

Identification du gène de prolificité GDF9 chez la race ovine Barbarine en Tunisie *Identification of the prolificacy gene (GDF9) in the Tunisian Barbarine sheep breed*

JEMMALI B. (1), BEDHIAF S. (2), DJEMALI M. (2)

(1) Institut national agronomique de Tunisie, 43 Avenue Charles Nicolle 1082- Cité Mahrajène. Tunisie

(2) Banque Nationale de Gènes de Tunisie, Z.I Charguia-1-1080, Tunis, Tunisie

INTRODUCTION

La race Barbarine est riche en diversité phénotypique et génétique (Djemali *et al.*, 2008 ; Bedhiaf-Romdhani *et al.*, 2008). Elle représente l'effectif ovin le plus important et elle est répartie dans tous les systèmes d'élevage du pays. Plusieurs caractères zootechniques et économiques ont été étudiés chez cette race et la prolificité continue à être un sujet d'intérêt. En dépit des études menées à ce niveau, les gènes responsables de la prolificité de cette race ne sont pas encore identifiés. L'objectif principal de ce travail est la recherche de la mutation $FecG^H$ du gène GDF9. L'identification de ce gène aura des retombées positives sur la sélection menée dans le but d'améliorer la productivité numérique dans des systèmes d'élevage intensif.

1. MATERIEL ET METHODES

Des échantillons de sang (225 individus, mâles et femelles, des régions du centre et sud Tunisien) de la race Barbarine ont été récoltés et l'extraction de l'ADN génomique a été faite. Un fragment du gène GDF9 a été amplifié à partir de l'ADN génomique avec l'amorce proposé par Hanrahan *et al.* (2004). Les produits d'amplification PCR ont été digérés par une enzyme de restriction (DdeI, Fermentas Life Science) qui coupe au niveau du site 5'...C TNAG...3'. La présence du site de restriction indique la présence de l'allèle sauvage, l'absence de digestion mettant en évidence l'allèle muté. La révélation des produits d'amplification du gène cible, ainsi que des produits de digestion, ont été faites sur gel d'agarose 3 %. L'amplification du gène par la technique de PCR en temps réel (PCR-TR) nous a permis de mettre en évidence la présence/absence des mutations ponctuelles (SNP). Le SYBR GREEN a été utilisé comme agent intercalant. La détection de la variation nucléotidique a été faite par la mesure de la quantité de la fluorescence émise lors de la dénaturation des produits PCR.

2. RESULTATS

Les réactions de polymérisation en chaîne (PCR) ont généré une bande de taille 139 pb (Figure 1.a) déjà décrite par Hanrahan *et al.* (2004). La digestion des produits PCR, a donné différents profils de migration. La plupart des individus ont été homozygotes sauvages. Sur les 225 individus analysés, 45 brebis étaient porteuses hétérozygotes et 180 étaient homozygotes sauvages (Figure 1.b). L'absence des homozygotes mutés est expliquée par le mode d'échantillonnage. Les brebis stériles ($FecG^{HH}$) ont été exclues. Ce résultat, a été confirmé par la technique PCR-TR. La présence de deux courbes de fusion indique un changement de la séquence nucléotidique du gène amplifié (Figure 2.). Selon les profils obtenus, par cette technique, on a pu distinguer les différents amplicons en fonction de leurs valeurs de températures de fusion. Les deux génotypes diffèrent par la mutation d'une seule base et on parle dans ce cas de la mutation $FecG^H$.

3. DISCUSSION

L'approche d'identification des mutations, affectant la productivité numérique chez les ovins, a fait l'objet de plusieurs études. Plusieurs, d'entre elles ont confirmé leurs effets additifs sur le taux d'ovulation, la fertilité ou même la

taille de portée (Souza *et al.*, 2001; Hanrahan *et al.*, 2004; Gootwine *et al.*, 2007). Cette mutation $FecG^H$, a été identifiée chez les populations Cambridge et Belclare et présentait un effet additif sur le taux d'ovulation.

Figure 1. Profil de migration des amplicons du gène GDF-9 (a) ; des produits de digestion (b), sur gel d'agarose 3 %. 1,2,3,... : individus de la race Barbarine ; M : marqueur de taille 1 kb (Invitrogen 1 kb ladder).

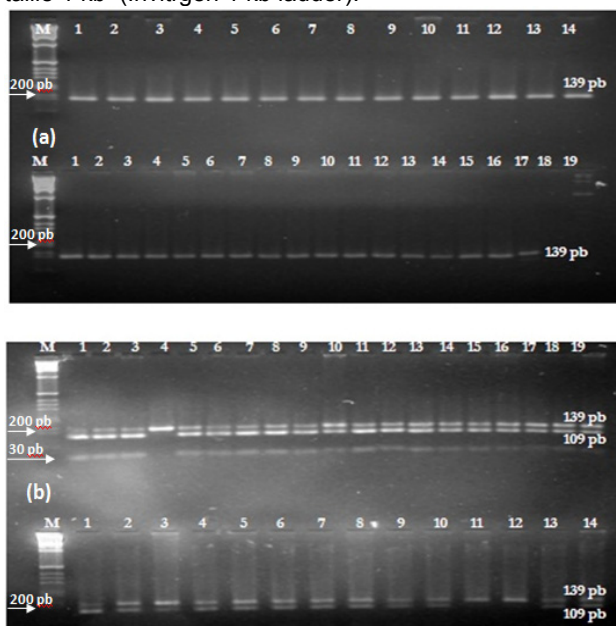
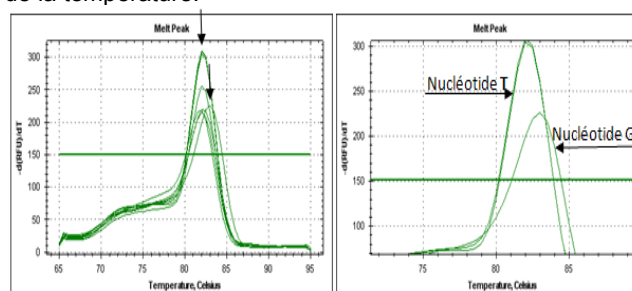


Figure 2. Profil d'amplification en temps réel du gène High fertility (GDF-9), dérivée négative de fluorescence en fonction de la température.



CONCLUSION

L'identification de la mutation $FecG^H$ (S77F), chez des individus de la race Barbarine, représente un atout pour les programmes d'amélioration génétique pour le caractère de prolificité chez les ovins.

Bedhiaf-Romdhani S., Djemali M., Bello A.A., 2008. ISSN 1014-2339, N°. 43, pages. 41-47

Djemali M., Bedhiaf-Romdhani S., Iniguez L., and Innou I., 2008. Livest. Sci. doi:10.1016/j.livsci.2008.07.011.

Gootwine E., Reicher S., Rozov A. 2007. Anim Reprod Sci 108:402-11.

Hanrahan J.P., Gregan S.M., Mulsant P., Mullen M., Davis G.H., Powell R., Galloway S.M., 2004. Biol. Reprod. 70, 900-909.

Souza, C.J.H., MacDougall, C., Campbell, B.K., McNeilly, A.S., Baird, D.T. 2001. J. Endocrinol. 169, R1-R6.