

**UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département des Sciences Agronomiques**



**Mémoire de Master Académique**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Agronomiques**

**Spécialité : Parcours et Elevage en Zones Arides**

**THEME**

**Comparaison des méthodes d'extraction d'ADN  
génomique du dromadaire et étude phénotypique.**

**Présenté par : M. KACHI Messaoud**

**Soutenu publiquement : Le 20/09/2021**

Devant le jury :

Pr. CHEHMA A

**Président**

Pr. UKM Ouargla

Dr. Abbas A

**Promoteur**

M.C. B UKM Ouargla

Dr. Oulad Belkhir A

**Co-Promoteur**

M.C. B UKM Ouargla

Dr. MAATALLAH A

**Examineur**

M.C.B UKM Ouargla

**ANNÉE UNIVERSITAIRE 2020/2021**

Le présent **Mémoire de Master** est inscrit respectivement dans des projets de recherche Internationaux :

1- **CAMED Dz (ERANETMED 2-72-367)** portant sur :  
*Roles of Camel Breeding in Modern Saharan Societies  
- Contributing to their Adaptive Capacities Face to Global Changes-*



Et

2- **CAMEL SHIELD (PRIMA)** ayant trait au :  
*Camel breeding systems: actors in the sustainable economic development of the northern Sahara territories through innovative strategies for natural resource management and marketing.*



## Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à :*

- ✓ *A la mémoire de ma chère mère, l'être le plus pur, le plus honnête,  
l'ange Gardien de ma vie,*
- ✓ *j'espère que je suis le bon fils que t'as rêvé de l'avoir*
  - ✓ *A mon père*
  - ✓ *A ma femme*
  - ✓ *A mes filles et mes fils*
  - ✓ *A mes sœurs et mes frères.*
- ✓ *Tous mes ami(e) s les plus chers.*



## Remerciement

✍ mes remerciements s'adressent en premier lieu à «الله» le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné le courage, la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

✍ mes sincères remerciements s'adressent en seconde lieu à ma promotrice Madame **Abbas A.** (M.C.B ; U.K, M.Ouargla).

✍ mes respects et mes reconnaissances vont à Monsieur **Oulad Belkhir A** (M.C.B - U.K, M.Ouargla), qui m'a honoré étant mon co-promoteur. Grâce à son expérience il nous a fait bénéficier de ses remarques.

✍ mes remerciements les plus profonds sont adressés à Monsieur **CHEHMA A.** (Pr ; U.K, M.Ouargla), qui a fait l'honneur de présider ce jury.

✍ Je remercie également Madame **MAATALLAH A** (M.C.B - U.K, M.Ouargla), pour avoir accepté d'examiner ce travail.

✍ Sans oublier l'ensemble des enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie U.K, M.Ouargla. , le staff du laboratoire de biologie et génétique moléculaire du CHU de Constantine, le DSA, les docteurs vétérinaires , Les éleveurs et les chameliers de la région de Ouargla

✍ mes remerciements les plus profonds sont adressés à mes collègues de travaille de la ferme crevetticulture de Ouargla Melle **OUMAYAD**, Mr. **HAMDI. A**, Melle **SMAILI. F** et Mr. **SOUFI. S**, qui ont contribué à la réalisation de ce travail. je les remercie infiniment aussi pour leur précieux conseils, leur bonne humeur et leur disponibilité toute au long de mon étude.

✍ mes respects et ma reconnaissance vont à Monsieur **Kourichi Nadir** pour son encouragement.

✍ Enfin je tiens à remercier sincèrement toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin pour accomplir ce travail surtout **felioune Bet Khazane B.**

## *Liste des TABLEAUX*

N°	Titre	Page
01	Composition des troupeaux et animaux d'étude.	27
02	Corrélations des mensurations	44
03	Barycentre des classes de l'échantillon( principal)	46
04	Barycentre des classes de l'échantillon( secondaire)	46
05	Résultats de l'évaluation de la quantité et de la qualité des échantillons d'ADN génomique du dromadaire par les méthodes « NaCl » et « Chlorure de guanidium »	51

## *TABLEAU DES FIGURES*

N°	Titre	Page
01	Classification de la famille des Camélidés ( Faye, 2015 )	04
02	Effectifs camelin en Algérie pendant la période 1961-2019(données tirées à partir des statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture)	08
03	Répartition géographique des populations camelines en Algérie (Ouled Belkhir, 2008)	11
04	Structure de la cellule eucaryote	16
05	Structure de la double hélice de l'ADN (forme B) (Aouf, 2015).	17
06	Les composants du sang (American Society of ClinicalOncology, 2004)	18
07	Les mensurations corporelles prises sur l'animal(profil 1)	28
08	Les mensurations corporelles prises sur l'animal (profil 2)	29
09	Les mensurations corporelles prises sur l'animal(profil 3)	29
10	Acte de prélèvement sanguin	30
11	Pelote d'ADN	34
12	Nanodrp 2000c	36
13	Interface du logiciel NanoDrop	37
14	Préparation d'un gel d'agarose à 0.8%	39
15	Cuve d'électrophorèse	40

<b>16</b>	Visualisation des bandes d'échantillons d'ADN	40
<b>17</b>	Moyenne des différentes mensurations chez les femelles	43
<b>18</b>	Moyenne des différentes mensurations chez les femelles sahraouies	44
<b>19</b>	Analyse en composantes principales des mensurations	46
<b>20</b>	Electrophorèse des échantillons d'ADN extraits par les méthodes au « NaCl » et au « Chlorure de guanidium » sur gel d'agarose 0.8%	53

## *Liste DES ABREVIATIONS*

<b>Abréviation</b>	<b>signification</b>
<b>ADN</b>	Acide desxyribo-nucléotide
<b>PCR</b>	Polymerasechainreaction
<b>BHD</b>	Biomasse des Herbivores Domestiques
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization
<b>QTL</b>	Locus de caractères quantitatifs
<b>SNP</b>	Single nucleotidepolymorphism
<b>Gb</b>	Giga base
<b>%</b>	Pour cent
<b>CACACACA</b>	Cytosine AdénineCytosineAdénine Cytosine Adénine Cytosine Adénine
<b>TGTGTG</b>	Thymine Guanine Thymine Guanine Thymine Guanine
<b>TPNS</b>	Tri-iso-propyl-naphtalene-sulfonique acid
<b>SDS</b>	Sodium dodecyl sulfate
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>ARN</b>	Acid ribonucléique
<b>DO</b>	Densité optique
<b>UV</b>	Ultra violette
<b>R</b>	Rapport
<b>BET</b>	Bromure d'éthidium
<b>TA</b>	Tour abdominal
<b>TP</b>	Tour de poitrine
<b>HG</b>	Hauteur au garrot
<b>LMP</b>	Longueur de membre postérieure

<b>LT1</b>	Longueur de la tête au-dessus
<b>LT2</b>	Longueur de la tête au-dessous
<b>LC</b>	Longueur du cou
<b>CC</b>	Circonférence du cou
<b>HB</b>	Hauteur à la bosse
<b>LQ</b>	Longueur de la queue
<b>Tpa</b>	Tour paturon
<b>TS</b>	Tour spiral
<b>LI</b>	Longueur de corps
<b>LO</b>	Longueur des oreilles
<b>Lt1</b>	Distance entre les oreilles
<b>Lt2</b>	Distance entre les yeux
<b>LP</b>	Longueur de pie
<b>DMA</b>	Distance entre mamelons antérieures
<b>DMP</b>	Distance entre mamelons postérieures
<b>DMAP</b>	Distance entre mamelons antérieures et postérieures
<b>EDTA</b>	Acide éthylène diamine-tétra-acétique
<b>SDS</b>	Dodécyl-sulfate de sodium
<b>TE</b>	Tris/EDTA
<b>rpm</b>	Roue par minute
<b>PH</b>	Potential d'hydrogène
<b>NaCl</b>	Chlorure de sodium
<b>TBE</b>	Tris/Borate/EDTA
<b>XLSTAT</b>	Logiciel statistique
<b>ACP</b>	Analyse en Composantes Principales
<b>CAH</b>	classification Ascendante Hiérarchique
<b>Chi<sup>2</sup></b>	Test de khi-deux

## *TABLE DE MATIERE*

<i>Introduction</i>	
Introduction	1
<b>Partie I : Revue bibliographique</b>	
<b>Chapitre 01. Données générales sur le dromadaire</b>	<b>3</b>
1.1. Taxonomie	3
1.2. Caractères morphologiques du dromadaire	5
1.3. Adaptation aux conditions rigoureuses	6
1.4. Productions du dromadaire	6
1.5. Systèmes d'élevage	6
1.6. Données épidémiologiques sur le dromadaire en Algérie	7
1.7. Conservation des ressources génétiques animales	9
1.8. Importance de la génétique en élevage camelin	9
1.8.1. Notion d'espèce	9
1.8.2. Notion de race et de population	9
1.8.3. Notion de génétique des populations	10
1.8.4. Critères de classification des races camelines	10
1.8.5. Caractérisation génétique des populations de dromadaire	11
1.8.5.1. Caractérisation et étude de la diversité phénotypique	11
1.8.5.2. Génétique moléculaire et étude de la diversité génétique, marqueurs génétiques et microsatellites	12
1.8.5.2.1. Historique	12
1.8.5.2.2. Avancées de la biologie moléculaire dans le domaine de la caractérisation génétique des populations de dromadaires	13
<b>Chapitre 02 : Méthodes d'extraction d'ADN génomique du dromadaire</b>	<b>15</b>
2.1. Cellule, Noyau et acide désoxyribonucléique	15
2.1.1. Cellule	15
2.1.2. Noyau	15
2.1.3. Acide désoxyribonucléique	16
2.2. Sources d'obtention de l'ADN génomique	17
2.3. Propriétés hématologiques du sang du dromadaire	19
2.3.1. Globules rouges	19
2.3.2. Globules blancs	19



<b>2.3.3. Plaquettes</b>	20
<b>2.4. Extraction d'ADN des leucocytes</b>	20
<b>2.4.1. Lyse des globules rouges</b>	20
<b>2.4.2. Lyse des leucocytes et libération de l'ADN</b>	20
<b>2.4.3. Précipitation et solubilisation de l'ADN</b>	21
<b>2.5. Méthodes d'extraction de l'ADN</b>	21
<b>2.5.1. Méthodes utilisant des solvants organiques</b>	21
<b>2.5.2. Méthodes utilisant des solvants non organiques</b>	22
<b>2.5.3. Méthodes basées sur l'utilisation de colonnes résines échangeuses d'ions</b>	22
<b>2.5.4. Méthodes de Kits</b>	22
<b>2.6. Evaluation de la quantité et de la qualité de l'ADN extrait</b>	23
<b>2.6.1. Dosage de l'ADN</b>	23
<b>2.6.2. Estimation de la pureté de l'ADN</b>	23
<b>2.6.2.1. Rapport de densité optique</b>	23
<b>2.6.2.2. Migration électrophorétique</b>	24
<b>2.6.2.3. Chromatographie</b>	24
<b>Partie II : Partie expérimentale</b>	
<b>Chapitre01 : Matériel et méthodes</b>	26
<b>1.1. Durée, zone et population d'étude</b>	26
<b>1.2. Recueil de données, enquête et questionnaire</b>	27
<b>1.3. Prélèvements sanguins</b>	30
<b>1.3.1. Acte de prélèvement</b>	30
<b>1.3.2. Conservation du sang</b>	31
<b>1.4. Extraction de l'ADN génomique</b>	31
<b>1.4.1. Extraction d'ADN par la méthode au « NaCl »</b>	31
<b>1.4.1.1. Principe</b>	31
<b>1.4.1.2. protocole d'extraction</b>	31
<b>1.4.2. Extraction d'ADN par la méthode au « chlorure de Guanidine »</b>	33
<b>1.4.2.1. Principe</b>	33
<b>1.4.2.2. Protocole d'extraction</b>	33
<b>1.5. Conservation de l'ADN</b>	34
<b>1.6. Estimation de la quantité et de la qualité de l'ADN</b>	34
<b>1.6.1. Spectrophotométrie</b>	34
<b>1.6.1.1. Principe</b>	34

<b>1.6.1.2. Spectrophotométrie par NanoDrop 2000c</b>	35
<b>1.6.1.3. Protocole expérimental</b>	35
<b>1.6.1.4. Interprétation</b>	36
<b>1.6.2. Electrophorèse</b>	37
<b>1.6.2.1. Principe</b>	37
<b>1.6.2.2. Protocole expérimental</b>	37
<b>1.7. Analyses statistiques</b>	40
<b>Chapitre 02. Résultats et Discussion</b>	42
<b>1. Enquête sur terrain</b>	42
<b>2. Etude phénotypique</b>	42
<b>2.1. Valeurs de mensuration corporelles</b>	42
<b>2.2. Analyse en Composantes Principales pour les échantillons(ACP)</b>	44
<b>2.3. Classification ascendante hiérarchique (CAH)</b>	46
<b>3. Comparaison des techniques d'extraction d'ADN</b>	47
<b>3.1. Procédés d'extraction</b>	48
<b>3.2. Evaluation de la quantité et de la qualité de l'ADN</b>	50
<b>3.2.1. Concentration de l'ADN</b>	51
<b>3.2.2. Rendement de l'extraction</b>	52
<b>3.2.3. Pureté de l'ADN</b>	52
<b>Conclusion</b>	54
<b>Annexes</b>	56
<b>Référence bibliographique</b>	<b>60</b>

### **Introduction :**

Le dromadaire est l'espèce d'élevage la plus adaptée à la rudesse écologique. Dans les conditions difficiles de son milieu désertique, il arrive à subsister, à se reproduire et même à produire. C'est un véritable facteur d'équilibre écologique et une composante importante de l'écosystème désertique à conditions sahariennes extrêmement contraignantes.

L'élevage camelin joue un rôle irremplaçable dans l'économie. L'animal est utilisé pour ses différentes productions et services. Il est destiné à la production de viande, du lait et de divers produits naturels (tissu adipeux, poils...). En effet, le développement des activités d'élevage camelin pourrait contribuer fortement au renforcement de la sécurité alimentaire des régions sahariennes(Amanat et Baby.,2019). Par ailleurs, C'est un animal utilisé pour le transport et les activités culturelles et sportives, mais aussi, comme un animal de selle, de bât et de trait. Il représente un symbole de la vie sociale des bédouins dans le désert (Oulad balkhir, 2018).

L'étude de la diversité génétique des populations est nécessaire. Elle permet la gestion des populations, que ce soit à des fins d'amélioration génétique ou de gestion des populations en conservation. Elle est basée, d'une part, sur la caractérisation phénotypique à travers les profils génétiques visibles et mesurables, et d'autre part, sur la caractérisation moléculaire par des tests génétiques constituant un outil incontournable de la définition claire des races de dromadaire(Faye,1997 ; Burger *et al.*, 2019).

Plusieurs travaux, à travers le monde, ont concernés la diversité phénotypique des populations camelines (Ishage*et al.*, 2011), (Kohler-Rollefson, 2011),(Faye *et al.*, 2011),(Chniter*et al.*, 2013),(Yosefet *et al.*, 2014),(Ghiasuddin Shah *et al.*, 2014),(Legesse*et al.*, 2018),(Tandoh et Gwaza, 2017) et(Boujenane*et al.*, 2019). En Algérie, les populations sont mal décrites et la variabilité phénotypique est relativement peu étudiée (Harek, 2008 ; Haroun, 2017 ; Ouladbelkhir, 2018). Les seules indications étaient fondées sur des études réalisées pendant la période coloniale (Cauvet, 1925; Boué, 1946; 1948). Les populations sont classées soit selon les zones (le dromadaire de plaine, le dromadaire de montagne), soit selon l'appartenance tribale (le dromadaire targui, le dromadaire chaambi, le dromadaire reguibi)ou selon son l'usage (dromadaire de transport, dromadaire de monte).

L'étude de la diversité phénotypique sert d'indicateur pour l'étude et la caractérisation génétique qui constitue un outil d'identification des espèces, de conservation des ressources génétiques et d'orientation des stratégies de gestion des populations camelines face au changement climatique et à l'évolution des systèmes d'élevage camelin.

L'étape initiale et cruciale de la caractérisation génétique des populations réside en l'obtention d'un matériel génétique présentant un bon rendement quantitatif et qualitatif. Cela permet de procéder à une étude moléculaire fine par des techniques très développées.

De très nombreux procédés d'extraction des acides nucléiques ont été décrits. Le protocole est globalement le même pour les différents types d'organismes. Cependant, il reste des spécificités à déterminer pour chacun d'entre eux. La technique d'extraction doit être adaptée à l'échantillon biologique, à la nature du génome et aux méthodes de biologie moléculaire utilisées ultérieurement (polymerase chain reaction (PCR), Southern-blot, électrophorèse en champ pulsé...). Le rendement, la qualité, le coût, la rapidité sont des facteurs d'importance majeure à considérer.

Le présent travail de recherche a pour objectifs:

- ✓ La contribution à la caractérisation phénotypique et morpho-métrique de la population dite « sahraoui » via la collecte des observations de caractères morphologiques et des mensurations sur les animaux.
- ✓ L'extraction d'ADN génomique de dromadaire à partir du sang veineux par différentes méthodes afin de les comparer et d'estimer le rendement, la rapidité, la qualité et la quantité d'ADN obtenu. Cela permet de décrire la méthode la plus adaptée aux particularités de l'animal et aux besoins de l'expérimentateur.
- ✓ La contribution à la constitution d'une banque d'ADN de dromadaire, afin d'étudier, ultérieurement, la diversité génétique des populations camelines du Pays.

*Revue bibliographique*

---

## Chapitre 01 : Données générales sur le dromadaire

### 1.1 . Taxonomie

Le dromadaire appartient au règne animalea, embranchement des vertébrés, classe des mammifères, ordre des artiodactyles, famille des camélidés, genre camelus et espèce dromedarius.

En fait, la famille des camélidés comprend trois genres:camelus,lama et vicugna.

Le genre camelusoccupe les régions désertiques d’Afrique, d’Asie et d’Europe, alors que lesgenreslama et vicugna sont spécifiques des déserts d’altitude d’Amérique, qui ont donné naissance à quatre espèces distinctes.

Le genre cameluscomprend deux espèces,celle de l’Asie, confronté au froid et à l’aridité, a évoluée en chameau à deux bosses : le chameau de Bactriane ;et celle dont les animaux se déplacèrent dans les régions chaudes et arides, Afrique et Moyen-Orient, ont évolués en un chameau à une bosse : le dromadaire (Musa, 1990 ; Faye, 1997)(**Figure01**).

D’après des études cytologiques, les différentes espèces camelines sont très proches les unes des autres sur le plan génétique, avec 37 paires de chromosomes ( $2n = 74$ ) (Sammanet *al.*, 1993). Ce rapprochement a favorisé la reproduction entre les espèces et l’observation d’une grande variété d’hybrides possédant différents signes phénotypiques.L’hybridation entrebactriane et dromadaire est fréquente et en fait l’exemple.Dans le sud du Kazakhstanbactriane, dromadaire et hybrides cohabitent au sein d’une même exploitation. (Konuspayeva,2007).

En Algérie, l’ensemble du cheptel camelin est constitué exclusivement de dromadaire de l’espèce Camelus dromedarius, espèceayant une seule bosse (Harek, 2008)

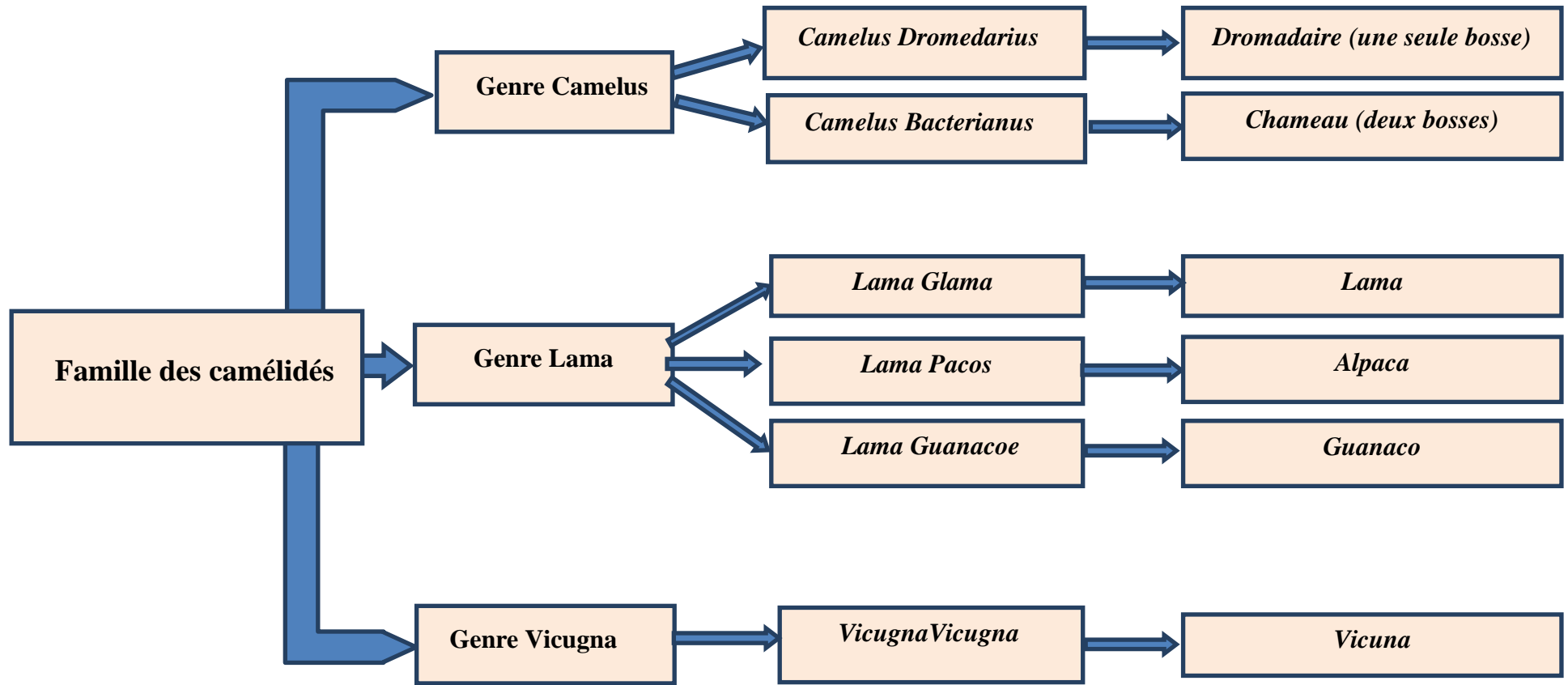


Figure 01: Classification de la famille des Camélidés ( Faye, 2015 )

### 1.2 .Caractères morphologiques du dromadaire

Le dromadaire est un animal haut, il possède des os et des membres longs, traduisant l'éloignement du corps (thorax et abdomen) du sol, d'où l'appellation grand camélidés. Ces derniers sont des Artiodactyles possédant des pieds à deux doigts, élargis et un coussinet plantaire charnu, seul l'avant du sabot touche le sol. C'est grâce à ces caractéristiques que les dromadaires se déplacent avec une facilité sur le sable du désert. C'est un animal qui marche avec les pattes avant et arrière du même côté avançant en même temps.

Il possède une tête large, un cou long et des petites oreilles. Les yeux larges et saillants, les narines longues peuvent être réformées pour les besoins de l'animal, la lèvre supérieure est divisée, fondue, poilue, extensible et très sensitive, la lèvre inférieure est large et pendante.

Il est caractérisé par une bosse apparente sur le dos. Un tissu adipeux, blanc et de consistance douce, susceptible de varier, en volume et en vertus, de l'état nutritionnel de l'animal. Cette accumulation de graisse localisée évite la dissémination du gras en région sous cutanée dans les autres parties du corps et assure un rôle dans la thermorégulation, permettant à l'animal de mieux se refroidir. Il a un pouvoir de transformer la graisse en eau par des réactions physiologiques d'oxydation. (Bengoumiet *al.*, 2005)

La peau est souple et recouverte de poils. Cependant, épaisse sur le dos et recouverte d'un tissu cutané corné et épais (coussinet) aux zones de contact avec le sol, les membres. Le coussinet sternal maintient l'abdomen légèrement au-dessus du sol. La couleur de la peau varie selon les types : brune, chocolat foncé à presque noir, rouge ou rouille fauve elle peut même être presque blanche.

La femelle a quatre quartiers au niveau de la mamelle, les testicules du mâle sont positionnés haut derrière les cuisses.

Concernant son anatomie digestive, le dromadaire est un ruminant domestique présentant une forme, structure et fonction lui conférant la particularité de digérer et de valoriser les ressources végétales naturelles des zones désertiques.



### 1.3. Adaptation aux conditions rigoureuses

Le dromadaire est un animal de zones arides et désertiques par excellence, il a la capacité à survivre dans des conditions environnementales extrêmes, à résister à la déshydratation, aux fortes amplitudes thermiques, au stress oxydatif, à des ressources alimentaires déficientes, et aux agressions des germes pathogènes. Cela peut être expliqué par sa composition génomique assez exceptionnelle et ses particularités morphologiques et anatomiques sus citées. Par ailleurs, le dromadaire utilise des mécanismes immunologiques et moléculaires uniques contre certains agents pathogènes et processus pathologiques (Ali et Baby., 2019).

### 1.4. Productions du dromadaire

Le dromadaire joue un rôle important dans la vie de l'homme occupant les régions arides. En Algérie, cet élevage représente une part importante de l'activité économique. C'est un animal d'élevage, avec une orientation essentiellement de production de viande. Une sous exploitation des autres produits, notamment le lait, dans notre pays, a été noté. Elle est due à la méconnaissance de ce matériel biologique (Ouladbelkhir, 2018)

Ces dernières décennies, divers produits naturels issus de son tissu adipeux et son lait ont fait l'objet de travaux qui ont permis de mettre en évidence des activités biologiques variées dues à leur composition. Le lait est particulièrement riche et équilibré en nutriments de base en éléments minéraux et en vitamines, réputé pour ses vertus thérapeutiques et la présence en son sein d'un système antibactérien puissant (Ali et Baby., 2019)

Au-delà des productions de lait et viande, le dromadaire est considéré comme l'archétype de l'animal multi usages. Sa production de laine est maintenant bien documentée.

### 1.5. Systèmes d'élevage

Les dromadaires sont élevés selon trois systèmes : sédentaire, nomade ou transhumant, avec une prédominance du mode nomade et essentiellement transhumant (Richard, 1985).

Le nomadisme est défini comme un ensemble de déplacements irréguliers anarchiques entrepris par un groupe de pasteurs d'effectifs variables dans des directions imprévisibles. Et ce du fait que les pasteurs nomades n'ont pas d'habitat fixe permanent, suivant la nature de l'élevage camelin nécessitant un déplacement libre à la recherche du pâturage (Abaab et *al.*, 1995). La transhumance, fait référence à une pratique de déplacement des troupeaux, saisonnier, pendulaire, selon des parcours bien précis, répétés chaque année. Cela, généralement dans l'objectif de cibler les ressources fourragères et hydriques (Faye, 1997). L'élevage sédentaire, quand à lui, signifie que les troupeaux se déplacent, souvent sur de longues distances, mais qu'ils reviennent chaque soir au village. C'est, en fait, un processus d'évolution et d'adaptation des populations nomades qui réduisent l'amplitude de leurs déplacements, incluent des pratiques agricoles dans leurs activités, et participant aux services sanitaires et à la vie urbaine (Bourbouze, 2006).

Suivant les zones écologiques dans lesquelles ils vivent les tribus et leurs usages, la saison, et aussi les habitudes propres à chaque famille d'éleveurs on voit adopter diverses combinaisons.

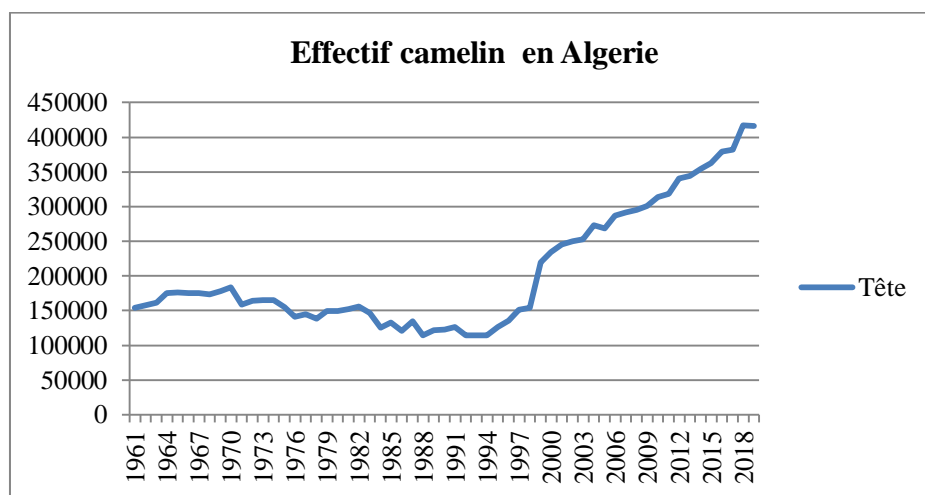
En Algérie, différents modes de conduite d'élevage subsistent, nomades, transhumant, sédentaires, semi-nomades et semi-transhumant (Harek, 2008 ; Adamou, 2008). compte tenu des changements écologique, économique et social, il a été conclu que le mode d'élevage qui restera le plus stable est le semi-nomadisme, et celui-ci mérite d'être conforté en essayant de trouver des formes d'intégration qui permettront la perpétuation de cette interdépendance entre l'homme, l'animal et la plante, de respecter l'équilibre écologique et en favorisant le bénéfice des bienfaits du monde moderne (scolarisation des enfants, valorisation des produits et sous-produits) (Adamou, 2008).

### **1.6. Données épidémiologiques sur le dromadaire en Algérie**

Le recensement précis des camelins est difficile, car il s'agit essentiellement des animaux élevés par des populations nomades (Ouladbelkhir, 2018)

En fonction de l'effectif des dromadaires par rapport à la Biomasse des Herbivores Domestiques (BHD), l'Algérie est classée parmi les pays à faible densité, dont l'effectif est compris entre 1 et 8 % de la BHD (Faye, 1997)

Depuis 1961, les effectifs camélins en Algérie ont connu des fluctuations où l'on rencontre une régression à partir des années soixante jusqu'au début des années quatre-vingt-dix, due à la révolution agraire qui a provoqué chez les uns de fausses déclarations et chez les autres, un exode rural, se soldant par un délaissement de l'élevage camelin. Une augmentation des effectifs durant les années deux mille a été, par contre observée, due à la subvention de l'Etat. L'évolution de l'effectif est très nette allant jusqu'aux 400000 têtes en 2019 (FAO, 2021)(**Figure 02**).



**Figure02** : Effectifs camelin en Algérie pendant la période 1961-2019 (données tirées à partir des statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture).

En ce qui concerne la distribution géographique, le cheptel camelin algérien est réparti sur trois principales zones d'élevage (17 Wilayas) Ouledlaid (2008) :

**Sud-Est** : incluant la zone Sud – Est proprement dite avec plus de 28,54% de l'effectif total, elle concerne les wilayas d'El Oued, Biskra, M'sila, Tébessa, Batna et Khenchela, et la zone centrale qui comporte plus de 17,17% de l'effectif total, représentée par les wilayas sahariennes Ouargla et Ghardaïa et deux wilayas steppiques à savoir, Laghouat et Djelfa.

**Le Sud-ouest** : comportant 29,55% de l'effectif total, il concerne les wilayas sahariennes Bechar, Tindouf et la partie Nord d'Adrar et les wilayas steppiques Naama et El Bayadh.

**L'extrême Sud** : comprend plus de 41,90% de l'effectif total, réparti sur les wilayas sahariennes Tamanrasset, Illizi et la partie Sud d'Adrar.

### **1.7. Conservation des ressources génétiques animales**

La structuration génétique d'une population dépend de plusieurs facteurs, le patrimoine génétique de l'espèce, son histoire évolutive ainsi que les pratiques des éleveurs. Le maintien de la variation génétique existante constituera une étape importante de la conservation des ressources génétiques animales (Ould Ahmed et *al.*, 2010).

Le problème, en Algérie, est que les populations camelines sont mal décrites. Un diagnostic, en particulier, des systèmes d'élevage et des performances des races camelines sont nécessaires (Ouladbelkhir, 2018). La population semble être menacée par l'absence de gestion des généalogies dans les troupeaux, et par des croisements consanguins qui pourraient entraîner une évolution de sa structure génétique vers l'homozygotie.

### **1.8. Importance de la génétique en élevage camelin**

#### **1.8.1. Notion d'espèce**

C'est une population ou un ensemble de populations dont les individus peuvent effectivement ou potentiellement se reproduire entre eux et engendrer une descendance viable et féconde, quel que soit leur éloignement géographique. Ainsi, l'espèce est la plus grande unité de population au sein de laquelle le flux génétique est possible (Takoucht, 1998)

#### **1.8.2. Notion de race et de population**

Le terme usuel de race est utilisé pour désigner des populations d'individus de la même espèce, de caractéristiques morphologiques et écologiques jugées comme suffisamment proches pour que leurs soit attribuée une même dénomination. Chaque population est constituée d'un ensemble de troupeaux entre lesquels des échanges entretiennent un flux génique, et de ce fait, diffère dans l'incidence de certains gènes des autres populations, conséquence d'une isolation, le plus souvent géographique. (Blanc et Ennesser., 1989).

### 1.8.3. Notion de génétique des populations

La génétique des populations est une science qui s'intéresse à l'étude de la variabilité des caractères au sein des populations. Elle permet aussi l'étude de la fréquence des gènes et des génotypes, permettant de mesurer la variation génétique d'une population.

Dans une population dite « à l'équilibre » les fréquences alléliques et génotypiques ne changent pas et restent constante d'une génération à une autre si, entre autres, les croisements se font d'une manière au hasard et en absence de forces évolutives.

Cependant, cet équilibre est un état idéal qui ne se produit jamais dans la nature car il y a toujours une influence perturbante dans la nature. Les exemples d'influences perturbatrices incluent : l'accouplement non aléatoire, les mutations, la sélection, la taille limitée de la population, la dérive génétique aléatoire et le flux de gènes.

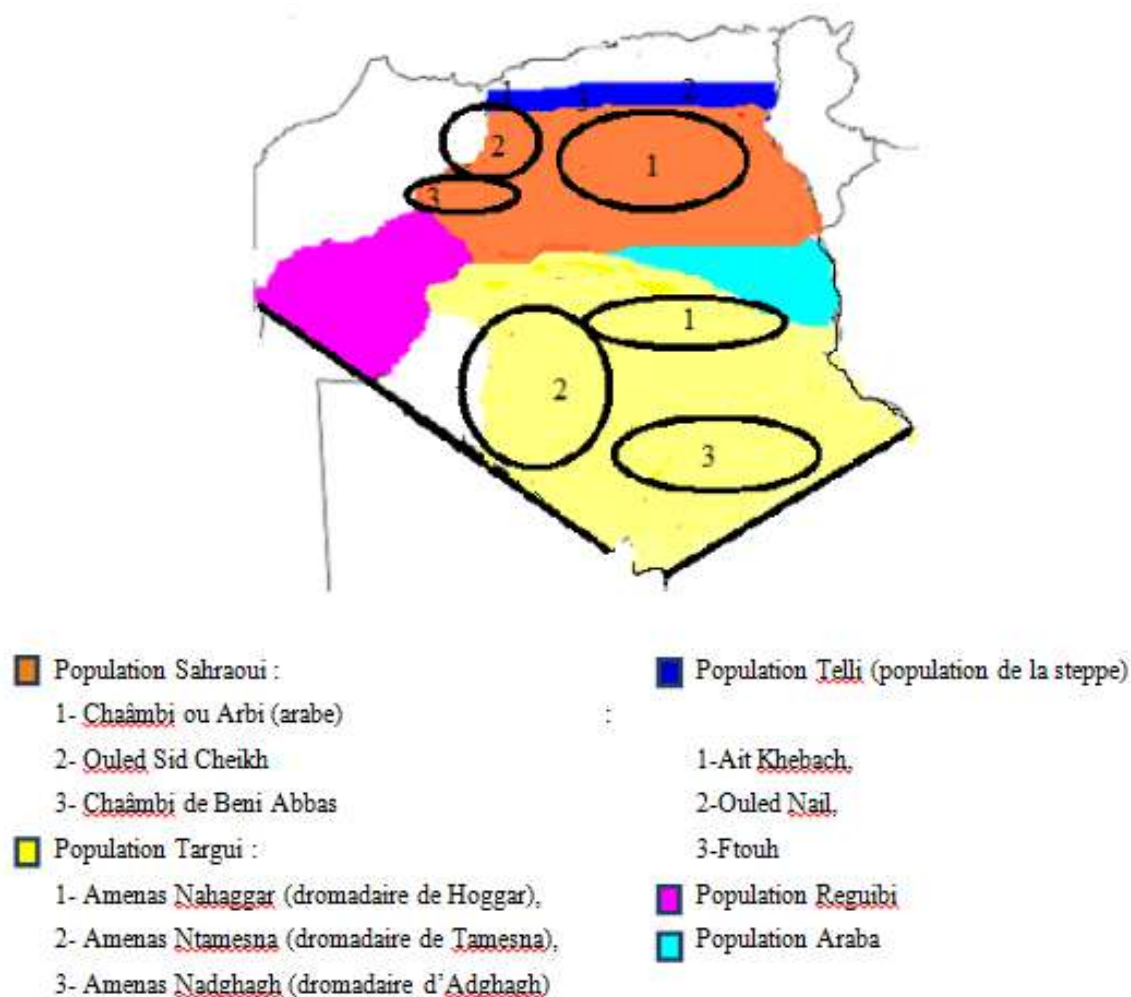
### 1.8.4. Critères de classification des races camelines

Déterminer les races camelines est une investigation en génétique des populations des dromadaires qui apporterait les données nécessaires pour préciser l'originalité et la phylogénèse des diverses races (Blanc et Ennesser., 1989).

Initialement, plusieurs caractéristiques ont été identifiées pour classer les races à savoir : la morphologie, la biologie, l'habitat, le mode d'utilisation et la localisation géographique. Cependant, il apparaît que les critères morphologiques simples : taille, poids, conformation, robe, pelage, représentent les facteurs les plus discriminants pour l'identification. Elle se réalise par des observations, sur l'apparence extérieure pour les caractères qualitatifs, et par des mesures barymétriques pour les caractères quantitatifs (Blanc et Ennesser., 1989 ; Faye, 1997).

En Algérie, la nomenclature des populations camelines était plus en rapport avec les noms des tribus qui les reproduisent (Chambi, Targui, Reguibi) que d'une distinction fondée sur les caractéristiques phénotypiques. Quelques actions isolées sur la description morphologique et l'évaluation des aptitudes de production et de reproduction ont été effectuées sur des populations locales, elles visaient surtout la mise au point des standards pour les différentes races (Oulad belkhir, 2018) (**Figure 03**).

L'utilisation de typage ADN s'appuyant sur les outils de la biologie moléculaire conduira sans doute à mieux cerner les bases permettant de décrypter le génome du dromadaire et préciser les relations de parenté entre les différentes "races" répertoriées dans le monde du dromadaire.



**Figure 03:** Répartition géographique des populations camelines en Algérie (Oulad Belkhir, 2008).

### 1.8.5. Caractérisation génétique des populations de dromadaire

#### 1.8.5.1. Caractérisation et étude de la diversité phénotypique

Les études de la variabilité génétique des populations par le biais de la caractérisation phénotypique est une méthodologie d'analyse basée sur l'étude des profils génétiques visibles et mesurables ainsi que la structuration de la typologie des exploitations d'élevages camélins. Ce genre d'études sert un indicateur pour les travaux et des tests génétiques basés sur l'analyse du polymorphisme d'ADN qui constitue un outil d'identification des espèces.

En Algérie, la variabilité phénotypique des populations camelines a été entreprise, dans certains travaux, en se basant sur les paramètres morphologiques et quelques performances zootechniques. Il s'agit de l'étude sur des populations camelines «Tergui» dans la région du Hoggar wilaya de Tamanrasset réalisée par Harek (2008), l'étude de Haroun (2017), dans la région steppique et sub-saharienne représentée par les wilayas de Laghouat, M'sila et Djelfa, Biskra et El Oued, et par l'étude de Ouled belkhir (2018).

### **1.8.5.2. Génétique moléculaire et étude de la diversité génétique, marqueurs génétiques et microsatellites**

#### **1.8.5.2.1. Historique**

La génétique s'est définie comme la discipline qui étudie la transmission de l'information héréditaire et son utilisation dans le développement et le fonctionnement des organismes.

Après les travaux de Gregor Mendel, fondateur de la génétique moderne, les généticiens des espèces d'élevage restèrent attentifs aux progrès de leur discipline mère, une perception claire de cette lacune et le souci de la combler. Un épisode est à ce titre significatif, lorsque le groupe de R. Irwin, immuno-généticien Américain, amis en évidence 30 antigènes de groupements sanguins bovins à déterminisme mendélien, il crut à un moment avoir trouvé un marqueur pour chacun des chromosomes de l'espèce et envisagea la recherche de ce que l'on appellerait aujourd'hui des QTL (locus de caractères quantitatifs : quantitative trait loci). Cette vision témoigne d'une attention forte pour la cartographie du génome des espèces d'élevage.

Un nouvel espoir avec l'apparition des techniques d'électrophorèse en gel, permettaient la mise en évidence du polymorphisme des protéines. Elles donnèrent lieu à une profusion d'études, sur les protéines sanguines surtout. C'est ainsi que les travaux sur les enzymes érythrocytaires d'une dizaine d'espèces animales ont permis, dès 1975, d'analyser le polymorphisme de 40 systèmes enzymatiques, contrôlé par 50 loci. Cependant, ces loci ne sont pas polymorphes dans toutes les espèces, et l'analyse du polymorphisme existant exige la mise en œuvre de techniques variées, coûteuses et parfois délicates.

Au cours des années quatre-vingt la mise au point des techniques de détection des polymorphismes de l'ADN, des fragments de restriction d'abord (Botstein et al., 1980),

desminisatellites (Jeffreys, 1985) et surtout des microsattellites (Weber et May.,1989; Litt et Luty.,1989) ont donné accès à un nombre de marqueurs suffisant pour entreprendre une cartographie systématique et raisonnée du génome des espèces d'élevage (Ould Ahmed et *al.*, 2010)

Une évolution rapide au cours de la dernière décennie. Une méthode innovante de sélection du génome à l'aide de cartes de marqueurs denses couvrant tous les chromosomes a été suggérée par Meuwissen et ses collègues (Meuwissen, 2016)

Finalement le premier projet d'étude génomique pour déterminer les polymorphismes d'un seul nucléotide (SNP) hétérozygotes, chez les animaux sauvages et domestiques, on rapporté que la taille du génome du chameau de Bactriane est de 2,38 Gb et contenait 20 821 gènes (Amanat, 2019)

### **1.8.5.2.2. Avancées de la biologie moléculaire dans le domaine de la caractérisation génétique des populations de dromadaires**

Les études génétiques des camélidés ont subi une évolution remarquable. La caractérisation de l'élevage et la diversité génétique a été entreprise en vue de déterminer les pratiques régissant la gestion de l'espèce, elle est capitale pour l'élaboration de toute stratégie d'exploitation et de conservation durable, rentable et bien ciblée.

L'étude de la diversité génétique au moyen de microsattellites permet de détecter le polymorphisme dans la population totale et de déterminer la diversité intra et inter populations, la structure et les distances génétiques entre les populations étudiées. Ce niveau de diversité et cette structuration génétique qui pourraient être essentiellement liés à l'histoire évolutive des espèces et surtout les conséquences des stratégies de reproduction adoptées par les éleveurs (Pitel et Riquet., 2000).

Le terme de polymorphisme génétique signifie des formes différentes normales que peut prendre un même gène. C'est l'existence, dans une population, de plusieurs états alternatifs de l'ADN, ou allèles, en une position définie du génome, ou locus. Ceci peut concerner des substitutions nucléotidiques, ou des variations de nombre d'un motif particulier de nucléotides



variant en taille d'un à plusieurs nucléotides et répétés un certain nombre de fois en tandem. (Polymorphisme de nombre de répétitions).

Une part considérable (30 à 40%) du génome des mammifères est composée de séquences répétées différentes dont les ADNs satellites. Les microsatellites correspondent à des variations de longueur d'un fragment d'ADN souvent non-codant dû au changement du nombre de répétitions dans une courte séquence répétée de nucléotides, par ex. CACACACA, ou TGTGTG(Weber et May., 1989). Ces régions peuvent être amplifiées par PCR et les variations de longueur des fragments amplifiés peuvent être mises en évidence par des techniques d'électrophores. De cette façon, les microsatellites fournissent des marqueurs codominants et pouvant présenter un très grand nombre d'allèles.

Depuis quelques années, différents programmes européens ont développé des "kits" microsatellites pour chacune des races domestiques à forte importance économique. Ils présentent l'avantage majeure d'être neutres vis à-vis du processus de sélection, la diversité génétique observée étant la conséquence de deux forces: dérive génétique et mutation.

Des études effectuées en Tunisie par (Ould Ahmed,2010) ; (Bedhiat et *al.*,2015) et (Nouairia ,2018 ) ; au Maroc par (Piro et *al.*, 2012) et (Jebah,2013) et en Algérie par (Cherifi et *al.*, 2017) ont fait l'objet caractérisation génétique des populations de dromadaires par l'utilisation de certains marqueurs microsatellites.

## Chapitre 02 : Méthodes d'extraction d'ADN génomique du dromadaire

Les êtres vivants possèdent dans le noyau de leurs cellules l'acide desxyribonucléotide, ou ADN, support de l'information génétique contrôlant tous les caractères d'un organisme. La génétique moléculaire est un domaine de la génétique qui représente un outil incontournable de la gestion des populations, que ce soit à des fins d'amélioration génétique des souches sélectionnées ou de gestion des populations en conservation (Ben larbi *et al.*, 2011).

### 2.1 .Cellule, Noyau et acide désoxyribonucléique

#### 2.1.1 .Cellule :

La cellule se définit comme une « unité de vie » capable de manifester les propriétés d'un être vivant : se nourrir, croître et se reproduire.

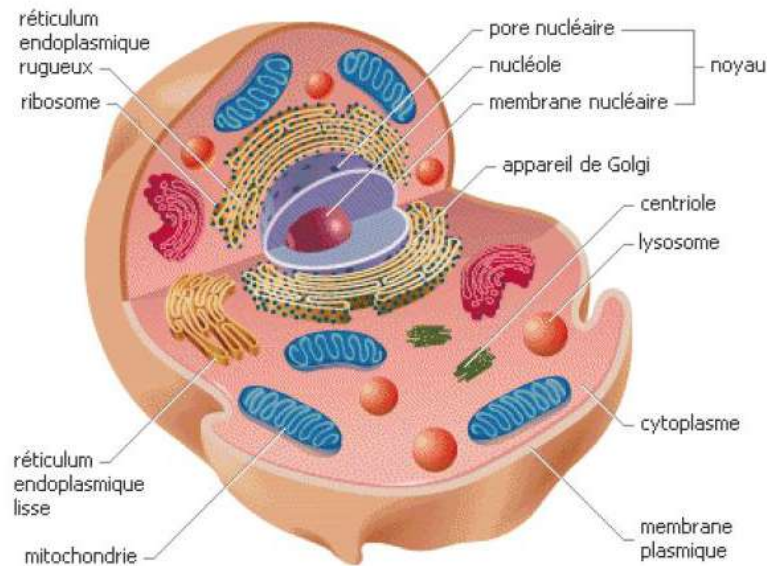
La cellule eucaryote se rencontre chez les organismes supérieurs, animaux, végétaux et homme. C'est le type de cellules ayant la taille la plus grande (de 2 à 100  $\mu\text{m}$ ) et l'organisation la plus complexe. Elle est délimitée par une membrane plasmique, qui la sépare de son environnement et qui assure les échanges avec le milieu extérieur. L'intérieur de la cellule est compartimenté par des systèmes membranaires qui définissent différents types d'organites. Le volume cellulaire est structuré par un réseau complexe de molécules protéiques qui forme le cytosquelette.

Un compartiment majeur de la cellule eucaryote est le noyau, séparé du reste de la cellule, le cytoplasme, par l'enveloppe nucléaire qui est caractéristique de la cellule eucaryote (véritable noyau) (karp, 2016)(**Figure 04**)

#### 2.1.2.Noyau

Le noyau est délimité par une enveloppe nucléaire qui est composée de deux membranes biologiques percées de pores qui permettent les échanges avec le cytoplasme. Le volume nucléaire est structuré par le nucléosquelette (ou matrice nucléaire).

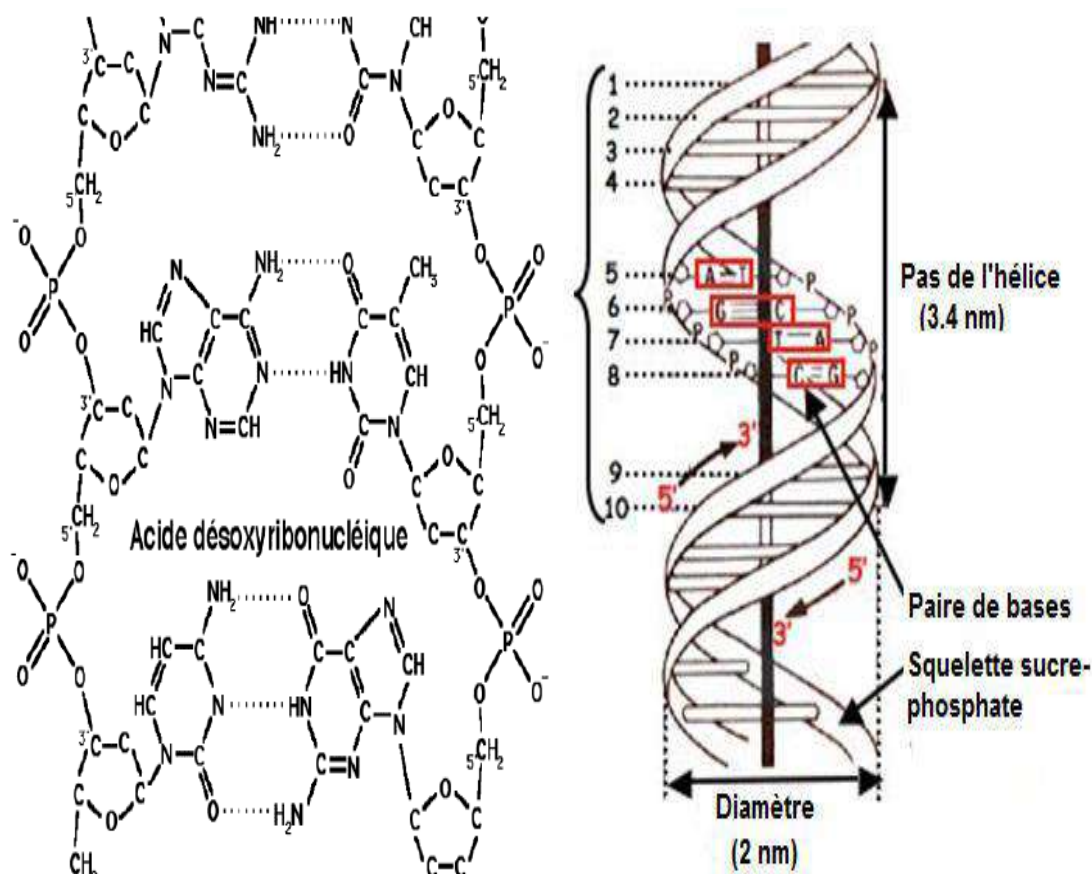
Le noyau contient un ensemble de molécules linéaires d'acides désoxyribonucléiques associées à des protéines formant les chromosomes qui portent le programme génétique de la cellule. Le noyau renferme également un ou plusieurs nucléoles riches en ribonucléo-protéines. Le noyau est le lieu de réplication de l'ADN, de la transcription et de la maturation des ARNs(karp, 2016)(**Figure 04**).



**Figure 04** : structure de la cellule eucaryote

### 2.1.3. Acide désoxyribonucléique

L'acide désoxyribonucléique est une molécule composée de deux chaînes polynucléotidiques enroulées autour d'un axe imaginaire pour former une double hélice régulière. Chaque nucléotide possède un sucre, le désoxyribose, un groupement phosphate et une base azotée. Dans chaque brin, les sucres et les groupements phosphate sont les mêmes et forment les chaînes, un peu comme les montants d'une échelle. Les bases adénine (A), thymine (T), guanine (G) et cytosine (C), font face au centre, chaque base est associée par des liaisons hydrogènes à la base qui lui est complémentaire dans le brin opposé pour constituer les « barreaux » de l'échelle (l'adénine dans un brin et s'associe à la thymine dans l'autre, tandis que la guanine s'associe à la cytosine). C'est la séquence des bases qui représente et détermine l'information génétique codée par la molécule d'ADN (Griffiths *et al.*, 2012) (**Figure 05**).



**Figure 05:** Structure de la double hélice de l'ADN (forme B) (Aouf, 2015).

## 2.2 .Sources d'obtention de l'ADN génomique

Toutes les cellules nucléées représentent des sources d'ADN, cependant celles généralement utilisées pour l'obtention du matériel génétique sont les plus facilement accessibles. Nous citons comme exemples : les cellules des parois nasales ou de la cavité buccale, les poils, les cellules tumorales ou ganglionnaires, les cellules de la moelle osseuse, mais aussi le sang (leucocytes).

Chez le dromadaire, les échantillons utilisés pour l'extraction de l'ADN sont (Bienvenu 1999 ; Benlarbi et al 2011 ; (Kohler, 2011 ; Nouairia, 2013) :

Les cellules buccales ou nasales, elles sont collectées à l'aide d'écouvillons avec une tête en mousse polyuréthane assez souple. Afin de réaliser ce prélèvement, il faut tenir fermement l'animal, lui ouvrir la bouche et frotter deux fois contre la paroi interne.

Les poils, ces derniers renferment dans leurs racines des cellules logées dites follicules qui contiennent l'ADN. Des poils coupés ou tombés qui ne contiennent pas de follicules sont dépourvus d'ADN et ne peuvent pas être utilisés pour l'extraction,

La biopsie de cartilage d'oreille, elle est faite à l'aide d'un emporte-pièce et est directement déposée dans un tube inséré dans la pince.

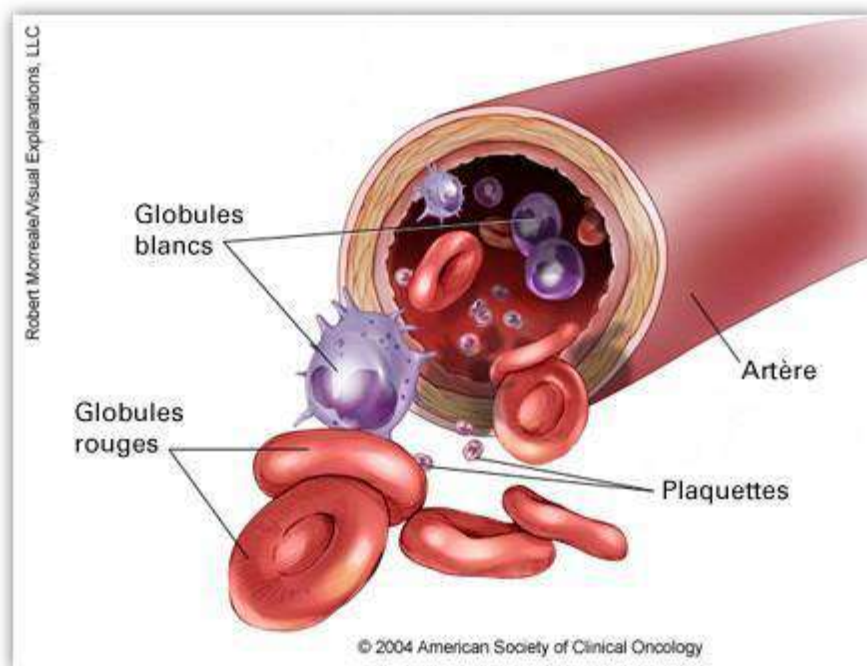
Les tissus, y compris les os, sont aussi des bonnes sources mais délicates causant des altérations de l'organisme.

Les cellules somatiques de l'épithélium mammaire contenues dans le lait.

Le sperme contenant les spermatozoïdes représente une bonne source.

Les fèces présentent aussi une source d'ADN. En effet, lors du passage des aliments dans l'intestin, des cellules épithéliales se détachent de la paroi intestinale et seront éjectées et se retrouvent sur la couche superficielle des excréments. Mais un échantillon de fèces présente l'inconvénient de contenir des ADN de différentes sources, par exemple les bactéries de la flore intestinale....

Le sang veineux, quand à lui, reste la source d'ADN majeure et la plus efficace. Il est composé de cellules sanguines en suspension dans le plasma. L'ensemble est contenu dans les vaisseaux sanguins, dont il existe plusieurs types cellulaires : les globules rouges ou hématies, les globules blancs et les plaquettes. Les leucocytes représentent les cellules nucléées utilisées pour l'obtention de l'ADN génomique (**Figure 06**).



**Figure06** : Les composants du sang (American Society of ClinicalOncology, 2004)

## 2.3. Propriétés hématologiques du sang du dromadaire

### 2.3.1. Globules rouges

Sont des cellules anucléées dont le constituant essentiel est une hémoprotéine de liaison de l'oxygène : l'hémoglobine. Le rôle principal de ces cellules est d'assurer le transport de l'oxygène et du gaz carbonique entre les alvéoles pulmonaires et les tissus (Kohler, 2011).

Les camélidés diffèrent des autres mammifères par la morphologie de leurs érythrocytes. Plûtôt que le disque biconcave typique observé chez la plupart des mammifères, les érythrocytes normaux des camélidés sont ovales, plates et sans pale centrale. Les érythrocytes des camélidés sont également plus petits en volume et significativement plus nombreux que la plupart des érythrocytes de mammifères, avec des valeurs supérieures de la normale qui approchent 18 millions/µl (Vap et Bohn, 2014).

L'ultra structure des érythrocytes du dromadaire révèle la capacité exceptionnelle de résister à des périodes considérables de déshydratation et d'augmenter le volume originale sans rupture de membrane dans des conditions hypotoniques (Al-jashamy et Sawad., 2016).

Selon les différentes références publiées, la concentration érythrocytaire varie, chez le dromadaire, entre 6 et  $10 \times 10^6 / \text{mm}^3$ . Le chameau de Bactriane, vivant en moyenne à des altitudes plus élevées que le dromadaire, présente également des valeurs nettement plus importantes: 10 à  $19 \times 10^6 / \text{mm}^3$  (CIRAD, 2014).

### 2.3.2. Globules blancs

Ces cellules participent aux défenses spécifiques de l'organisme. Elles se répartissent en polynucléaires et granulocytes contenant un noyau plurilobé, et les monocytes et lymphocytes qui appartiennent au système mononucléé. Les globules blancs ont des durées de vie variables allant de quelques heures à plusieurs jours (Kohler, 2011).

Chez le dromadaire, les valeurs de numération leucocytaire répertoriées dans la littérature situent généralement entre 10,5 et  $15,5 \times 10^3 / \text{mm}^3$  ce qui conduit à considérer que le dromadaire

présente des valeurs en moyenne supérieures à celles des ruminants (chez les bovins et les ovins, la numération leucocytaire se situe dans un intervalle compris entre 4 et  $12 \times 10^3/\text{mm}^3$  avec une moyenne de  $8 \times 10^3/\text{mm}^3$ ) (CIRAD, 2014).

En plus, une forte particularité du dromadaire en comparaison aux autres herbivores domestiques: la prédominance des polynucléaires neutrophiles qui représentent 37 à 60% des leucocytes chez le dromadaire (CIRAD, 2014).

### 2.3.3 Plaquettes

Encore appelés thrombocytes, sont des fragments cellulaires anucléés de 2 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre. Les plaquettes ont tendance à être plus petites et peuvent être plus nombreuses chez le dromadaire en comparaison à de nombreuses autres espèces (Kohler, 2011)

## 2.4. Extraction d'ADN des leucocytes

Les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN. L'extraction d'ADN à partir de ces cellules comporte les étapes suivantes :

### 2.4.1. Lyse des globules rouges

Quelque soit la méthode d'extraction des acides nucléiques utilisée à partir du sang fraîchement recueilli ou décongelé, le sang doit être initialement vigoureusement mélangé à une solution hypotonique pour faire éclater les globules rouges.

### 2.4.2. Lyse des leucocytes et libération de l'ADN

Le lysat est centrifugé et, après élimination du surnageant, le culot cellulaire contenant les leucocytes est traité par une solution de lyse des globules blancs permettant de dégrader les membranes. Il existe un grand nombre de solutions de lyse en fonction de la nature du détergent anionique utilisé. Par exemple, le tri-iso-propyl-naphtalene-sulfonique acid (TPNS), le sodium dodecyl sulfate (SDS) ou le Sarkosyle. L'ADN nucléaire est ensuite traité par une protéinase très active, la protéinase K, qui a pour but de digérer les protéines qui lui étaient associées.

L'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et est récupéré, et les protéines qui lui sont associés sont éliminées, c'est à ce stade, en général, que les procédés d'extraction et de purification varient :



Les méthodes utilisant des solvants organiques : du fait de l'affinité des protéines a ses solvants organiques elles sont piégées dans la phase organique alors que l'ADN est solubilisé dans la phase aqueuse.

Les méthodes utilisant des solvants non organiques :le principe consiste à traiter le lysat par une solution saline dont l'objectif est d'éliminer par précipitation sélective les protéines, l'ADN se trouve à l'état soluble dans la phase aqueuse.

Les méthodes basées sur l'utilisation de micro-colonnes de résines échangeuses d'ions qui se base sur l'absorption de l'ADN par ces colonnes.

### **2.4.3. Précipitation et solubilisation de l'ADN**

La précipitation, formation de la pelote d'ADN, est le plus souvent réalisée par l'alcool éthylique absolu froid à haute concentration à haute force ionique. Dans ces conditions, l'ADN précipite sous forme de filaments, visibles à l'œil nu, qui peut être récupéré par enroulement sur une fine baguette de verre. Le temps de précipitation varie en fonction de la concentration des acides nucléiques. Une alternative séduisante à l'alcool éthylique consiste à utiliser l'isopropanol ; dans ce cas, le sel n'est pas nécessaire, la précipitation se fait en général volume à volume et est particulièrement adaptée aux grands volumes.

Dans tous les cas, le précipité est ensuite lavé avec une solution d'alcool éthylique à 70 °C pour se débarrasser des traces éventuelles de sels ou d'isopropanol, puis séché et resuspendu dans une solution d'hydratation .

Finalement, un tampon est rajoutée à la pelote et une agitation est réalisée à 37°C jusqu'à dissolution complète(Bienvenu, 1999).

## **2.5. Méthodes d'extraction de l'ADN**

### **2.5.1. Méthodes utilisant des solvants organiques**

#### **A. Méthode au phénol-chloroforme**

Dans cette méthode dite « de référence », le principe consiste à traiter le lysat cellulaire dans un premier temps par du phénol volume à volume, puis, après centrifugation la phase phénolique est éliminée. Un mélange chloroforme-alcool isoamyliqueest ensuite utilisé, il a notamment pour objectif d'éliminer les traces éventuelles de phénol qui auraient pu être emportées avec la phase aqueuse et qui sont fortement inhibitrices des réactions enzymatiques.



Le phénol est un puissant agent déprotéinisant dans lequel les acides nucléiques ne sont pas solubles( Bienvenu, 1999).

### **B. Méthode au chlorure de guanidium**

Le principe consiste à traiter le lysat cellulaire obtenu par une solution d'un agent chaotropique, le chlorure de guanidium, puis par une solution détergente et déprotéinisante (Acétate d'amonium, sarkosyle et protéinase K)( Bienvenu, 1999)

#### **2.5.2. Méthodes utilisant des solvants non organiques**

Dans ces méthodes, le principe consiste à traiter uniquement le lysat cellulaire par une solution saline, dont l'objectif est d'éliminer par précipitation sélective les protéines. En fonction des protocoles, des étapes de prétraitement par la RNase sont proposées. Différentes solutions salines ont été préconisées : par exemple, le NaCl. (Bienvenu 1999).

#### **2.5.3. Méthodes basées sur l'utilisation de colonnes résines échangeuses d'ions**

Ces méthodes d'extraction et de purification des acides nucléiques sont basées sur la propriété qu'ont les particules de silice d'adsorber sélectivement les acides nucléiques. Les solutions de lavage permettent de se débarrasser des contaminants tels que l'hémoglobine, les protéines plasmatiques ou les ions  $Fe^{2+}$ (Bienvenu 1999).

#### **2.5.4. Méthodes de Kits**

Les kits industriels utilisés dans un laboratoire de biologie moléculaire pour l'extraction de l'ADN sont des collections qui rassemblent des réactifs et des tampons standardisés prêts à l'emploi permettant de réaliser une meilleure extraction et purification de l'ADN de façon rapide.

Chaque fabricant, de ces kits commercialisés, offre une série d'avantages représentés par : l'efficacité, la rapidité, la sécurité et le cout. Mais l'obtention d'un ADN purifié des contaminants et d'inhibiteurs d'enzyme utilisé pour les applications courantes de biologie moléculaire (digestion enzymatique ; PCR ; marquage...) reste le critère le plus demandé.

Chaque fabricant assure que les kits soient accompagnés d'un protocole qui lui est propre. (Brown, 2010).

Les kits trouvés aujourd'hui sur le marché sont spécifiques à l'espèce ou au type de l'organisme étudié (procaryote, eucaryote, etc.), au type de source de l'ADN (plantes, sang, tissus, fèces, etc.), au type d'acide nucléique qu'on veut extraire (ARN, ADN génomique, ADN mitochondrial...) et à la méthode d'extraction (kits manuels et kits pour les extracteurs automatiques qui contiennent juste les tampons de lyse, d'élution...).(Nouairia, 2013)

## **2.6. Evaluation de la quantité et de la qualité de l'ADN extrait**

### **2.6.1. Dosage de l'ADN**

La propriété d'absorption de la lumière ultraviolette par les noyaux purines et pyrimidines des acides nucléiques permet de les doser et d'estimer leur concentration (Somma, 2007).

La concentration des ADN extraits est estimée par la mesure spectrophotométrique de l'absorbance à 260nm. Sachant qu'une unité de densité optique (DO) à 260nm est équivalente à 50 µg /ml d'ADN, la quantité d'ADN d'un échantillon est évaluée par la formule:

$$[C]_{\text{ADN}} = \text{Facteur de dilution} \times 50\mu\text{g/ml} \times \text{DO}_{260}$$

### **2.6.2. Estimation de la pureté de l'ADN**

#### **2.6.2.1. Rapport de densité optique**

L'absorption de la lumière UV par les acides nucléiques permet aussi d'estimer la qualité de l'ADN, sa pureté ou sa contamination par les protéines ou par les ARNs, et cela par la mesure du rapport  $\text{DO}_{260}/\text{DO}_{280}$ . Un ADN considéré suffisamment de bonne qualité, présente un rapport compris entre 1,6 et 2.

Si R est inférieur à 1.6 il existe une contamination par les protéines qui ont grand pouvoir d'absorption à 280nm.

Si R est supérieur à 2 il existe une contamination par l'ARN : une contamination par les ARN se traduit par une augmentation du rapport à cause de l'effet hyperchrome les ARN simple brin (Somma, 2007)

### 2.6.2.2. Migration électrophorétique

L'électrophorèse sur gel est une technique d'analyse et de séparation des molécules selon leur charge électrique et leur taille. Le principe consiste à soumettre les molécules chargées positivement ou négativement à un champ électrique qui entrain leur migration vers les pôles opposés. Les molécules de plus petites tailles se déplacent plus rapidement et migreront plus loin que les molécules de tailles supérieures.

Les fragments d'ADN sont facilement détectés sur le gel grâce à un colorant fluorescent, le bromure d'éthidium (BET), agent intercalant, se fixe à la double hélice d'ADN, cette émet un rayonnement lumineux suite à une irradiation par les UV (Boutaghane, 2019)

L'électrophorèse sur gel d'agarose est fréquemment utilisée en biochimie et en biologie moléculaire, soit à

- ✓ des fins analytiques pour séparer, identifier des fragments d'ADN ou pour en estimer la quantité.
- ✓ des fins préparatoires, pour purifier l'ADN et estimer sa qualité. En effet, pour certains échantillons comportant de nombreuses impuretés, une étape de purification est nécessaire. L'électrophorèse permet de séparer selon leur vitesse de migration les contaminants de l'ADN natif. L'utilisation d'agarose »LowMelting Point » permet d'extraire facilement l'ADN du gel en faisant fondre ce dernier à une température de l'ordre de 30 à 40°C

### 2.5.2.3. Chromatographie

Différentes méthodes chromatographiques sont utilisées pour purifier les échantillons d'ADN extrait. Nous citons comme exemple :

La chromatographie par adsorption, les acides nucléiques sont fixés sélectivement par adsorption sur des silices ou du verre en présence de certains sels (ex. : des sels chaotropique),

alors que d'autres molécules biologiques ne se fixent pas. Un tampon ou une eau faible en sels peut ensuite éluier les acides nucléiques et produire ainsi un échantillon à utiliser directement dans des applications en aval .

La chromatographie par échange d'ions est une autre technique qui a recours à l'interaction électrostatique entre une molécule cible et un groupe fonctionnel sur la matrice à colonne. Les acides nucléiques (polyanions linéaires à forte charge négative) peuvent être élués des colonnes d'échange d'ions grâce à de simples tampons de sel (Somma, 2007).

# *Partie Expérimentale*

## Chapitre 01. Matériel et méthodes

### 1.4. Durée, zone et population d'étude

Afin de répondre à nos objectifs, à savoir la caractérisation phénotypique de quelques troupeaux camelins dans la région d'Ouargla, et extraction du matériel génétique, nous avons effectué une étude d'une durée de trois mois. 45 dromadaires dont 41 femelles et 04 mâles ont été sujets du présent travail, ils sont âgés entre 5 et 15 ans. Ils ont été choisis parmi sept troupeaux, répartis sur trois régions de la wilaya d'Ouargla. Trois troupeaux à Bennacer (BN), deux à Beldet Amor (BA) et deux troupeaux à Hassi Ben Abd Allah (HB).

#### A. Critères de choix des animaux pour la caractérisation phénotypique

- ✓ **Accessibilité** : avec l'accompagnement du vétérinaire nous avons choisi les troupeaux à accès facile et simple.
- ✓ **Age**: les mesures morphométriques ont été faites sur des animaux adultes de catégorie d'âge de 5 à 10 ans, ayant atteint leur maturité anatomique, et cela pour éviter les fausses estimations dues à l'introduction d'animaux jeunes ou vieux.
- ✓ **Sexe** : choisir des animaux des deux sexes mâle et femelle
- ✓ **Santé**: choisir les animaux apparemment sains et en bonne santé.
- ✓ **Représentativité et conformation optimale** : choisir les animaux à caractères représentatifs. Les sujets nains, cachexiques, mal formés et engraisés sont à écarter.

#### B. Critères de choix des animaux pour la l'extraction du matériel génétique

Parmi les animaux choisis pour les mensurations et la caractérisation phénotypique, une seconde sélection a été faite, afin de réaliser des prélèvements de sang destinés à l'extraction de l'ADN. Elle consiste en le choix :

- ✓ **Consanguinité** : des sujets les plus non apparentés possibles
- ✓ **Etat de l'animal** : des sujets calmes, car le stress affecte la qualité du sang prélevé par la survenue des phénomènes d'hémolyse.
- ✓ **Standards** : les animaux les plus représentatifs.

Le tableau ci-dessous récapitule les informations concernant les troupeaux étudiés et les animaux choisis:

**Tableau 01** :Composition des troupeaux et animaux d'étude.

Troupeau	Nombre total	Adultes	Males	Femelles	Nombre choisi pour phénotypage	Nombre choisi pour prélèvement
BN01	14	11	0	11	06	03
BN02	16	12	2	10	06	03
BN03	44	32	1	31	06	04
HB04	33	25	1	24	06	00
BA05	44	30	3	27	09	07
BA06	48	38	3	35	06	03
HB07	13	10	1	9	06	00

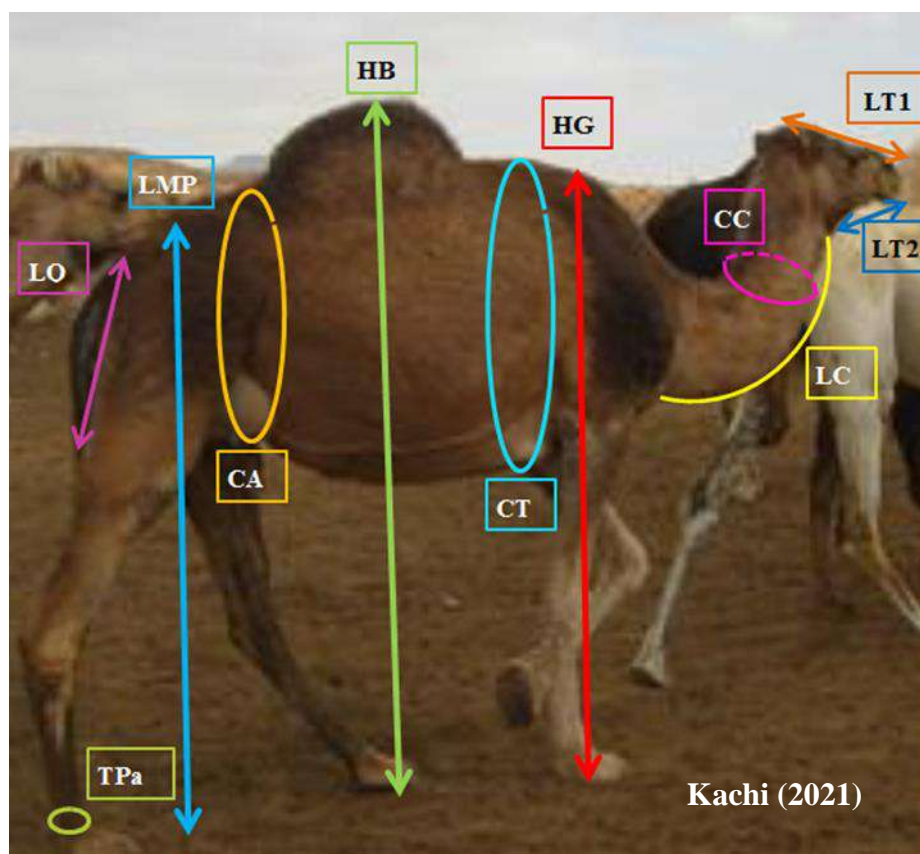
-L'analyse des mensurations a concerné les femelles car le nombre de males est très limité.

-L'extraction de l'ADN a été effectuée au niveau du « laboratoire de biologie et de génétique moléculaire » au niveau du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine. Elle a concerné 13 échantillons.

### 1.5. Recueil de données, enquête et questionnaire

L'étude sur terrain a consisté en un enregistrement des renseignements auprès des éleveurs par le biais d'un questionnaire, suivi des observations et de la prise des mesures morpho-métriques.

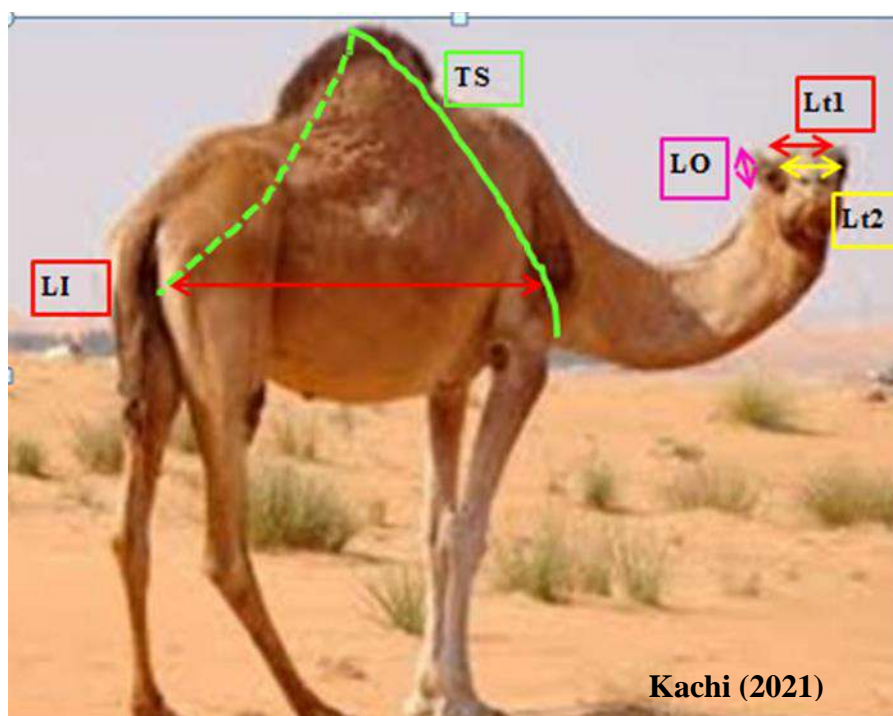
- Le questionnaire nous a permis d'avoir des informations sur l'éleveur, le mode d'élevage, la conduite du troupeau, la population ou la race dont il appartient l'animal. Ainsi que des données sur la conduite de la reproduction, la conduite de l'alimentation et les productions (**Annexe 01**).
- Les mesures morpho-métriques ont porté sur 20 mensurations illustrées sur les figures ci-dessous (**Figure 07, 08 et 09**)



**Figure 07** : les mensurations corporelles prises sur l'animal(profil 1)

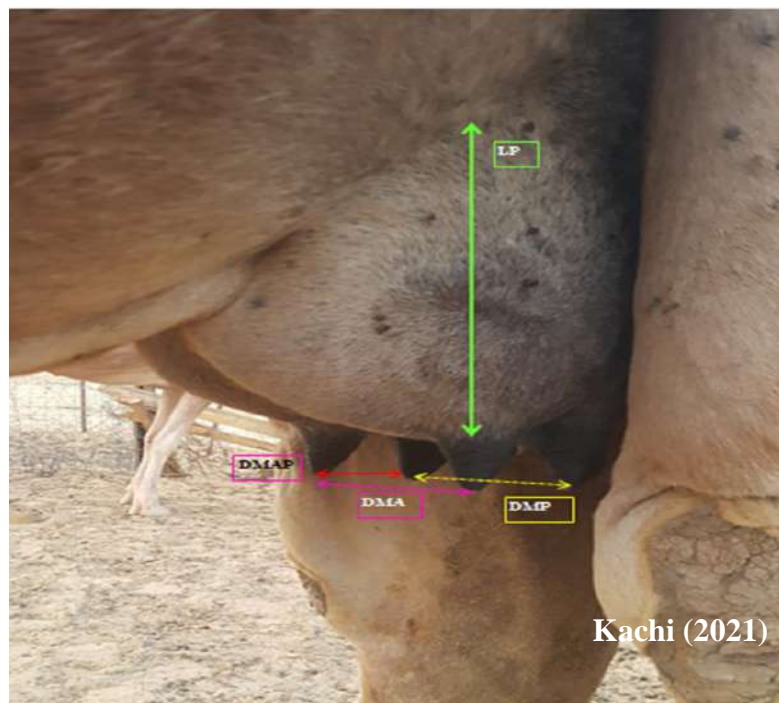
Le tour abdominal (TA) ;Le tour de poitrine (TP) ; La hauteur au garrot (HG) ; Longueur de membre postérieure (LMP) ; La longueur de la tête au-dessus(LT1) ; La longueur de la tête au-dessous (LT2) ; La longueur du cou (LC) ; La circonférence du cou (CC) ; La hauteur à la bosse (HB) ; La longueur de la queue (LQ) ; Le tour paturon (Tpa) .





**Figure 08:** les mensurations corporelles prises sur l'animal (profil 2)

Le tour spiral (TS) ; Longueur de corps (LI) ; Longueur des oreilles (LO) ; Distance entre les oreilles (Lt1) ; Distance entre les yeux (Lt2).



**Figure 09 :** les mensurations corporelles prises sur l'animal (profil 3)

Longueur de pie (LP) ; Distance entre mamelons antérieures (DMA) ; Distance entre mamelons postérieures (DMP) ; Distance entre mamelons antérieures et postérieures (DMAP).

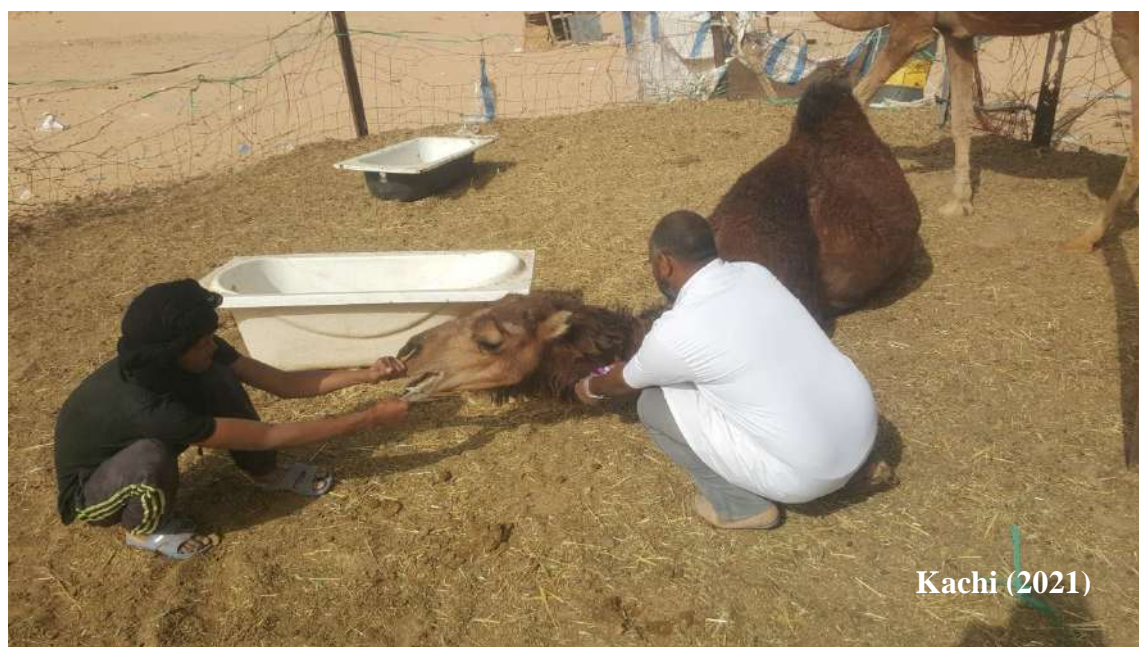
### 1.3. Prélèvements sanguins

#### 1.3.1. Acte de prélèvement

Le dromadaire est un animal plus ou moins agressif en comparaison avec les autres ruminants. Afin d'effectuer une prise de sang, une contention de l'animal est nécessaire. L'animal est mis en position baraqué et le cou tendu tiré vers l'avant pour avoir une stase veineuse le long de cou et surtout la partie proximal. Cela facilite à l'opérateur de prélever le sang au niveau de la veine jugulaire du dromadaire (**Figure10**).

La prise sanguine a été faite à l'aide des aiguilles stériles fines et moins traumatisantes placées sur une porte aiguille. Des tubes stériles sous vide, avec bouchons en caoutchouc, contenant l'acide éthylène diamine-tétra-acétique (EDTA), un anti-coagulant permettant la conservation des acides nucléiques du sang pour une longue durée, ont été utilisés.

Pour prélever l'échantillon on insère l'aiguille dans la veine jugulaire de l'animal, l'écoulement du sang commence, immédiatement en pousse le tube vers l'aiguille pour aspirer le sang dans des conditions d'étanchéité, pour éviter toute sorte de contamination de l'échantillon. Une fois le tube est rempli, il est étiqueté afin de lui associé un code.



**Figure10** : Acte de prélèvement sanguin.

### 1.3.2. Conservation du sang

Les prélèvements sanguins ont été conservés immédiatement dans une glacière puis acheminés au laboratoire pour être congelés à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'à l'étape d'extraction de l'ADN.

## 1.4. Extraction de l'ADN génomique

Le principe consiste dans un premier temps à détruire les hématies et isoler les globules blancs contenant l'ADN, puis dans un second temps, à une lyse cellulaire de ces derniers par l'effet des détergents et de la protéinase K, afin de récupérer l'ADN. Différentes méthodes d'extraction peuvent être utilisées, nous avons, dans le présent travail, utilisé une méthode chimique au « NaCl » et une autre organique consistant en la méthode au « chlorure de Guanidium ».

### 1.4.1. Extraction d'ADN par la méthode au NaCl

#### 1.4.1.1. Principe

Les leucocytes sont séparés du sang total par une lyse hypotonique des globules rouges. Elles sont ensuite traitées par un détergent (SDS) et une protéinase K afin de dégrader les membranes et les protéines. L'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associées sont éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol puis solubilisé en phase aqueuse.

#### 1.4.1.2. Protocole d'extraction

##### a. Lyse des globules rouges et préparation des leucocytes

1. Dans un tube flacon de 50 ml mettre le sang et compléter le volume avec le Tris-EDTA (TE 20:5), laisser 10 mn dans la glace ;
2. Centrifuger 10 mn à 3900 g (3800rpm);
3. Verser le surnageant;
4. Ajouter quelque ml de TE 20:5 au culot et le remettre en suspension puis compléter à 25ml avec du TE 20:5 et laisser 10 mn dans la glace.
5. Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois;

6. Répéter les étapes jusqu'à l'obtention d'un culot leucocytaire clair
6. Verser le surnageant, Transvaser le culot dans un tube flacon de 15ml (le culot des leucocytes obtenu peut être conservé à -20°C dans du TE 10 :1 ou utilisé immédiatement pour la prochaine étape).

### **b.Lyse des leucocytes et précipitation des protéines**

1. Ajouter 3ml de tampon de lyse (NaCl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH8,2) en dilacérant le culot avec une pastette stérile;
2. Ajouter 200µl de SDS à 10% ;
3. Ajouter 100µl de protéinase K à 10 mg/l ;
4. Agiter le tube sur une roue à 37° pendant une nuit;
5. Le lendemain, refroidir dans la glace; Ajouter 1 ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main, puis remettre 5 mn dans la glace (précipitation des protéines) ;
6. Centrifuger 15 mn à 2500 rpm et récupérer le surnageant.

### **c.Précipitation de l'ADN à l'éthanol**

1. Mettre le surnageant dans un tube flacon de 15 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme (laisser éventuellement 30 mn à moins 20 ° si la pelote ne forme pas);
2. Récupérer la pelote d'ADN avec pipette pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70% ;
3. Mettre la pelote dans un tube nunc.

### **d.Solubilisation**

Ajouter entre 300µl de TE 10:1 à la pelote, laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jours).

## 1.4.2. Extraction d'ADN par la méthode à la Guanidine

### 1.4.2.1. Principe

Le principe consiste à traiter le lysat cellulaire obtenu après action de la solution de lyse des globules rouges par une solution d'un agent chaotropique, le chlorure de guanidium, puis par une solution détergente sarkosyle et déprotéinisante protéinase K. Cela a pour effet de libérer l'ADN nucléaire dans le milieu et de digérer les protéines qui lui sont associées. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol puis solubilisé en phase aqueuse.

### 1.4.2.2. Protocole d'extraction

#### a. Lyse des globules rouges et préparation des leucocytes

1. Dans un tube flacon de 50 ml mettre 10ml de sangtotal et compléter le volume avec du TE 20:5, laisser 10 mn dans la glace ;
2. Centrifuger 10 mn à 3900 g (3800rpm) puis verser le surnageant ;
3. Ajouter quelques ml de TE 20:5 et remettre le culot en suspension avec une pastette stérile ; laisser 10 mn dans la glace ;
5. Centrifuger dans les mêmes conditions et verser le surnageant (Le culot de leucocytes peut être conservé à moins 20 °c en présence du TE 20:5 ou utiliser immédiatement pour la prochaine étape).

#### b. Lyse des leucocytes et précipitation des protéines

1. Par petites quantités ajouter 14ml de guanidine en dilacérant le culot soigneusement avec une pastette stérile ;
2. Ajouter 1 ml d'acétate d'ammonium, homogénéiser, pour précipiter les protéines et autres contaminants à partir de lysat cellulaire.
3. Ajouter 1 ml de sarkosyl et 150µl de protéinase K à 10 mg/l
4. Agiter le tube sur une roue à 37° pendant une nuit;
5. Le lendemain, refroidir dans la glace pendant 10min.

#### c. Précipitation de l'ADN à l'éthanol

1. Compléter à 50 ml avec l'éthanol absolu.



2. Laisser éventuellement 30 mn à moins 20°C.
3. Recueillir la pelote d'ADN, la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70% (**Figure 11**)

#### d. Solubilisation

L'ADN est solubilisé dans le TE 10:1, laissé une nuit sur agitateur rotatif à température ambiante puis quelques jours à 4°C.



**Figure 11** : Pelote de l'ADN

#### 1.5. Conservation de l'ADN:

La pelote d'ADN peut être stockée à moins 20°C jusqu'à utilisation.

Notons que parmi les 13 échantillons de sang prélevés 4 échantillons ont été utilisés pour l'extraction de l'ADN par les deux méthodes au « NaCl » et au « chlorure de guanidium » et pour les 9 restant, l'ADN a été extrait par la méthode au « NaCl ». Ceci est dû à la quantité limitée de réactifs disponibles pour la technique organique.

#### 1.6. Estimation de la quantité et de la qualité de l'ADN

En biologie moléculaire, la quantification des acides nucléiques et l'estimation de leur pureté jouent un rôle primordial, car les techniques de génotypage nécessitent de l'ADN de bonne quantité et de très bonne qualité.

##### 1.6.1. Spectrophotométrie

###### 1.6.1.1. Principe

Un spectrophotomètre utilise la transmission de la lumière à travers une solution pour déterminer la concentration d'un soluté à l'intérieur de la solution. L'appareil fonctionne suivant

un principe simple, la lumière d'une longueur d'onde connue traverse un échantillon et où la quantité d'énergie lumineuse transmise est mesurée à l'aide d'une cellule photoélectrique placée de l'autre côté de l'échantillon.

Toutes les molécules absorbent de l'énergie radiante à une longueur d'onde spécifique à partir de laquelle il est possible d'extrapoler la concentration d'un soluté à l'intérieur d'une solution. Selon la loi de Beer-Lambert, il existe une relation linéaire entre l'absorption A (DO) et la concentration de la macromolécule qui est donnée.

La concentration des ADN extraits est estimée par la mesure de l'absorbance (DO) à 260nm. Une mesure de DO à 280nm est également effectuée afin d'évaluer le rapport DO 260/DO 280 et estimer, éventuellement, la qualité de l'ADN.

#### 1.6.1.2. Spectrophotométrie par NanoDrop 2000c

Le NanoDrop 2000c, utilisé dans notre cas, est doté d'un logiciel qui permet de mesurer la densité optique à 260nm, à 280nm ainsi que le rapport  $A_{260nm}/A_{280nm}$ (**Figure12**).

Le système de mesure par NanoDrop 2000c présente plusieurs spécificités :

- ✓ Taille de l'échantillon en micro-volume
- ✓ Facile à utiliser : pipette l'échantillon directement sur le socle
- ✓ Aucune dilution requise, même pour les échantillons très concentrés
- ✓ Temps de mesure rapide de moins de 5 secondes
- ✓ Sortie spectrale complète (190 - 840 nm)
- ✓ Méthodes préconfigurées pour A260, A280, ADN ou protéines marqués, plus un logiciel qui inclut des méthodes personnalisées et des capacités d'exportation de données

#### 1.6.1.3. Protocole expérimental

Ce système permet de pipeter un échantillon directement sur une surface de mesure optique. Une fois la mesure terminée, les surfaces sont simplement essuyées avec une lingette de laboratoire non pelucheuse. Le NanoDrop 2000c intègre le système de rétention d'échantillon avec une capacité de cuvette.

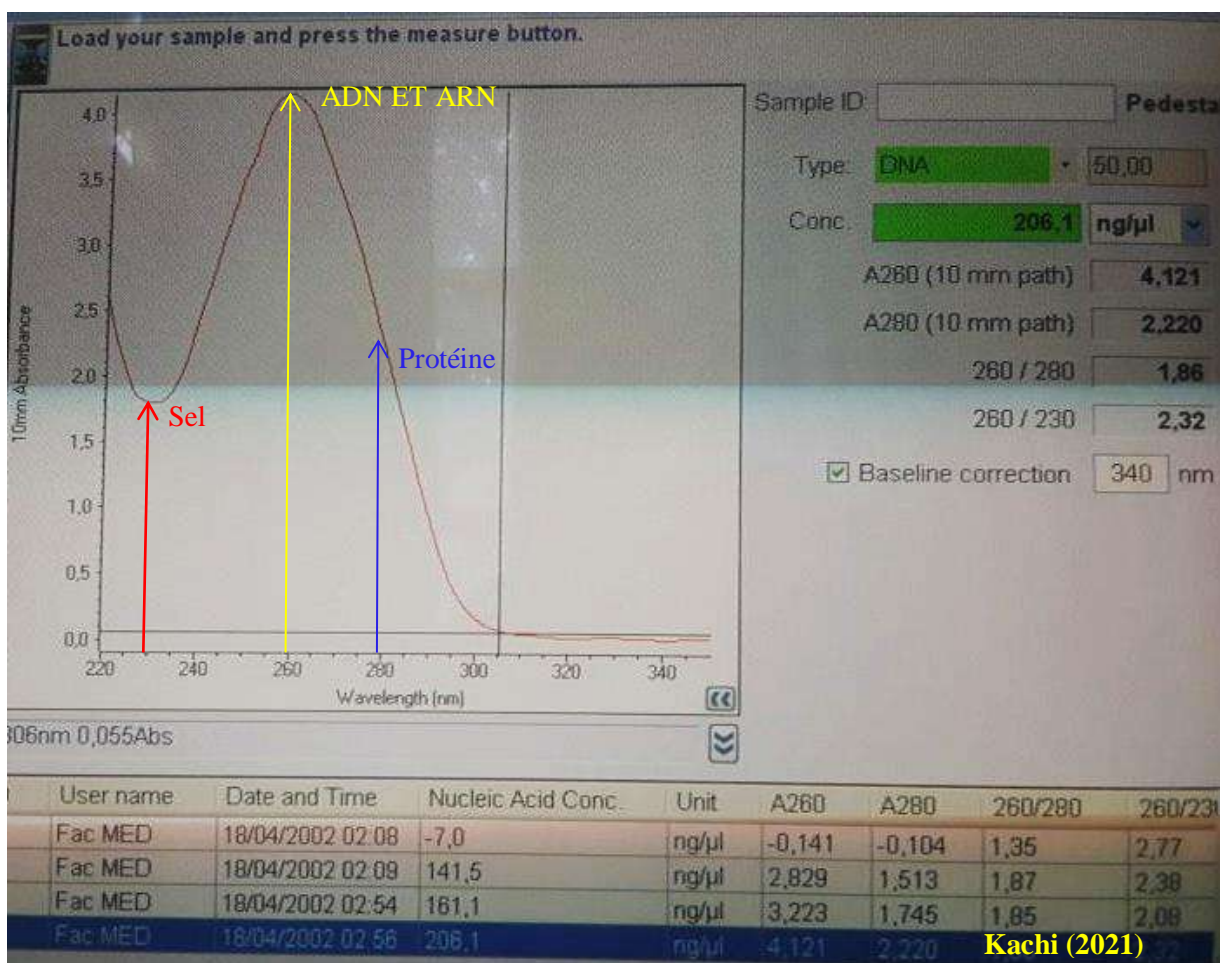


**Figure12 :** NanoDrop 2000c (laboratoire de biologie et génétique moléculaire CHU Constantine)

#### 1.6.1.4. Interprétation

Sur l'écran s'affichent les valeurs de la densité optique à 260nm, à 280nm ainsi que le rapport  $A_{260nm}/A_{280nm}$ , qui sont, également interprétés par un graphe. La concentration de l'ADN est déterminée par la DO à 260nm en utilisant la formule décrite dans la revue bibliographique. La pureté ou bien une éventuelle contamination de l'échantillon est rapportée par le rapport (**Figure13**)





**Figure 13** : Interface du logiciel NanoDrop

## 1.6.2. Electrophorèse

### 1.6.2.1.Principe

C'est une technique de séparation des molécules chargées en fonction de leur taille, l'application d'un champ électrique pour les molécules d'ADN chargés négativement va les faire migrer vers le pôle positif de la cuve. Les fragments vont se déplacer dans l'épaisseur d'un support, un gel d'agarose, dont la maille est assez régulière et adaptée à la taille des fragments à séparer. La lecture d'un électrophorégramme nécessite une coloration et une révélation.

### 1.6.2.2. Protocole expérimental

#### a.Préparation d'un gel agarose à 0.8 %

1. C'est un pourcentage massique pour un volume donné, dans notre cas, mettre 0,8 g de poudre d'agarose pour un volume de 100 ml de Tris/Borate/EDTA (TBE )10X ;

2. Faire bouillir au micro-onde de sorte à dissoudre totalement l'agarose ; Ajouter 10µl de bromure d'éthidium (BET) et homogénéiser. Le BET est un agent intercalant dans la double hélice d'ADN, permettant sa visualisation par exposition du gel aux rayonnements UV ;
3. Verser le gel dans la plaque de l'électrophorèse ;
4. Insérez un ou plusieurs peignes en les plaçant dans les fentes du socle de coulage. Pour des résultats optimaux, placez le peigne dans la fente la plus proche de l'extrémité du dispositif de coulage. Si deux peignes sont souhaités, placez le second dans la fente centrale.
5. Attendre 30 minutes à température ambiante la solidification du gel ;
6. Une fois le gel solidifié et complètement opaque, retirez le peigne avec précaution en le remuant délicatement tout en le soulevant (**Figure 14**).

#### **b. Chargement des échantillons sur le gel**

1. Retirer le plateau de coulage contenant le gel d'agarose durci du dispositif de coulage en soulevant les extrémités. Placer le plateau et le gel dans l'unité principale de manière à ce que les puits d'échantillon se trouvent sur la même extrémité que l'électrode négative (noire) ;
2. Remplissez l'unité avec le reste du tampon d'électrophorèse (TBE 1X), recouvrant le gel à une profondeur de 1-5 mm. Environ 300 ml de tampon seront requis ;
3. Mélanger le bleu de bromophénol colorant de charge, permettant de suivre le front de migration sur un gel d'agarose durant l'électrophorèse et l'échantillon d'ADN sur le morceau de parafilm et prélever le mélange avec une micropipette réglée sur le volume approprié ;
4. Charger les échantillons dans les puits avec une micropipette

#### **c. Migration électrophorétique et visualisation**

1. Une fois les échantillons chargés dans le gel, placer le couvercle sur l'unité et brancher les extrémités des électrodes noire (-) et rouge (+) dans les fiches sur le côté du bloc d'alimentation (la tension de sortie requise jusqu'à 40 à 50 volts) ;
2. Par exposition du gel, après migration, à une lumière UV à ondes moyennes, les bandes séparées apparaîtront orange sur fond violet foncé (**Figure 15**).

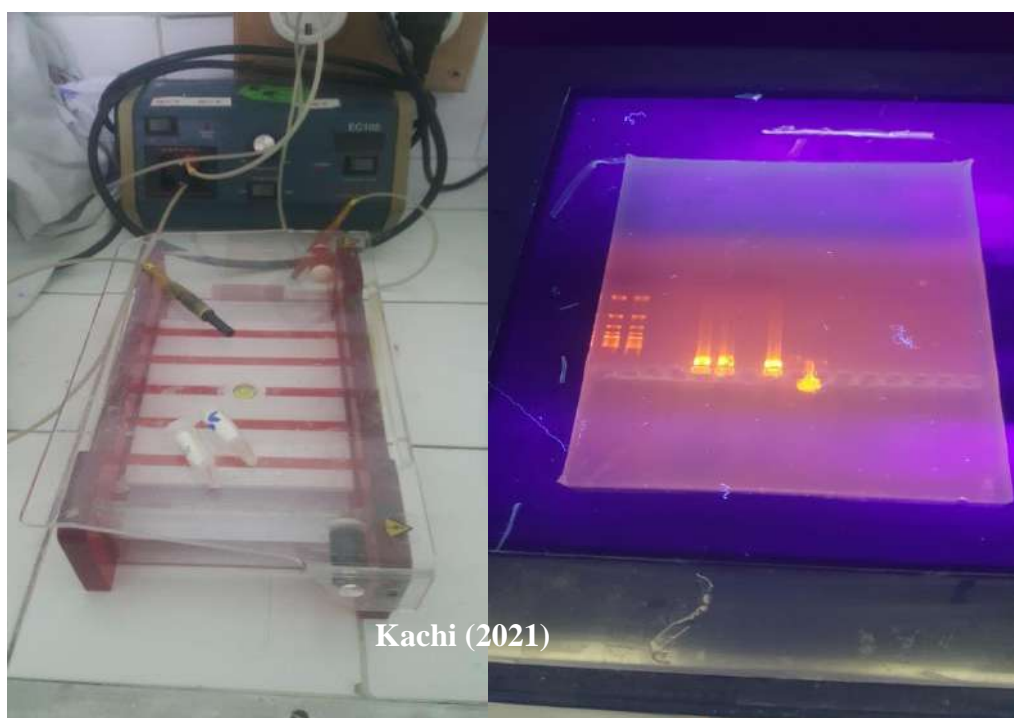
**d. Interprétation des profils**

Sur le gel on observe la migration et le profil du marqueur de taille qui correspondent à des fragments d'ADN de taille connue (Pb d'ADN).

- La taille des échantillons d'ADN étudiés est estimée par comparaison au profil du marqueur de taille.
- L'intensité des bandes est proportionnelle à la quantité d'ADN
- L'aspect des bandes reflète la présence ou non de contamination ou de fragmentations des molécules d'ADN(**Figure 16**)



**Figure 14** : préparation d'un gel d'agarose à 0.8%



**Figure15** : Cuve d'Electrophorèse **Figure 16**:visualisation des bandes d'échantillon d'ADN

### 1.7. Analyses statistiques:

Les données collectées lors du travail sur terrain, ont été enregistrées dans un fichier Excel, puis analysées par le logiciel statistique « XLSTAT ».

Nous avons effectuées des tests paramétriques pour les mensurations corporelles, des corrélations entre les variables, des analyses multivariées, Analyse en Composantes Principales ACP et classification Ascendante Hiérarchique - CAH

L'ACP est l'une des méthodes d'analyse de données multi-variées les plus utilisées. Elle permet d'explorer des jeux de données multidimensionnels constitués de variables quantitatives.

La CAH permet de rassembler les observations ou les modalités d'une variable qualitative selon un critère de ressemblance défini au préalable. Les observations les plus "ressemblantes" seront ainsi réunies dans des groupes homogènes, lesquels se rassembleront plus ou moins rapidement en fonction de leurs ressemblances. La notion de "ressemblance" entre observations est évaluée par la distance entre les points : distance euclidienne dans le cas d'observations issues d'un tableau de mesures ou distance du Chi<sup>2</sup> dans le cas des modalités d'une variable qualitative issues d'un tableau de contingence.

La classification est ascendante car elle part des observations individuelles ; elle est hiérarchique car elle produit des classes ou groupes de plus en plus vastes, incluant des sous-groupes en leur sein.

---

## Chapitre02. Résultats et Discussion

### 1. Enquête sur terrain

Les informations recueillies lors de l'enquête nous ont permis de noter que :

L'élevage, dans la majorité des cas, est une pratique ancestrale transféré de père en fils, sauf pour un cas qui a concerné un micro-investissement. La plus part des éleveurs deviennent des Sédentaires vu les changements des conditions et de la vie socio-économique.

La race sahraoui est la race de choix pour la totalité des éleveurs enquêtés, car elle s'adapte bien aux conditions de la région et peut assurer une production mixte.

Les troupeaux sont de petite et de moyenne taille, de dix à quarante têtes, composé principalement par des chamelles de différents âges, des chamelons et dans certains troupeaux d'un géniteur. Ils sont conduits par un système d'élevage extensif, et un mode entre le gardé et semi gardé.

Les chamelles donnent naissance à deux chamelons tous les trois ans durant les années favorables.

Les éleveurs complètent l'alimentation des animaux par l'orge, le son, le foin, la paille, la luzerne, le blé tendre et le pain séché, car les parcours sont insuffisants à cause de la rareté des pluies ces dernières années.

Généralement, il n'y a pas de contrôle sanitaire à l'exception des campagnes organisés par l'état lors des épidémies ou de recensement.

Les animaux est le trésor des éleveursqu'ilsconserventet profitent de ses produits : la viande, le lait et l'obère.

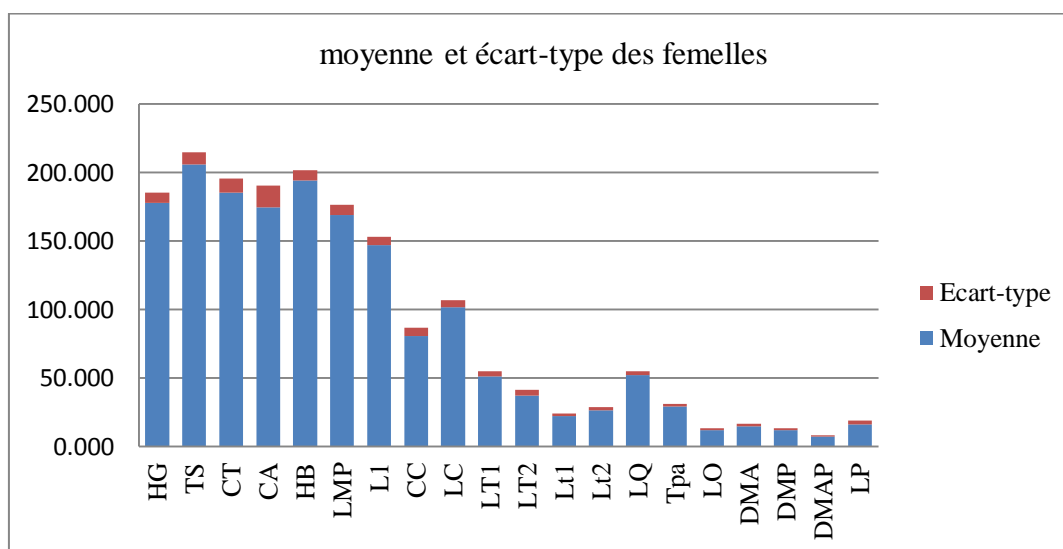
### 2. Etude phénotypique

#### 2.1. Les valeurs de mensuration corporelles

Les valeurs de mensuration corporelles (en cm) ont donné les moyennes suivantes : 177.63±7.39 pour HG, 205.95±8.84 pour TS, 185±10.64 pour CT, 174.51±16.03pour CA, 194.14±7.34 pour HB, 169±7.48 pour LMP, 146.82±5.95pour L1 et 101.73±4.77 pour LC (**Figure 17**). Les écarts-type sont généralement faibles moins de 08 cm, comme nous le constatons par exemple pour la hauteur au garrot (HG), la hauteur à la bosse (HB), la longueur des membres postérieurs

(LMP)...(**Figure 17**). D'après les mesures obtenues, les animaux des troupeaux étudiés apparaissent homogènes, selon leurs tailles, ils sont considérés comme des animaux hauts sur pattes.

Les valeurs de mensuration pour chaque animal ainsi que les statistiques descriptives détaillées sont présentés en annexes 02 et 03, respectivement.



**Figure 17: Moyenne et écart-type des différentes mensurations chez les femelles.**

Nous résultats des mensurations pour HG, CT, LC, LT1, LQ et Tpa sont similaires à ceux enregistrés par Chouia(2010) et Meghelli et Kaouadji(2016) pour la race sahraoui (**Figure 18**). Les valeurs de TS, CA et HB montrent une légère élévation dans l'étude de Chouia (2010) par rapport aux nôtres, et peut être expliquée par la différence du stade physiologique de la chamelle, son état de soif ou de satiété et aussi selon les années (favorable ou défavorable). Notons que les valeurs enregistrées par (Oulad belkhir, 2018) sont dans la majorité des mesures supérieures, car les échantillons de cette étude sont choisis avec précision, représentant les standards de la race sahraoui.

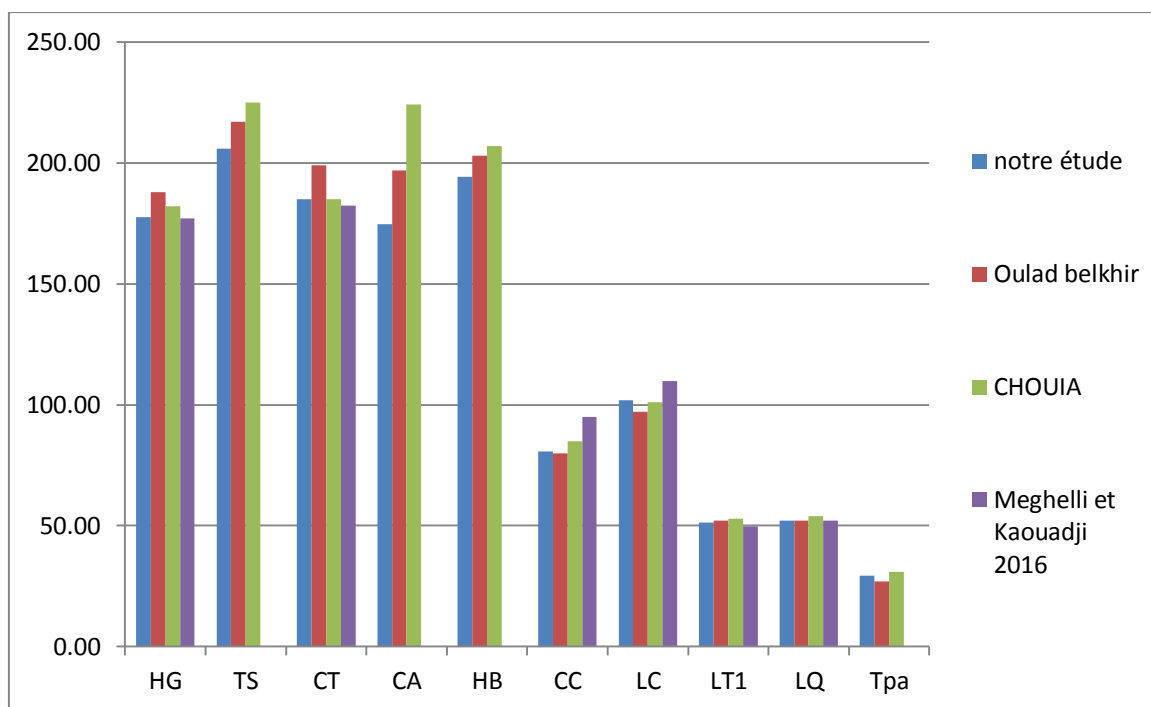


Figure 18: Moyenne des différentes mensurations chez les femelles sahraouies.

## 2.2. Analyse en composantes principales (ACP)

Le tableau 02 montre les coefficients de corrélation entre les différentes mensurations chez les chamelles.

Tableau 02: Corrélations des mensurations

Variables	HG	TS	CT	CA	HB	LMP	L1	CC	LC	LT1	LT2	Lt1	Lt2	LQ	Tpa	LO	DMA	DMP	DMAP	LP
HG	1,00	0,51	-0,03	0,20	0,57	0,77	0,26	0,29	0,13	0,30	0,28	-0,03	-0,04	0,08	-0,11	0,22	0,04	-0,05	0,17	0,08
TS	0,51	1,00	0,31	-0,04	0,64	0,45	0,23	0,08	0,20	0,07	-0,17	-0,10	0,09	0,14	-0,17	0,23	0,08	-0,04	0,20	-0,13
CT	-0,03	0,31	1,00	-0,22	0,26	-0,16	-0,04	0,02	0,50	-0,17	-0,25	0,36	0,08	0,34	0,00	0,28	0,14	0,24	-0,02	-0,04
CA	0,20	-0,04	-0,22	1,00	0,00	0,21	0,34	-0,06	-0,06	0,18	0,22	0,20	0,37	-0,04	0,05	0,35	0,14	0,13	0,31	0,40
HB	0,57	0,64	0,26	0,00	1,00	0,48	0,34	0,35	0,37	0,25	-0,02	-0,10	-0,02	0,25	-0,20	0,44	-0,07	-0,04	0,19	-0,05
LMP	0,77	0,45	-0,16	0,21	0,48	1,00	0,04	0,44	-0,05	0,48	0,15	-0,24	-0,13	0,02	-0,24	0,21	-0,09	-0,09	0,15	-0,04
L1	0,26	0,23	-0,04	0,34	0,34	0,04	1,00	0,04	0,42	0,27	0,25	0,03	0,58	0,14	0,00	0,38	-0,07	-0,06	0,23	0,24
CC	0,29	0,08	0,02	-0,06	0,35	0,44	0,04	1,00	0,12	0,45	0,24	-0,01	0,01	-0,13	0,06	0,33	-0,13	-0,08	-0,23	-0,19
LC	0,13	0,20	0,50	-0,06	0,37	-0,05	0,42	0,12	1,00	0,00	0,14	0,32	0,41	0,09	0,25	0,37	0,09	0,17	0,04	0,12
LT1	0,30	0,07	-0,17	0,18	0,25	0,48	0,27	0,45	0,00	1,00	0,52	0,06	0,23	0,13	-0,09	0,46	-0,25	-0,13	0,10	-0,06
LT2	0,28	-0,17	-0,25	0,22	-0,02	0,15	0,25	0,24	0,14	0,52	1,00	0,23	0,29	-0,17	0,25	0,23	-0,05	0,02	0,16	0,18
Lt1	-0,03	-0,10	0,36	0,20	-0,10	-0,24	0,03	-0,01	0,32	0,06	0,23	1,00	0,27	-0,09	0,41	0,19	0,23	0,31	0,07	0,16
Lt2	-0,04	0,09	0,08	0,37	-0,02	-0,13	0,58	0,01	0,41	0,23	0,29	0,27	1,00	-0,27	0,12	0,44	0,12	0,02	0,20	0,28
LQ	0,08	0,14	0,34	-0,04	0,25	0,02	0,14	-0,13	0,09	0,13	-0,17	-0,09	-0,27	1,00	-0,07	0,13	0,02	0,13	0,11	0,15
Tpa	-0,11	-0,17	0,00	0,05	-0,20	-0,24	0,00	0,06	0,25	-0,09	0,25	0,41	0,12	-0,07	1,00	0,01	0,70	0,62	0,29	0,49
LO	0,22	0,23	0,28	0,35	0,44	0,21	0,38	0,33	0,37	0,46	0,23	0,19	0,44	0,13	0,01	1,00	-0,02	0,10	0,21	0,18
DMA	0,04	0,08	0,14	0,14	-0,07	-0,09	-0,07	-0,13	0,09	-0,25	-0,05	0,23	0,12	0,02	0,70	-0,02	1,00	0,85	0,54	0,63
DMP	-0,05	-0,04	0,24	0,13	-0,04	-0,09	-0,06	-0,08	0,17	-0,13	0,02	0,31	0,02	0,13	0,62	0,10	0,85	1,00	0,54	0,57
DMAP	0,17	0,20	-0,02	0,31	0,19	0,15	0,23	-0,23	0,04	0,10	0,16	0,07	0,20	0,11	0,29	0,21	0,54	0,54	1,00	0,63
LP	0,08	-0,13	-0,04	0,40	-0,05	-0,04	0,24	-0,19	0,12	-0,06	0,18	0,16	0,28	0,15	0,49	0,18	0,63	0,57	0,63	1,00



Partant des règles de Tomassone(1989) et Ranarison (2007), les significations des valeurs des coefficients de corrélation  $r$  sont comme suit :  $r \geq 0,8$  : variables fortement liées ;  $0,5 \leq r < 0,8$  : variables moyennement liées ;  $r < 0,5$  : variables faiblement liées.

Suite à nos résultats obtenus nous constatons que:

- Les mensurations corporelles ont été corrélées entre elles dans la plupart des cas (**Tableau 02**). Les axes 1 et 2 semblent être les plus discriminants, ils totalisent environ 40 % de la variabilité (**Figure 19**) ;
- La hauteur au garrot (HG) a montré une corrélation positive significative avec la longueur des membres postérieurs (LMP) et avec la hauteur de la bosse (HB) qui sont respectivement de 0,77 et 0,57 ; signifiant ainsi la relation entre les membres de l'animal et par conséquent, la hauteur de l'animal.
- La hauteur au bosse (HB) qui est égale à 0,64 et le tour spirale(TS) qui est de 0,50 sont expliqués par le fait qu'ils ont un point de repère commun qui est le sommet de bosse.
- La corrélation entre la longueur du dessous de la tête (LT2) et la distance entre les oreilles(Lt1), est de 0,51. Cela veut dire une corrélation entre la longueur et la largeur de la tête due à la proportion et la mise en forme de la tête de l'animal.
- Le tour de paturon (Tpa) est corrélée positivement avec la distance entre les mamelons antérieures(DMA), et la distance entre les mamelons postérieures(DMP) qui sont respectivement de 0,70 et 0,62, qui peut être un indice sur la taille de piereste à confirmer par des études plus spécifique sur la mamelle.
- la distance entre les mamelons antérieures(DMA) et la distance entre les mamelons postérieures(DMP) sont corrélées positivement, la distance entre mamelons antérieures et mamelons postérieures (DMAP) et longueur de pie (LP) le sont aussi, ils sont respectivement de 0,85 ; 0,54 et 0,63 et ce due à la conformation de pie et la proportion de ses mensuration. Nos résultats concordent à ceux enregistrés par Atigui (2014) concernant les corrélations positives entre les mensurations des mamelles.

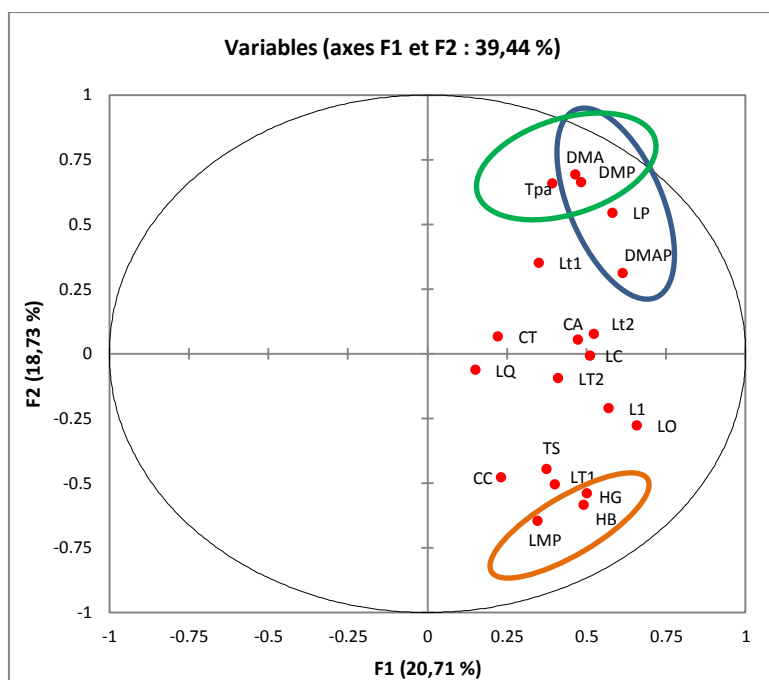


Figure 19 :Analyse en composantes principales.

### 2.3. Classification ascendante hiérarchique (CAH)

La classification ascendante hiérarchique (CAH) des 41 chamelles est représentée dans lestableaux 03 et 04 :

Tableau03 : Barycentre des classes de l'échantillon(mensurations principal).

Classe	HG	HB	LMP	TS	CT	CA	L1	LC	CC
1	171,31	188,19	163,06	199,19	184,50	165,31	143,75	100,50	78,63
2	181,87	201,13	171,13	213,60	191,40	172,40	148,93	104,73	83,27
3	181,40	193,20	175,30	205,30	176,20	192,40	148,60	99,20	80,60

Tableau04 : Barycentre des classes de l'échantillon (mensurations secondaire).

Classe	LT1	LT2	Lt1	Lt2	LO	LQ	Tpa	LP	DMA	DMP	DMAP
1	49,44	35,75	22,19	26,25	11,06	51,50	29,38	15,31	14,19	11,44	6,69
2	51,40	37,47	22,27	26,80	12,27	52,47	29,07	15,73	14,67	11,73	7,20
3	53,70	38,10	21,50	27,00	12,30	52,80	29,30	18,20	15,20	12,10	7,90

La classification a permis d'identifier trois groupes de phénotypes décrits de la manière suivante :

- Classe 1 : les animaux de cette classe sont les moins hauts sur pattes, de petite tête, et ont des mamelles moins développées par rapport aux animaux des deux autres classes
- Classe 2 : les animaux de cette classe sont les plus hauts sur pattes, à cou long par rapport aux animaux des deux autres classes
- Classe 3 : les animaux de cette classe sont plus hauts sur pattes mais a une bosse moins développé par rapport au animaux de la deuxième classe, de grande tête, de petite cage thoracique, et ont des mamelles les plus développées par rapport au animaux des deux autres classes.
- De point de vue ressemblance, la classe 2 et 3 sont très proches hautement sur pattes, contrairement à la classe 1.
- Concernant le développement des mamelles, la classe 3 c'est elle qui regroupe les animaux aux mamelles plus volumineuses et ont de grandes têtes contrairement à la classe 1 ont des mamelles moins développées et de petite tête.

Nos résultats sont en bon accord avec ceux de Oulad belkhir, (2018) qui révèle aussi trois sous classe pour la race sahraoui dont : une classe moins haute , une classe médiane et une classe haute sur patte avec une mamelle plus développée que les deux autres classes.

### 3. Comparaison des techniques d'extraction d'ADN

Diverses techniques d'extraction et d'isolement de l'ADN à partir du sang veineux ont été élaborées; des méthodes commercialisées sous forme de kits prêts à l'emploi ont beaucoup pris de l'ampleur. Le volume initial de sang requis, la durée de l'extraction, la pureté et le rendement de l'ADN obtenu peuvent expliquer le recours à leur utilisation. Cependant le coût élevé de ces techniques reste un inconvénient majeur. Les protocoles classiques d'extraction d'ADN sont certes plus lentes, mais elles sont aussi efficaces et représentent, dans notre cas, la solution de choix. En revanche, elles doivent être adaptées à la nature de l'échantillon en question afin de générer un ADN pur de bonne qualité et de quantité suffisante pour des applications biomoléculaires ultérieures. Décrire la méthode classique fiable pour l'extraction de l'ADN du sang du dromadaire, présentant beaucoup de particularités hématologiques, est l'objectif de cette partie du travail.

La méthode classique commune pour l'extraction d'ADN du sang total nommée « méthode de référence » est celle impliquant l'utilisation du phénol. Cependant, ce dernier est très toxique. Par ailleurs, la réalisation de cette technique nécessite beaucoup de temps, limitant le

nombre d'échantillons pouvant être traités. Deux autres protocoles d'extraction classiques ont été, de ce fait, testés: la méthode non organique saline par l'utilisation de l'NaCl et la méthode organique au chlorure de guanidine. Les solutions de travail et les concentrations requises, le rendement, la qualité et la quantité d'ADN obtenues ainsi que la facilité de ces méthodes ont été déterminés et comparés.

### 3.1. Procédés d'extraction

Ce paragraphe récapitule les différentes étapes suivies lors de l'extraction de l'ADN par les deux méthodes ainsi que les réactifs et les conditions utilisés et les interprétations associées.

Quelle que soit la méthode d'extraction de l'ADN utilisée, le sang doit être initialement mélangé à une solution hypotonique pour faire éclater les globules rouges. Les solutions de lyse des globules rouges sont nombreuses et variées. Celle que nous avons utilisée consiste en le Tris 20mM/ EDTA 5mM/ PH=7.5. Cette composition nous a permis d'obtenir une bonne lyse des globules rouges et un aspect plus ou moins blanchâtre des globules blancs. En effet, l'EDTA sert à inactiver les enzymes nucléases notamment les DNAses alors que le Tris/HCl permet de réguler le PH de la solution afin de protéger la molécule d'ADN. Un pH faible ou élevé peut endommager l'ADN (Nouaïria *et al.*, 2010)

Cette étape de lyse, et différemment du protocole utilisé par le laboratoire d'accueil spécialisé dans la génétique humaine, a nécessité une répétition de la manipulation de trois fois et plus. En effet, les érythrocytes des camélidés sont significativement plus nombreux que la plupart des érythrocytes de mammifères. Ils peuvent résister à la rupture des membranes dans des conditions hypotoniques (Al-Jashamy et Sawad., 2016). La répétition de l'étape permet d'obtenir des leucocytes à aspect clair et de s'assurer de l'élimination des restes de l'hémoglobines pouvant perturber les techniques d'extraction ou les réactions effectuées par la suite. Il importe de savoir que l'hème est un puissant inhibiteur de la Taq polymérase, qu'il est nécessaire d'éliminer au cours de l'extraction (Bienvenu, 1999).

Après centrifugation du lysat et élimination du surnageant, le culot cellulaire contenant les leucocytes est repris dans une solution saline (NaCl 400mM/EDTA 2mM pH/ Tris 10mM/ PH=8,5) et est traité par une solution de lyse des globules blancs. La différence entre les deux méthodes réside dans la nature du détergent anionique utilisé permettant la lyse des globules blancs. Le SDS à 10% a été utilisé lors de la méthode au NaCl. Il a pour rôle de solubiliser les lipides des membranes plasmiques afin de les déstructurer, inhiber les nucléases et aussi de

dénaturer les protéines. Concernant la méthode au chlorure de guanidium, nous avons utilisé ce dernier qui est un agent chaotropique, connu pour son efficacité de dénaturation des protéines associées à l'ADN et essentiellement les enzymes telles les nucléases pouvant dégrader la molécule d'ADN (Pramanik et *al.*, 1975 ; Bowtell, 1987). Nous avons également utilisé le sarkosyl qui est un détergent anionique employé pour la lyse cellulaire et qui convient également à la solubilisation des protéines membranaires, ainsi que de l'acétate d'ammonium qui sert à précipiter les protéines et autres contaminants à partir de lysat (Wang et *al.*, 2012 ; Chen et *al.*, 2013 ).

L'ADN nucléaire libéré dans le milieu est par la suite traité par la protéinase K très active, et ce pour les deux méthodes. Nous avons constaté que les deux solutions ont un effet similaire, détergent et aussi déprotéinisant. Néanmoins, le résultat de cet effet ne peut être observé qu'après l'étape de visualisation de la pelote d'ADN et l'estimation de sa pureté.

Au cours de l'extraction et de la purification permettant la précipitation des protéines et la récupération de la phase contenant de l'ADN, les procédés varient également. Dans le protocole d'extraction par la méthode au chlorure de guanidium, la pelote d'ADN est directement précipitée par l'éthanol après la lyse des globules blancs, et ce du fait que la solution de lyse de ces derniers chlorure de guanidine/acétate d'ammonium/ sarkosyle ait un effet déprotéinisant puissant. En revanche, dans la méthode utilisant le solvant, NaCl, nous avons traité le lysat cellulaire, d'abord, par une solution saline NaCl 4M avant la précipitation de l'ADN par l'éthanol, et cela afin d'éliminer par précipitation sélective les protéines. Cette étape a prouvé son efficacité. Elle permet d'obtenir un ADN purifié débarrassé de la très grande majorité des contaminants. Quelques kits commercialisés par des industriels utilisent ce procédé (Nouaïria, 2010).

L'étape finale de toute méthode d'extraction est la récupération de l'ADN par une précipitation. Elle a été réalisée par l'alcool éthylique absolu froid qui nous a permis de voir à l'œil nu l'ADN précipité sous forme de pelote. Le temps de précipitation était de quelques minutes pour la méthode au NaCl mais de quelques heures pour la méthode au chlorure de guanidium. Selon la littérature, ce temps varie en fonction de la concentration des acides nucléiques, de 15 min à 10 h (Bienvenue, 1999). Cependant, dans notre cas, cette différence entre les deux méthodes, a été notée pour des échantillons de même volume de départ et prélevés du même animal. Ce qui est aussi remarquable, est la taille volumineuse de la pelote

pour la majorité des échantillons extraits par la méthode au chlorure de guanidium, probablement due à l'impureté de l'ADN.

Les ADNs, obtenus à partir de ces méthodes, ont été finalement dilués dans une solution d'hydratation (Tris 10 mM / EDTA 1mM/ pH 7,5). Ceux obtenus par la méthode au NaClse sont normalement bien solubilisés pendant deux jours. Cependant, l'extraction par la méthode au guanidine a abouti à un ADN visqueux (gélatineux) qui n'a pas réussi à se remettre en suspension dans le tampon TE, à l'exception d'un seul échantillon. Une dissolution loin d'être parfaite qui nous a empêché d'estimer la concentration des ADNs ou leur pureté. Ce constat a été aussi rapporté par Montgomery et Sise (1990), lors de l'extraction de l'ADN du sang de moutons. Les chercheurs ont travaillé sur un échantillon de 100 prélèvements de 20 ml chacun et ont obtenu des ADNs à aspect gélatineux (Montgomery et Sise., 1990).

Ce résultat peut être expliqué par la digestion incomplète des protéines avant la précipitation finale par l'éthanol. La quantité du sang utilisé par rapport aux volumes des réactifs peut aussi être une explication (la loi de saturation). Cela a été suggéré car nous avons observé que la méthode a prouvé son efficacité pour l'échantillon de 5ml.

Pour ce qui est de la durée de l'extraction, elle est comparable pour les deux méthodes, représentée par 12h. Le temps nécessaire pour réaliser une extraction varie entre 30 min et 24h selon les différents protocoles. Les méthodes les plus rapides qui permettent d'obtenir un ADN en solution en 30 min, tel le cas pour la méthode en colonne ou celle des kits, sont particulièrement adaptées aux échantillons sanguins de petit volume. Les méthodes classiques, particulièrement la méthode au phénol, sont longues car nécessitant un grand nombre d'étapes de manipulations et généralement utiles pour des échantillons volumineux (Bienvenu, 1999).

### 3.2. Evaluation de la quantité et de la qualité de l'ADN

Les concentrations estimées par la mesure de la DO (densité optique) à 260 nm, la pureté appréciée par le rapport de DO aux deux longueurs d'ondes 260 nm et 280 nm ainsi que le rendement de l'extraction calculé par le rapport de la quantité d'ADN obtenu et le volume initial de sang sont résumés dans le **tableau 05** ci-après :

**Tableau 05** : Résultats de l'évaluation de la quantité et de la qualité des échantillons d'ADN génomique du dromadaire par les méthodes « NaCl » et « Chlorure de guanidium ».

N° échantillon	Méthode d'extraction	Quantité de sang (ml)	Concentration d'ADN(µg/ml)	Rapport de pureté	Rendement de l'extraction µg/ml
1	NaCl	10	412,3	1,79	12,37
2	NaCl	10	700,1	1,75	21,00
3	NaCl	10	1368,9	1,81	41,07
4	NaCl	10	667,5	1,78	20,03
5	NaCl	10	831,6	1,75	24,95
6	NaCl	10	972,7	1,74	29,18
7	NaCl	10	1004,9	1,75	30,15
8	NaCl	10	644	1,79	19,32
9	NaCl	10	682,6	1,71	20,48
10	NaCl	10	487,4	1,7	14,62
11	NaCl	10	508,5	1,73	15,26
12	NaCl	10	1130,8	1,68	33,92
13	NaCl	10	806,4	1,62	24,19
1'	Guanidine	5	241	1,79	14.46
11'	Guanidine	10	/	/	/
12'	Guanidine	10	/	/	/
3'	Guanidine	10	/	/	/

Les échantillons numérotés 01, 03, 11,12 extraits par la méthode « NaCl » correspondent aux échantillons 1', 3',11' et 12' extraits par la méthode « au chlorure de guanidine » respectivement.

### 3.2.1. Concentration de l'ADN

Les concentrations trouvées par la méthode au NaCl varient entre 412 µg/ml et 1368,9 µg/ml soit en moyenne 785.98µg/ml, bonnes valeurs, reflétant la concentration élevée de leucocytes se trouvant dans le sang du dromadaire. Nos résultats sont comparables à ceux trouvés par l'étude de Bienvenu (1999) utilisant la méthode organique au phénol chloroforme dite de référence et connue pour sa grande fiabilité, dont les concentrations variaient de 385

ng/μl à 1140 ng/μl, montrant, ainsi, l'efficacité de la méthode inorganique au NaCl. En effet, selon la même étude, les concentrations en ADN faibles de l'ordre 217 et 306 ng/μl, peuvent être adaptées à la méthode PCR, mais ne sont pas suffisantes pour des expériences ultérieures de biologie moléculaire tel que le Southern-blot.

La concentration de l'échantillon d'ADN 1' extrait à partir de 5 ml de sang par la méthode au chlorure de guanidium est de 241 μg/ml. Celui-ci correspond à l'échantillon d'ADN 1 extrait par la méthode au NaCl à partir de 10 ml et qui a donné une concentration de 412 μg/ml. Ceci montre que les deux protocoles utilisés présentent pratiquement la même efficacité.

### 3.2.2. Rendement de l'extraction

Le rendement moyen de l'extraction de l'ADN, calculé par le rapport de la quantité d'ADN obtenu et le volume initial de sang était de 14,46 μg/ml pour l'échantillon extrait par le solvant organique chlorure de guanidium. L'extraction par la méthode au NaCl a montré une variation inter-échantillon, le rendement était compris entre 12,37 μg/ml et 41,07 μg/ml. La plupart des échantillons présentaient de bons rendements d'ADN à poids moléculaire élevé et en quantités suffisantes permettant de réaliser des actes de biologie moléculaire. Nos résultats sont similaires à ceux trouvés dans des études utilisant cette méthode (Montgomery et Sise, 1990) ou par méthodes de colonnes ou de phénol, où le rendement d'extraction allait de 15 à 41 μg/ml de sang frais (Bienvenu, 1999).

### 3.2.3. Pureté de l'ADN

La pureté a été appréciée en mesurant la densité optique des extraits à 260 et 280 nm et en effectuant le rapport DO 260 nm/DO 280 nm. Les ratios obtenus pour les échantillons d'ADN extraits par la méthode au NaCl étaient compris entre 1,6 et 2, et dont la majorité étaient proches de 1,8 indiquant une bonne déprotéinisation et reflétant un état d'ADN suffisamment pur. L'ADN obtenu par l'extraction avec la méthode au chlorure de guanidium était aussi pur, présentant un rapport de 1,79. Des rapports répartis entre 1,62 à 1,82 sont considérés comme bons (Montgomery et Sise, 1990 ; Bienvenu, 1999).

Les contrôles réalisés par électrophorèse sur un gel d'agarose 0,8% sont présentés dans la **Figure 20**. Ils permettent d'apprécier la taille des fragments d'ADN et aussi d'observer l'existence ou non d'une éventuelle dégradation de l'ADN survenue au cours de l'extraction.

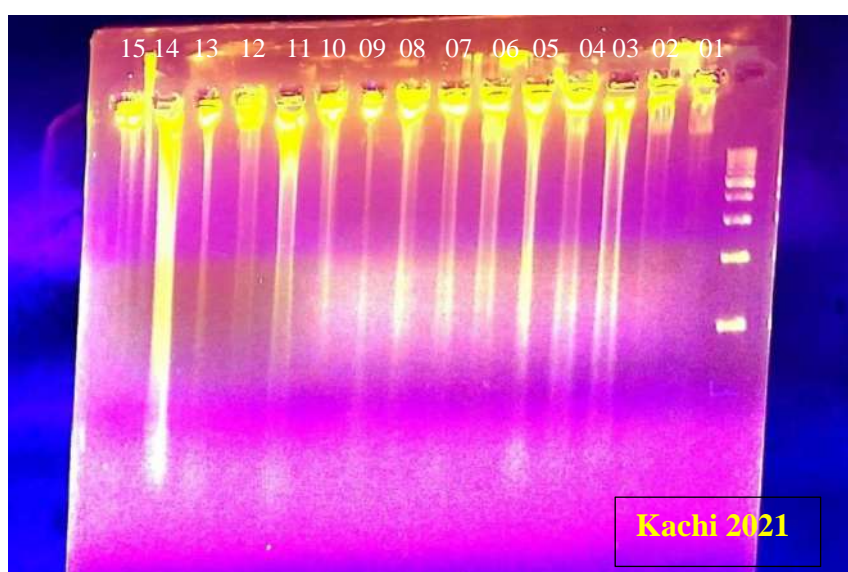
Le puits tout à fait à gauche représente le marqueur de taille



Les puits (1 et 2) c'est l'échantillon d'ADN 1' extrait par la méthode au chlorure de guanidium .Notons que l'échantillon est déposé deux fois.

Le dernier puits (3 à 15) représentent le dépôt des ADN extraits par la méthode au NaCl.

Les ADNs sont des fragments de grande taille, par comparaison à la première bande du marqueur de taille, ils sont représentés par des bandes épaisses non fragmentés, reflétant l'état non dégradés des échantillons. Ceci à l'exception, de deux échantillons (11 et 14) qui présentaient une smear continue (trace de fluorescence tout au long du gel).



**Figure 20** :Electrophorèse des échantillons d'ADN extraits par les méthodes au « NaCl » et « au chlorure de guanidium » sur gel d'agarose 0.8%.

## Conclusion

Les résultats obtenus à partir de cette étude nous permettent de tirer les conclusions suivantes

### *Etude phénotypique :*

- La caractérisation phénotypique de la population étudiée a montré des corrélations entre les mensurations des individus des différents troupeaux.
- Cette caractérisation phénotypique primaire révèle l'existence de trois sous classes, sachant que les différences entre les classes ne sont pas importantes.
- Il serait intéressant de faire recours à une caractérisation phénotypique secondaire basée sur les critères zootechniques particulièrement utiles en termes d'estimation des performances de production.
- D'autres études, sur des troupeaux comprenant un nombre important d'animaux, sont nécessaires afin de valider nos conclusions.
- Ce genre d'études doit être poursuivi et élargi servant un indicateur pour les études génétiques.

### *Comparaison des méthodes d'extraction génomique :*

- L'extraction de l'ADN par la méthode au NaCl est préférable de point de vue de sa facilité et de sa simplicité. C'est une méthode fiable, nous a permis de récupérer un ADN de bon rendement et de bonne qualité. Par comparaison aux études illustrées dans la littérature, nos résultats sont équivalents à ceux obtenus par le procédé d'extraction au phénol dit « de référence ». La méthode présente également l'avantage d'absence du risque de toxicité par des produits dangereux.
- La méthode à la guanidine, qui est largement utilisée pour l'extraction de l'ADN à partir du sang humain et qui présente pratiquement les mêmes avantages que la méthode au NaCl, n'a pas montré son efficacité pour la majorité des extractions de dromadaire, à

l'exception d'un échantillon. Néanmoins, nous ne pouvons pas conclure qu'elle est inappropriée pour ce type d'échantillons. Une réextraction de l'ADN à partir des échantillons obtenus, des essais sur un nombre plus important d'échantillons et une optimisation de la méthode sont nécessaires afin de pouvoir tirer des conclusions consistantes.

- L'application et le choix des protocoles classiques d'extraction d'ADN exigent une adaptation des protocoles expérimentaux selon les spécificités hématologiques de l'échantillon, mais aussi selon les besoins et les moyens de l'expérimentateur. La finalité reste, évidemment, l'efficacité.

Enfin, l'élevage camelin en Algérie est un trésor qu'il faudrait conserver et développer. L'identification du patrimoine génétique par le biais des études moléculaires de l'ADN est un outil important pour accéder à l'analyse de la variation génétique des individus, mais aussi d'identifier des marqueurs génétiques liés à des gènes d'importance économique chez les populations de dromadaires.

# **Annexes**

## Annexe 1 : QUESTIONNAIRE

N°	Nom et prénom	Age	Tribus	Date de l'enquête	Lieu de l'enquête	Commune/ Wilaya
Chamelier						
Berger						

Propriété : - Individuelle  - Collective

Origine du troupeau : - Héritage  - Achat  - Autres  , la quelle .....

Type d'élevage : -Pastoral :  - Agropastoral :  - Agraire :

Mode d'élevage : - Garder :  - Semi gardé :  - Hmil :

Système d'élevage : - Extensif :  - Semi intensif :  Intensif :

Mode de vie : - Nomade  - Transhumant  - Sedentaire

-Taille du troupeau :

-Composition du troupeau :

	Males	Femelles	Jeunes	Jeunes males	Jeunes femelle
Nombre total					
Races (populations)					
-1.....					
-2.....					
-3.....					
-4.....					

**Conduite de l'alimentation :**

- Est-ce que tu pratique la complimentation ?..... [Si oui] a quel moment ..... et pourquoi ? .....et quelle complimentation ?.....

**Conduite de la reproduction :**

- Saison de la reproduction .....Intervale du .....jusqu'au.....
- Rapport : males ...../ femelles .....
- Age de mise a la reproduction : femelles..... males .....
- Durée d'utilisation des males.....
- Critères du choix des géniteurs .....
- Durée de gestation .....
- Intervalle entre deux mis bas .....
- Intervalle entre mis bas et première chaleur .....
- Intervalle entre mis bas et saillie fecandante .....
- Age de réforme .....

- Ya t il de croisements ?  [Si oui] avec quelle ....., et pourquoi .....
- La castration des dromadaires mâles est-elle pratiquée ? – Oui  -Non
- [Si oui] A quel âge le plus fréquemment ? (en jours) .....
- – La castration est pratiquée sur quel pourcentage des animaux ? .....
- – Quel est le matériel utilisé ? .....

Les productions : \_ unique

\_ mixte

\_ lait

\_ viande

\_ Ouber( poils )

\_ travail  , le quel .....

-Autres  ,  uelles .....

-Appliquez-vous des vaccins ? : Oui  -Non

[Si oui] Quels vaccins sont appliqués

	Vaccin contre la diarrhée	Vaccin contre les maladies respiratoires	Vaccin contre les infections mammaires	Vaccin contre les fièvres	Autres vaccins
Jeunes					
Adultes					
Geniteurs de renouvellement					
Autres (préciser)					
Mode d'administration - Eau de boisson - Alimentation - Injection - Pulvérisation - Autre (préciser)					

## Annexe 2 :les mensurations corporelles prises sur les femelles.

N°	Age	Couleur	HG	TS	CT	CA	HB	LMP	L1	CC	LC	LT1	LT2	Lt1	Lt2	LQ	Tpa	LO	DMA	DMP	DMAP	LP
1	12	hamra	178	198	187	177	184	155	156	72	103	45	37	24	27	56	31	10	16	13	7	21
2	6	hamra	173	193	188	174	186	152	140	72	101	48	36	25	27	51	30	13	17	14	8	19
3	8	Chaala	185	210	198	183	200	166	156	74	110	50	42	26	30	53	31	12	17	13	8	20
4	7	hamra	188	215	195	180	200	167	154	82	110	53	46	24	30	52	30	14	13	10	7	15
5	5	hamra	175	213	185	176	190	171	150	84	100	52	37	23	28	49	29	12	15	13	6	17
6	6	hamra	183	205	185	174	198	170	150	82	100	53	44	25	28	51	29	12	16	12	8	17
7	10	Chaala	180	199	176	196	194	174	147	80	100	51	40	21	24	54	30	13	16	14	7	18
8	8	hamra	174	203	198	195	200	165	150	82	105	50	37	22	27	53	29	12	14	12	7	16
9	8	Chaala	180	197	170	193	195	174	149	84	100	52	36	22	27	51	28	12	15	13	8	16
10	7	hamra	195	223	188	148	200	185	135	89	93	49	34	20	20	54	28	10	14	11	7	12
11	7	beige	190	217	188	180	210	180	150	84	110	48	31	21	26	53	28	13	14	11	6	14
12	6	beige	166	196	190	166	194	160	150	84	100	55	35	22	25	59	27	13	10	10	6	11
13	9	beige	175	204	200	160	200	163	150	84	110	50	40	21	26	55	31	13	17	14	8	21
14	8	hamra	170	200	194	161	195	165	150	82	100	54	35	22	26	54	30	13	14	12	7	16
15	8	beige	180	210	186	181	200	169	150	82	105	52	36	22	26	54	30	13	13	11	7	15
16	7	beige	186	215	185	180	210	175	150	82	100	52	35	22	25	53	28	13	13	10	8	16
17	7	Atra	175	195	160	170	190	170	149	90	100	55	50	20	30	45	29	13	12	10	7	15
18	6	Zarka	185	200	160	190	193	177	145	85	90	60	45	20	25	53	29	10	13	10	7	16
19	8	Atra	177	199	170	182	190	172	148	85	100	55	39	21	26	52	30	13	15	13	8	19
20	10	Atra	190	210	180	185	198	186	150	88	105	54	40	23	28	53	31	13	16	12	9	21
21	8	hamra	190	203	175	192	195	182	145	85	100	55	39	21	26	52	29	13	14	10	6	18
22	11	marron	168	201	194	166	182	166	140	76	107	50	33	21	29	53	30	12	16	12	7	17
23	12	atra	180	212	198	168	201	171	154	90	111	55	38	22	28	51	30	13	15	12	8	14
24	11	marron	171	200	192	174	190	165	147	88	104	54	35	29	29	48	29	12	12	10	6	14
25	15	marron	172	193	186	160	188	167	130	80	105	50	40	27	22	50	34	10	17	15	7	16
26	10	atra	182	220	208	166	205	172	140	88	100	49	31	22	26	53	27	13	16	12	6	15
27	12	atra	165	197	186	200	175	160	136	74	96	46	38	24	25	51	28	10	13	10	6	13
28	10	marron	180	215	180	204	192	172	158	72	101	51	36	21	29	49	27	13	12	10	8	16
29	10	marron	171	212	184	190	191	165	143	75	97	52	35	22	29	54	30	13	16	11	8	20
30	11	hamra	176	219	180	194	195	169	153	72	99	53	34	23	28	57	32	12	21	16	10	20
31	9	hamra	180	227	192	160	200	174	146	76	102	54	39	22	27	51	29	12	16	13	9	14
32	7	beige	172	208	200	165	190	168	140	87	100	50	34	22	28	51	30	13	15	13	6	13
33	10	hamra	175	197	174	152	180	161	148	86	100	49	36	21	27	49	32	9	17	11	5	13
34	7	hamra	169	200	178	180	190	160	142	76	97	40	31	20	26	47	31	9	19	14	9	20
35	5	hamra	170	205	165	160	191	162	145	72	95	46	29	19	25	48	28	10	12	8	6	13
36	6	baidha	172	200	180	160	195	165	143	71	100	50	35	20	26	53	27	10	12	10	6	13
37	5	baidha	180	204	192	140	190	170	140	69	100	51	34	20	24	53	26	10	13	11	7	14
38	8	safra	180	220	180	160	200	170	152	80	110	50	37	21	27	53	28	10	12	10	6	13
39	7	Zarka	165	200	186	140	191	163	144	79	100	48	34	19	24	56	28	10	12	10	7	17
40	6	hamra	185	199	187	198	189	182	148	80	100	54	37	21	28	53	27	11	14	12	8	18
41	10	hamra	175	210	185	175	203	169	147	90	105	54	35	21	28	52	29	12	15	12	7	17

## Annexe 3 : statistiques descriptives des femelles.

Variable	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
HG	165,00	195,00	177,63	7,39
TS	193,00	227,00	205,95	8,84
CT	160,00	208,00	185,00	10,64
CA	140,00	204,00	174,51	16,03
HB	175,00	210,00	194,14	7,34
LMP	152,00	186,00	169,00	7,48
L1	130,00	158,00	146,82	5,95
CC	69,00	90,00	80,80	6,08
LC	90,00	111,00	101,73	4,77
LT1	40,00	60,00	51,19	3,48
LT2	29,00	50,00	36,95	4,19
Lt1	19,00	29,00	22,04	2,09
Lt2	20,00	30,00	26,63	2,09
LQ	45,00	59,00	52,17	2,69
Tpa	26,00	34,00	29,24	1,64
LO	9,00	14,00	11,80	1,40
DMA	10,00	21,00	14,61	2,18
DMP	8,00	16,00	11,70	1,69
DMAP	5,00	10,00	7,17	1,07
LP	11,00	21,00	16,17	2,70



Références bibliographiques

- **Abaab A, BédraniS, Chiche J., 1995.** Les politiques agricoles et la dynamique des systèmes agropastoraux au Maghreb. Les agricultures Maghrébines à l'aube de l'an 2000. Options Méditerranéennes. 14:140-165.
- **Aouf A ,2015.** Cours de Biologie Moléculaire et Génie Génétique.
- **Adamou A, 2008.**L'élevage camelin en Algérie : quel type pour quel avenir.
- **Al-Jashamy K A,SawadA., 2016.** Ultrastructure Morphology of Camel Blood Cells in kufa.Journalfor Veterinary Medical Sciences. 7:1 .
- **Amanat A, Baby B, Vijayan R., 2019.**From desert to medicine: a review of camel genomics and therapeutic products. [http://camelides.cirad.fr/fr/actualites/article\\_mois.html](http://camelides.cirad.fr/fr/actualites/article_mois.html).
- **Atigui M ,2014.** caractéristiques anatomo-physiologiques de la glande mammaire chez la chamelle en Tunisie et son aptitude a la mécanisation de la traite. Université de Carthage institut national agronomique de Tunisie.
- **Ben larbi M, TircazesA, FèveK, Tudela F, BoletG., 2011.** Comparaison de matériels biologiques et de méthodes d'extraction pour obtenir de l'ADN chez le lapin. Journées de la Recherche Cunicole. Institut Technique de l'Aviculture.pp.61-64. hal-02810316.
- **Bengoumi M, Faulconnier Y, Tabarani A, Sghiri A, Faye B,Chilliard Y., 2005.**Effects of feeding level on body weight, hump size, lipid content and adipocyte volume in the dromedary camel. Animal Research. 54: 383–393.
- **Bienvenu T, Meunier C, Bousquet S, ChironS, Richard L, Gauthier A et Dejean J,Rouselle F, Feldmann D., 1999 .**Les techniques d'extraction de l'ADN à partir d'un échantillon sanguin. Annales de Biologie Clinique. 57 :77-84.
- **Blanc C,EnnesserP Y., 1989.** Approche zoo géographique de la différenciation infraspécifique chez le dromadaire Camelus dromedarius Linné (Mammalia : Camelidae). Revue d'élevage et de médecine vétérinaire. 42: 573-587.
- **Boue A. 1946.** Le méhari Reguibi. Rev. Vétér.Mil. 2:136-144.
- **Boujenane I, El Khattaby N, Laghouaouta H, Badaoui B, Piro M., 2019.** Morphological diversity of female camel (Camelus dromedarius) populations in Morocco. Trop. Anim. Health Prod. 51: 1367–1373.
- **Bourbouze A, 2006.** Systèmes d'élevage et production animale dans les steppes du nord de l'Afrique : une relecture de la société pastorale du Maghreb. Sécheresse. 17 : 31- 39.

- **Boutaghane, 2019.** Les techniques électro-phorétiques. Techniques d'Analyses. <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/BCM/2019/Les%20techniques%20%C3%A9lectrophor%C3%A9tiques>.
- **Bowtell D, 1987.** Rapid isolation of eukaryotic DNA. Analytical Biochemistry. 62: 463-465.
- **Brown T, 2010.** Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction. 6th edition. Ed, John Wiley and Sons. USA.
- **Burger P, Ciani E, Faye B., 2019.** Old world camels in a modern world – A balancing act between conservation and genetic improvement. Animal Genetics Immunology genetics, Molecular Genetics and Function Genome.
- **Cauvet, 1925 .** Le chameau. j .Baillière:Paris. p 388
- **Chouia A, 2010.** caractérisation morphologique des populations camelines du Sahara septentrional (cas de la région d'El-oued). Université kasdi merbah Ouargla.
- **Chen X , Cui D, Sun J , Zhang L, Li H ., 2013.** Microdevice-Based DNA Extraction Method Using Green Reagent. Key Engineering Materials. 562:1111-1115.
- **Chniter M, Hammadi M, Khorchani T, Krit R, Benwahada A, Ben Hamouda M., 2013.** Classification of Maghrebi camels (*Camelus dromedarius*) according to their tribal affiliation and body traits in southern Tunisia. Emirate Journal of Food and Agriculture, 25 : 625-634.
- **Cherifi Y, et al., 2017** Weak Genetic Structure in Northern African Dromedary Camels Reflects Their Unique Evolutionary History. PLoS ONE 12(1): e0168672.
- **Douaoudi H, 2019.** Extraction de l'ADN à partir de sang de mouton. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- **FAO, 2021.** Statistique of Food and Agriculture Organization .
- **Faye B, 1997.** Le guide de l'élevage du dromadaire. Ed, Sanofi. Libourne (France). 118 pp.
- **Faye, B, Abdallah, H, Almathen ,F, Harzallah , B, Al-mutairi, S., 2011.** Camel biodiversity. Camel phenotypes in the Kingdom of Saudi Arabia, Camel Breeding, Protection and Improvement Center, project UTF/SAU/ 021/SAU, FAO Publ., Riyadh (Saudi Arabia), p.78.
- **Ghiasuddin S, Sarwar Q, Reissmann M., 2014.** Phenotypic and genetic differentiation of Pakistani camel breeds. Lambert Academic., Saarbrücken, Germany.
- **Griffiths ,Wessler ,Carroll ,Doebly., 2012.** Introduction à l'analyse génétique. 6e édition. Traduction de la 10e édition américaine.

- **Haroun B.,2017.**Caractérisation de la population des dromadaires : Etude morpho biométrique et pratiques de gestion de la diversité génétique au sud Algérien.École Nationale Supérieure Vétérinaireel-harrache – Alger.
- **ISHAG, I. A., EISSA, M. O., and AHMED, M. K. A., 2011:** Phenotypic characteristics of Sudanese camels (*Camelus dromedarius*). *Livestock Res. Rural Dev.* 23:99.
- **Harek D, 2008.** Contribution à l'étude de la diversité génétique des population camelines (genre *camelus*) dans la région du hoggar(sud Algérien). Institut national agronomique el-harrache – Alger.
- **Karp G, Janet I, Wallace MI., 2016.** Biologie cellulaire et moléculaire. 4eme édition, Ed, deboeck supérieur.
- **Kohler C.,2010.** Les cellules sanguines. Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC).
- **Konuspayeva G., 2007.** Variabilité physico-chimique et biochimique du lait des grandscamélidés (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* et hybrides) au Kazakhstan. Thèsede Doctorat. Université Montpellier II. France. 256p.
- **Legesse Y, Dunn C, Mauldin M, Ordonez-Garza N, RowdenG,Mekasha G, Kurtu M., 2018.** Morphometric and genetic variationin 8 breeds of Ethiopian camels (*Camelus dromedarius*). *J. Anim. Sci.*, 96:4925–4934, doi: 10.1093/jas/sky351.
- **Meghelli I,Kaouadji Z., 2016.** Caractérisation morphométrique, biotech d'ADN et typologie de l'élevage Camelin en Algérie et application bioinformatique en génétique. Université de Tlemcen.
- **Meuwissen T, Ben Hayes, Mike G., 2016.**Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding. *Animal Frontiers.* 6: 6–14.
- **Montgomery G, SiseJ. ,1990.** Extraction of DNA from sheepwhite blood cells, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 33:3, 437-441.
- **Musa B, E, Merkt H, Hago B, Hoppen H, O, Sieme H., 1990.**The femel camel (*Camelus dromedarius*) and the artificial inseminals. In: Actes de l'atelier " peut-on améliorer les performances de reproduction des camelins ?" Paris 10-12 Sep. 1990. Etudes etSynthèses de l'IEMVT.
- **Nouairia J G, Benlarbi M., 2010.** Comparaison de méthodes d'extraction de l'ADN de lapin à partir du sang:Fiabilité et coût. ConferencePaper.
- **Nouairia J G., 2013 .**Essai des marqueurs microsatellites isolés chez l'alpaca (*Lama pacos*) pour la caractérisation génétique du dromadaire (*Camelus dromedarius*) INAT.

- **Nouairia J G., 2018.** Developing a microsatellite markers-based parentage test for *Camelus dromedarius*. *Journal of New Science*. 7(2).
- **Oulad belkhir A., 2018.** Caractérisation des populations camelines du Sahara septentrional Algérien. Evaluation de la productivité et valorisation des produits. Université Kasdi Merbah – Ouargla.
- **OuldAhmedM, Ben SalemF, Bedhiaf S, M'Naouer D., 2010.** Analyse moléculaire de la diversité génétique des dromadaires (*Camelus dromedarius*) en Tunisie. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. 14 : 399-408.
- **Ouled Laid A, 2008.** Conduite de l'élevage camelin (région de Ghardaia) les paramètres de production et de reproduction. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- **Piro M., 2012.** Genetic characterisation of Moroccan camel populations using microsatellite markers in *Journal of Camel Practice and Research*.
- **PramanickD, ForstovaJ, Pivec L., 1975.** 4M Guanidine hydrochloride applied to the isolation of DNA from different sources. *FEBS Letters* 62:1
- **RanarisonR., 2007.** Effets de l'incorporation de graines de *Ceiba pentandra* et de *Heritiera littoralis* dans l'alimentation sur la carcasse des poules pondeuses et relations entre les différents morceaux de ce produit animal. Mémoire pour un D.E.A., Option : Eaux et Forêt. E.S.S.A, Antananarivo.
- **Richard D, Hoste C, Peyre de Fabrègues B., 1985.** Le dromadaire et son élevage ..., Cirad-Iemvt Maisons-Alfort (FRA).
- **Samman MA, Al-Saleh AA, Sheth K., 1993.** The karyotype of the Arabian Camel, *Camelus dromedarius*. *King Saud University Science Riyadh*. 5 : 57-64.
- **Somma M., 2007.** Organisation Mondiale de la Santé. Bureau Régional de l'Europe. Analyse d'échantillons alimentaires pour la présence d'organismes génétiquement modifiés. « Module 4 : Extraction et purification de l'ADN ».
- **Takoucht A., 1998.** Essai d'identification de la variabilité génétique visible des populations caprines de la vallée de M'ZAB et des montagnes de l'AHAGGAR. Thèse ingénieur d'état. INES Blida. 52p.
- **Tandoh G, Gwaza D., 2017.** Sex dimorphism in the one hump-camel (*Camelus dromedarius*) from selected populations in Nigeria. *J. Appl. Life Sci. Int.*, 15(3): 1–10.
- **Tomassone., 1989.** Comment interpréter les résultats d'une régression linéaire, ITCF, Paris.
- **Vap L, Andrea A, Bohn., 2014.** Hematology of Camelids in Veterinary Clinics of North America *Exotic Animal Practice*.

- **Wang X, Teng D, TianF, Guan Q, Wang J., 2012** .Comparison of Three DNA Extraction Methods for Feed Products and Four Amplification Methods for the 5'-Junction Fragment of Roundup Ready Soybean .*Journal of Agricultur Food Chemistry*.60 : 4586–4595  
(Kohler-Rollefson, 2011Chniter *et al.*, 2013),(Yosefet *al.*, 2014),(Ghiasuddin Shah *et al.*, 2014),(Legesse *et al.* 2018),(Tandoh et Gwaza, 2017) et(Boujenane *et al.*, 2019).
- **Yosef T, Kefelegn K, Mohammed Y, Mengistu U, Solomon A, TaddelleD,Han J., 2018**.Morphological diversities and eco-geographical structuring ofEthiopian camel (*Camelus dromedarius*) populations.*Emir. J. Food Agric*.26 (4) : 371-389.

**Résumé :**

En Algérie, les populations camelines sont mal décrites et la variabilité phénotypique est relativement peu étudiée. Une étude sur la caractérisation phénotypique dans la région d'Ouargla a été réalisée sur 41 dromadaires adultes femelles de la population « sahraoui ». Et ce par le biais d'une enquête auprès des chameliers et des mesures morpho-métrique portant sur 20 mensurations.

Par ailleurs, des prélèvements sanguins pour l'extraction de l'ADN génomique ont été effectués, l'objectif est de comparer différents protocoles expérimentaux, sur le plan rendement, rapidité, qualité et quantité d'ADN. Cela permet de décrire la méthode la plus adaptée aux particularités du dromadaire, et de contribuer à la constitution d'une banque d'ADN pour une étude ultérieure de la diversité génétique des populations.

L'analyse en composante principale ACP et la classification ascendante hiérarchique CAH pour les caractères de mensuration quantitatifs, ont reflétés une corrélation positive entre les mensurations et ont permis une classification en 3 groupes des animaux, et ce malgré que les différences entre les classes ne sont pas importantes. Une caractérisation phénotypique secondaire basée sur les critères zootechniques est nécessaire.

L'extraction de l'ADN par la méthode au NaCl est préférable de point de vue sa fiabilité, sa facilité et sa simplicité. Elle nous a permis de récupérer un ADN de bon rendement et de bonne qualité, déterminés par la mesure spectrophotométrique et par l'électrophorèse sur gel.

La méthode à la guanidine n'a pas montré son efficacité pour la majorité des échantillons de dromadaire. Néanmoins, nous ne pouvons pas conclure qu'elle est inappropriée pour ce type d'échantillons. Des essais sur un nombre plus important d'échantillons et une optimisation de la méthode sont nécessaires afin de pouvoir tirer des conclusions consistantes.

L'identification du patrimoine génétique par le biais des études moléculaires de l'ADN est d'importance majeure pour la caractérisation et l'étude de variation génétique des populations camelines du pays.

**Mots clés :** *Dromadaire, Phénotype, Sang, Extraction D'adn, Nacl, Chlorure De Guanidine*

## مقارنة طرق استخراج الحمض النووي الجينومي من الجمل ودراسة النمط الظاهري.

### الملخص:

في الجزائر، لم يتم وصف قطعان الإبل بشكل دقيق، كما أن التباين الظاهر يلمتددر استهتسبياً. من خلال هذا العمل قمنا بدراسة حول التوصيف الظاهري في منطقة ورقلة على 41 إبل بالغة من قطيع الصحراوي. و ذلك بإجراء استبيان لدى مربى الإبل، و أخذ قياس التشكلية مقدره بـ 20 قياساً.

بالإضافة لذلك، تم أخذ عينات دم لاستخراج الحمض النووي الجيني، والهدف هو مقارنة البروتوكولات التجريبية المختلفة، منذ حيث العائدو السرعة والجودة وكمية الحمض النووي و يمتأجلو وصف الطريقة الأكثر ملائمة لخصوصيات الجمل، والمساهمة في تكوين بنك DNA يمكننا لاحقاً من دراسة التنوع الجيني لقطعان الإبل في البلاد.

يعكس تحليل المكون الرئيسي PCA والتصنيف الهرمي التصاعدي CAH لخصائص القياس الكم يارتباطاً إيجابياً بين القياسات ويسمح بتصنيف 3 مجموعات من الحيوانات، على الرغم من أن الاختلاف بينهم ليس كبيراً. لذلك من الضروري توصيف النمط الظاهري الثانوي على أساس معايير الانتاج الحيواني.

يُفضل استخراج الحمض النووي بطريقة كلوريد الصوديوم مفعاليته وسهولة. فقد سمحت لنا باستعادة عائد جيد نوعية جيدة من الحمض النووي، والتي تم تحديدها عن طريق القياس الطيفي الرحلان الكهربي للهلام.

لم تظهر طريقة الغوانيدين مفعاليته بالنسبة لغالبية عينات الإبل. ومع ذلك، لا يمكننا أن نستنتج أنها غير مناسبة لهذا النوع من العينات. الاختيار اتلع عدد أكبر من العينات وتحسين الطريقة ضروريان من أجل التمكن من استخلاص استنتاجات مؤكدة.

يعد تحديد التردد الجيني من خلال دراسات الحمض النووي والجزئي ذات أهمية كبيرة لتوصيف دراسة التباين الجيني في تجمعات الإبل.

**الكلمات المفتاحية:** الجمل، النمط الظاهري، الدم، استخراج الحمض النووي، كلوريد الصوديوم، كلوريد الغوانيدين.

## **Comparison of genomic DNA extraction methods from dromedaries and phenotypic study.**

### **Abstract :**

In Algeria, camel populations are poorly described and phenotypic variability is relatively little studied. A study on phenotypic characterization in Ouargla region was carried out on 41 adult female camels from the Sahrawi population . Collection of data from breeders and 20 morphometric measurements have been done.

Furthermore, blood samples for the extraction of genomic DNA were collected, the objective is to compare different experimental protocols, in terms of yield, speed, quality and quantity of DNA. This to describe the most adapted method to the peculiarities of the dromedary, and to contribute to the constitution of a DNA bank for the subsequent study of the genetic diversity of the camel populations.

The main component analysis PCA and the hierarchical ascending classification CAH for the quantitative measurement characteristics, reflected a positive correlation between the measurements and allowed a classification of 3 groups of animals, although the difference between them is not important . A secondary phenotypic characterization based on zootechnical criteria is needed.

DNA extraction by the NaCl method is preferable. This is a simple and a reliable method, it provides a good yield and quality of DNA, determined by spectrophotometric measurement and by gel electrophoresis.

The guanidine method has not shown its effectiveness for the majority of camel samples. However, we cannot conclude that it is inappropriate for this type of sample. Tests on a larger number of samples and an optimization of the method are necessary in order to have a consistent conclusions.

A genetic identification through molecular DNA studies is of major importance for the characterization and study of genetic variation in camel populations in the country.

**Keywords:** *Dromedary, Phenotype, Blood, DNA Extraction, Nacl, Guanidine Chloride.*