BAR et la QFO. Les données historiques et phénotypiques relatives à chaque race sont détaillées par Ben Sassi-Zaidy et al. (2017). Des prises de sang ont été prélevées de 250 individus en évitant les individus apparentés au sein du même troupeau (BAR : n = 64 ; QFO : n = 41 ; CRO : n = 30 ; NTH : n = 41 ; SS : n = 45 et DM : n = 29). L'extraction de l'ADN génomique, l'exploration de l'ADN nucléaire par un panel de 17 marqueurs microsatellites recommandé par ISAG/FAO Standing Committee (2004) ainsi que les analyses statistiques et bio-informatiques appropriées, sont décrites par Ben Sassi-Zaidy et al. (2014 ; 2017).

## 3. Résultats et Discussion

### Apport de l'analyse moléculaire à l'évaluation de la diversité génétique des ressources ovines de la Tunisie

A l'aide des modèles de la génétique quantitative, de nombreux travaux ont été élaborés pour évaluer la variabilité génétique des ressources ovines dans les systèmes de production à faibles intrants caractérisant notre pays. Cependant, les faibles valeurs de l'héritabilité fournies par ces études et l'absence de schémas cohérents d'amélioration génétique ont constitué une contrainte majeure pour la mise en œuvre de stratégies convenables d'amélioration et de gestion des ressources génétiques ovines. Le recours à l'exploration directe du support de l'information génétique à l'aide des outils de la génomique s'avère indispensable pour avoir un profil clair et complet de la diversité génétique des races ovines autochtones de la Tunisie. Bien réfléchies, des stratégies génétiques d'utilisation durable des ressources génétiques animales autochtones, associant les innovations de la génomique, pourraient être appliquées même dans les systèmes de production à faible intrants (Djemali et Hamrouni, 2019). Le panel de 17 microsatellites, très informatifs et appropriés pour l'analyse de la diversité génétique des races ovines tunisiennes (Ben Sassi-Zaidy et al., 2014 ; 2016 ; 2017), a permis d'analyser le niveau de diversité génétique intra-populationnelle au sein de chaque race (Tableau 1).

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

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

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

\*\* , valeur  $P < 0,05$

L'analyse des résultats obtenus permet de dégager le niveau de diversité génétique de chacune des races ovines ainsi que son état de risque relatif à la perte de la variabilité génétique afin de contribuer à la clarification des informations nécessaires à la mise en œuvre des stratégies de gestion adéquates des ressources ovines dans le cadre d'adaptation au changement climatique :

- La race BAR est l'unique race à queue grasse de la Tunisie et du Maghreb. C'est la race la plus répandue, la plus rustique et la plus adaptée aux différents étages bioclimatiques de la Tunisie, du saharien jusqu'au humide en passant par le semi-aride et l'aride. D'après notre analyse moléculaire, cette race est la plus variable génétiquement. Elle présente la diversité allélique (NMA et RA) et l'hétérozygotie observée ( $H_o$ ) les plus élevées de toutes les races analysées. La BAR présente une richesse d'allèles privés de 52% ; ces allèles spécifiques à cette race qui pourraient correspondre à sa rusticité, son adaptabilité au changement climatique et/ou ses bonnes qualités maternelles. Elle est également dotée d'une diversité génique ( $H_e$ ) très élevée ainsi qu'un niveau très faible de consanguinité ( $F_{IS} = 0,073 \pm 0,062$ ). L'absence de stratégies claires de gestion et de conservation de la BAR (Djemali et Hamrouni, 2019), malgré ses qualités performantes sur tous les plans et malgré sa diversité génétique élevée détectée par l'outil moléculaire, nous incite à la considérer une race « prioritaire » à être impliquée dans notre plan national d'adaptation au changement climatique tel que recommandé dans les directives de la FAO (FAO, 2015b). La création d'une association d'éleveurs de la BAR, comme c'est signalé par Djemali et Hamrouni (2019), semble jouer un rôle important dans la valorisation de cette race et dans l'accélération de la mise en œuvre d'une stratégie claire de gestion et de conservation de cette ressource ovine autochtone.

- La race NTH présente un niveau très élevé de variabilité génétique qui la place aux premières positions de richesse alléliques (RA = 10,39) et d'hétérozygotie ( $H_o$ ) et à la dernière position de consanguinité ( $F_{IS}$ ) de toutes les races ovines tunisiennes (Tableau 1). Ces résultats mettent en évidence le succès des efforts fournis pour sauver la race NTH de l'effet de la consanguinité cité par Djemali et Alhadrami (1997) et Chalh et al. (2007). L'introduction de gènes de la race Brune de Suisse par insémination artificielle (Rekik et al. 2011) semble avoir une bonne part dans la résolution du problème de la consanguinité chez la NTH. Le réservoir génétique de cette race à viande, malgré sa faible richesse en allèles privés spécifiques (27%), semble très riche ; ce qui permet de l'orienter dans plusieurs voies de sélection.

- La race QFO, qui est en train de gagner de l'importance aux dépens de la BAR aussi bien en effectif qu'en répartition sur le territoire tunisien (Djemali et al. 2006), présente un niveau de diversité génétique plus faible que celui de la BAR. Pour sa diversité allélique, son hétérozygotie réelle ( $H_o$ ) et son niveau de consanguinité, elle est classée troisième après la BAR et la NTH. Sa forte diversité génique ( $H_e$ ) est expliquée par l'introduction permanente de nouveaux gènes de la race algérienne Ouled Djellal.

- La SS, l'unique race laitière du pays et de l'Afrique du Nord qui a été menacée d'extinction après une réduction alarmante de son effectif (90% des brebis laitières) au cours des années 90, semble avoir restauré sa variabilité génétique suite à l'introduction par insémination artificielle de nouveaux gènes de la race italienne Sarda (Djemali et al. 2009). En effet, la variabilité génétique de cette race, en termes de diversité allélique (NMA = 12,06  $\pm$  3,96 ; RA = 10,05  $\pm$  3,51) et d'hétérozygotie espérée (0,811  $\pm$  0,106) est considérable ; ceci permet d'envisager des programmes de sélection en vue d'améliorer ses aptitudes laitières surtout que 67% de ses allèles sont privés. La restauration de variabilité génétique de la SS, en plus des efforts fournis par l'association d'éleveurs de cette race (Djemali et Hamrouni, 2019), permettent de la positionner hors état de risque, de garantir sa conservation et de promouvoir son développement.

- La DM, la race ovine exotique issue d'un seul noyau en provenance du Maroc, est caractérisée par sa forte prolificité. Introduite au cours des années 90 dans le milieu oasisien, elle a connu par la suite une large extension sur le territoire tunisien. La spécificité de cette race est mise en évidence par sa richesse en allèles privés (71%). La DM présente la plus faible diversité allélique malgré sa diversité génique exprimée en ( $H_e$ ) élevée. Cette dernière est affectée par l'impact de la consanguinité élevée ( $F_{IS} = 0,123 \pm 0,138$ ) réduisant ainsi son état réel de variabilité ( $H_o$ ).

- La population CRO est un hybride récemment créé par des croisements anarchiques de la BAR et la QFO, avec le risque de propagation intense sur le territoire tunisien. D'après les paramètres de diversité, issus de notre analyse par les microsatellites, cette population présente les plus faibles valeurs de diversité génétique exprimée par la plus faible valeur de diversité génique, la consanguinité la plus élevée et la diversité allélique la plus faible après la DM (Tableau 1). La propagation de cette population hybride à faible diversité génétique semble constituer une menace grave de l'état des ressources génétiques ovines en Tunisie. L'érosion et la dilution génétique dont souffre la BAR suite à ce croisement anarchique (Ben Sassi-Zaidy et al., 2017) nécessite une urgente intervention pour conserver la diversité et la durabilité de la race BAR, la race la plus diversifiée génétiquement et la plus adaptée au changement climatique ; qui doit avoir le statut « prioritaire » de conservation et de mobilisation quant à l'adaptation au changement climatique.

#### 4. Conclusion

Cet article est basé sur l'évaluation de la diversité génétique des ressources ovines de la Tunisie *via* les marqueurs microsatellites. Les résultats ont révélé que ces ressources constituent un réservoir de diversité génétique appréciable et capable d'être orienté dans plusieurs voies d'amélioration et de conservation. La durabilité de ces ressources, notamment de la BAR la race la plus variable génétiquement, peut constituer un moyen efficace pour lutter contre le changement climatique. Ceci ne peut être assuré que par la mise en œuvre d'urgentes stratégies de gestion pour faire face aux pratiques menaçant la diversité génétique de ces ressources.

#### Références bibliographiques

- Ben Sassi-Zaidy, Y., Maretto, F., Charfi-Cheikrouha, F., Cassandro, M., 2014. Genetic diversity, structure, and breed relationships in Tunisian sheep. *Small Rumin. Res.* 119, 52–56.
- Ben Sassi-Zaidy, Y., Maretto, F., Charfi-cheikhrouha, F., Mohamed-Brahmi, A., Cassandro, M., 2016. Contribution of microsatellites markers in the clarification of the origin , genetic risk factors , and implications for conservation of Tunisian native sheep breeds. *Genet. Mol. Res.* 15, 1–11.
- Ben Sassi-Zaidy, Y., Charfi-Cheikrouha, F., Maretto, F., Cassandro, M., 2017. Inference of genetic variability of Tunisian sheep: Implications for conservation. *Volume spécial -CSIEA2017. J. New Sci.*
- Chalh, A., El Gazzah, M., Djemali, M., Chalbi, N., 2007. Genetic and Phenotypic Characterization of the Tunisian Noire De Thibar Lambs on Their Growth Traits. *J. Biol. Sci.* 7, 1347–1353.
- Djemali, M., Alhadrami, G., 1997. Considerations beyond breeding goals in breeding sheep in relation to the environment. *Options Mediterr. Ser. A Semin. Mediterr.* 33, 171–174.
- Djemali, M., Bedhiaf-Romdhani, S., Iniguez, L., Inounou, I., 2009. Saving threatened native breeds by autonomous production, involvement of farmers organization, research and policy makers: The case of the Sicilo-Sarde breed in Tunisia, North Africa. *Livest. Sci.* 120, 213–217. doi: 10.1016/j.livsci.2008.07.011
- Djemali, M., Bedhiaf-Romdhani, S., Wurzinger, M., Iñiguez, L., 2006. Impact of butchers and market trends on the integrity of small ruminant genetic resources, in: 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, 17.-20.9.2006., Antalya, Turkey, pp. 1–6.
- Djemali, M., Hamrouni, A., 2019. Ingredients and Pathways for Sustainable Sheep Breeding Strategies under Low Input Production Systems: Te Example of Two Distinct Sheep Breeds. *J Vet Sci Ani Husb* 7(3): 301. *J Vet Sci Ani Husb* 7, 301.
- FAO, 2015a. Coping with climate change – the roles of genetic resources for food and agriculture. Rome.
- FAO, 2015b. Directives volontaires à l'appui de l'intégration de la diversité génétique dans les plans nationaux d'adaptation au changement climatique. Commission des ressources génétiques pour l'alimentation et l'agriculture, Rome.
- FAO, 2016. **Rapport de la FAO 2016.** La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture. Changement climatique, agriculture et sécurité alimentaire.
- ISAG/FAO Standing Committee., 2004. Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans. Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers. <http://dad.fao.org/cgi-bin/getblob.cgi?sid=ca53b91a6f7c80be8e7066f4a50>.
- Pilling, D., Hoffmann, I., 2011. Climate change and animal genetic resources for food. Background Study Paper No. 53. Rome, FAO (available at <http://www.fao.org/docrep/meeting/022/mb386e.pdf>) and agriculture: state of knowledge, risks and opportunities. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture.
- Rekik, M., Ben Salem, I., Khbou-Khamassi, M., Letaïef, S., Chebbi, M., 2011. Place des biotechnologies de la reproduction dans la gestion des programmes d' amélioration génétique des ovins en Tunisie. *Options Méditerranéennes. Séries A. Mediterr. Semin.* 101, 95–101.