

N° d'ordre: 59/2010-M/SN

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene
Faculté des Sciences Biologiques



Mémoire présenté pour l'obtention du

Diplôme de Magister

Sciences de la Nature

Spécialité: Biologie et Génétique du Développement

Par : M^{elle} **GALLEZE Assia**

Sujet :

**Contribution à la préservation d'une espèce locale
menacée de disparition : Etablissement du caryotype
de la gazelle dorcas *Gazella dorcas***

Soutenu publiquement le 13 / 07 / 2010 devant le jury composé de :

M BOUHADDAD R.	Professeur à l'USTHB	Président
M^{me} LADJALI-MOHAMMEDI K.	Maître de Conférences à USTHB	Directrice de memoire
M SELLAMI M.	Professeur à l'INA, Alger	Examineur
M AMIROUCHE R.	Maître de Conférences à l'USTHB	Examineur
M BELHAMRA M.	Maître de Conférences à l'Université de Biskra	Examineur
M^{elle} FELLOUS A.	Ingénieur à l'ANN	Invitée

Je voudrais dédier ce mémoire à :

Mes parents

Mes sœurs

Mon frère

Mes ami(e)s

Remerciements

*Cette étude a été effectuée au sein de l'équipe de Génétique du Développement (LBCM, FSB, USTHB). Elle s'intègre dans le cadre d'études des espèces menacées de disparition. Je tiens tout particulièrement à remercier ma Directrice de thèse le Docteur *Ladjali Mohammedi Kafia*, maître de conférences à la Faculté des Sciences Biologiques, pour m'avoir initiée au travail de recherche, pour sa disponibilité, sa bienveillance et son soutien permanent. Je lui dois beaucoup pour le contenu du travail présenté, pour ses critiques constructives et son aide aux différentes entraves rencontrées.*

*Je tiens à remercier vivement le Professeur *Bouhaddad R.* d'avoir accepté de présider ce jury.*

*Je remercie sincèrement le Professeur *Sellami M.* de nous avoir honorés de sa présence et d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Je remercie chaleureusement le Docteur *Belhamra M.* d'avoir accepté d'évaluer ce travail et pour tout le soutien et les encouragements apportés à notre équipe.*

*Que le Docteur *Amirouche R.* trouve ici toute ma gratitude et mes sincères remerciements d'avoir accepté de faire partie du jury.*

*Nos remerciements s'adressent à *M^{lle} Fellous A.* qui a aimablement accepté notre invitation pour faire partie de ce jury.*

*Ce mémoire a bénéficié d'une collaboration avec le Parc Zoologique de Ben Aknoun. Je remercie ici le Docteur *Zerrouki S.* ainsi que toute son équipe pour nous avoir accueillies avec beaucoup de gentillesse et sympathie et pour toute l'aide qu'ils nous ont apportée.*

*J'aimerais finalement remercier tous les membres de l'Equipe de Génétique du Développement, avec qui j'ai partagé cette expérience, tout particulièrement à *Rima Lebdioui* pour son aide, sa simplicité et sa bonne humeur et à *Mahiddine Leila* pour sa gentillesse, ses conseils précieux et son bon sens.*

Résumé

La gazelle dorcas *Gazella dorcas* est une espèce des zones désertiques et subdésertiques. Elle est menacée de disparition et elle est classée comme étant vulnérable, dans la liste rouge établie en 2006 par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN).

Plusieurs raisons sont à l'origine de cette menace d'extinction et les plus importantes sont la chasse, le braconnage, l'installation des infrastructures pétrolières et les longues périodes de sécheresse.

Dans le but de contribuer à la préservation de cette espèce menacée, nous avons effectué une étude cytogénétique afin d'entamer la description de son génome. Nous proposons les caryotypes de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* en bandes morphologiques GTG et en bandes dynamiques RBG, pour la première fois. Des cultures de lymphocytes issues d'animaux adultes ont été réalisées. Des synchronisations du cycle cellulaire avec l'incorporation du BrdU, qui est un analogue structural de la thymidine, lors de la réplication de l'ADN, ont été réalisées. Ceci nous a permis d'obtenir des chromosomes à haute résolution très allongés. Le nombre diploïde des chromosomes a été estimé à $2n= 31$ chez le mâle et 30 chromosomes chez la femelle. Nous avons décrit pour la première fois, les chromosomes de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* avec précision et nous avons établi un classement selon le caryotype standard du bœuf (ISCNDA, 1989).

Ainsi, des cartographies chromosomiques comparées ont été réalisées entre la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* et d'autres espèces d'antilopes telles que la gazelle gazelle *Gazella gazella* et la gazelle leptocère *Gazella leptoceros*. En effet, des similitudes ont été mises en évidence entre la morphologie et le motif des bandes GTG, uniquement pour le chromosome 3. Les chromosomes sont nettement différents chez ces deux espèces. Les différences morphologiques seraient certainement le résultat de remaniements chromosomiques ayant eu lieu durant l'évolution. Aussi, des homologies sont décrites dans cette étude entre le caryotype de la gazelle dorcas et le caryotype considéré comme ancestral des bovidés.

Mots clés : Gazelle dorcas *Gazella dorcas*, espèce menacée d'extinction, génome, bovidés, synchronisation, caryotype, cartographie comparée, bandes GTG et RBG.

SOMMAIRE

Introduction Générale.....	1
----------------------------	---

Chapitre I : Rappels bibliographiques

1. La biologie de la gazelle dorcas <i>Gazella dorcas</i>.....	2
1.1. Taxonomie.....	2
1.2. Phylogénie des gazelles.....	2
1.3. Description morphologique.....	6
1.4. Caractéristiques biologiques.....	9
1.5. Répartition géographique.....	9
a. Habitat.....	9
b. Taille de la population.....	9
1.6. Statut et menaces d'extinction.....	12
1.7. Elevage en captivité et statut génétique.....	12
2. Cytogénétique des Bovidés.....	15
2.1. Historique.....	15
2.2. Principes des techniques de cytogénétique.....	15
2.2.1. Synchronisation des cellules.....	17
2.2.2. Marquages chromosomiques.....	17
a. Coloration conventionnelle au Giemsa.....	19
b. Techniques de marquages chromosomiques révélant les bandes morphologiques.....	19
c. Techniques de marquages chromosomiques révélant les bandes dynamiques.....	19
3. Analyse des caryotypes et polymorphisme génétique.....	19
3.1. Caractéristiques du caryotype des Bovidés.....	19
3.2. Caryotype de la gazelle dorcas.....	21
3.3. Caryotypes standards bovins et caprins.....	21
3.3.1. Caryotype standard des bovins.....	21

3.3.2. Caryotype standard des caprins.....	23
3.4. Anomalies chromosomiques et polymorphisme génétique.....	23
4. Etudes génomiques comparatives	26
4.1. Evolution chromosomique des gazelles.....	26
4.2. Cartographie génique.....	29
4.3. Cartographie comparée.....	31
Objectif du travail.....	32

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Matériel biologique.....	33
2. Méthodes.....	33
2.1. Culture de fibroblastes.....	33
2.2. Culture de lymphocytes.....	36
2.2.1. Mise en culture.....	36
2.2.2. Synchronisation des cellules.....	38
2.2.3. Préparation des étalements chromosomiques.....	41
a. Accumulation des cellules mitotiques.....	41
b. Traitement hypotonique.....	42
c. Fixation.....	42
d. Etalement ;;.....	43
3. Techniques de cytogénétiques.....	43
3.1. Techniques de marquages chromosomiques.....	43
3.1.1. Coloration conventionnelle au Giemsa.....	43
3.1.2. Coloration chromosomiques en bandes.....	44
a. Technique de marquage révélant les bandes structurales GTG (Bandes G- Trypsine- Giemsa).....	44
b. Technique de marquage révélant des bandes dynamiques RBG (Bandes R- BrdU- Giemsa).....	45
4. Classification des chromosomes et établissement de caryotypes.....	46

Chapitre III : Résultats

1. Matériel animal.....	48
2. Cultures cellulaires.....	48
3. Synchronisation du cycle cellulaire et obtention des chromosomes.....	48
4. Marquages chromosomiques et première description des chromosomes de la gazelle dorcas en bandes structurales GTG.....	50
5. Marquages chromosomiques et première description des chromosomes de la gazelle dorcas en bandes structurales RBG.....	56

Chapitre IV : Discussions

1. Cultures cellulaires.....	63
2. Marquages chromosomiques et description précise des chromosomes de la gazelle dorcas.....	63
3. Cartographies Chromosomiques Comparées.....	64
3.1. Comparaisons des caryotypes de la gazelle dorcas et de la gazelle gazella.....	67
3.1. Comparaisons des caryotypes de la gazelle dorcas et de la gazelle leptocère.....	70
Conclusion et perspectives.....	73
Références Bibliographiques.....	74
Annexes.....	85

Abréviations

ADN: Acide Désoxyribonucléique
ARN: Acide Ribonucléique
AT: paire de bases Adénine-Thymine
BAC: Bacterial Artificial Chromosome
BrdU: 5-Bromo-2'-déoxyUridine
CDP: Cytidine Diphosphate
CITES: Commerce International des Espèces de Faune et de Flore Sauvages Menacées
d'Extinction
CMS : Convention sur les Espèces Migratrices
dCDP : désoxyCytidine Diphosphate
DMSO: Diméthylsulfoxyde
dNTP: désoxyriboNucléotide Triphosphate
dTTP: désoxyThymidine Triphosphate
dUDP: désoxyUridine Diphosphate
EDTA: Ethylène Diamine Tétracétate
FdU: 5-Fluoro-2'-déoxyUridine
FPG: Fluorochrome-Photolyse-Giemsa
GC: paire de bases Guanine-Cytosine
HEPES: acide (N-[2-hydroxyethyl]-1-piperazine-N'-[2-ethanesulfonique])
kb: kilobase
pb: paire de bases
pg: picogramme
PHA: Phytohémagglutinine
rpm: rotation par minute
RPMI: Roswell Park Memorial Institute
SVF: Sérum de Veau Foetal
UDP : Uridine Diphosphate
UICN: Union Internationale pour la Conservation de la Nature
UV: Ultraviolet
YAC: Yeast Artificial Chromosome

Liste des Figures

Figure 1 : Cladogramme résumé des bovidés.....	03
Figure 2 : Arbre phylogénique des Antilopinés réalisé après une étude des séquences nucléotidiques des cytochromes b et c oxydase III de l'ADN mitochondrial.....	05
Figure 3 : Gazelle dorcas <i>Gazella dorcas</i> de sexe femelle en captivité au Parc Zoologique de Ben Aknoun.....	07
Figure 4 : Les différentes morphologies des cornes de quatre espèces de gazelles.....	07
Figure 5: Répartition de la gazelle dorcas à travers l'Algérie.....	08
Figure 6: Distribution géographique des sous-espèces de la gazelle dorcas.....	10
Figure 7 : Aire de distribution de la gazelle dorcas en Algérie.....	13
Figure 8 : Une jeune gazelle dorcas dans l'enclos d'El Bayadh.....	14
Figure 9 : Caryotype en bandes GTG de la gazelle dorcas du Parc Zoologique de San Diego.....	20
Figure 10 : Caryotype en bandes GTG de la gazelle dorcas du Parc Zoologique de Vincennes.....	20
Figure 11 : Caryotype standard du bœuf <i>Bos taurus</i>	22
Figure 12 : Caryotype standard en bandes RBG de la chèvre <i>Capra hircus</i>	24
Figure 13 : (a) : Comparaison du chromosome 9 en bandes RBG de la chèvre et du bœuf. (b) : Comparaison du chromosome sexuel Y entre la chèvre et le bœuf. (c) : Comparaison du chromosome sexuel X entre la chèvre et le bœuf.....	24
Figure 14: Caryotype en bande GTG de la gazelle de sable <i>Gazella subgutturosa</i>	25
Figure 15 : Micrographie en microscopie électronique du noyau au stade Pachytène de la méiose de la gazelle de sable.....	25
Figure 16: Chromosomes sexuels de la gazelle <i>Gazella rufifrons</i> en bande GTG.....	27
Figure 17 : Phylogénie chromosomique des gazelles.....	28
Figure 18 : Comparaison du chromosome sexuel X entre le mouton, le bœuf et l'homme.....	30
Figure 19: Gazelle dorcas <i>Gazella dorcas</i> de sexe mâle en captivité au Parc Zoologique de Ben Aknoun.....	34

Figure 20: Gazelle dorcas <i>Gazella dorcas</i> de sexe femelle en captivité au Parc Zoologique de Ben Aknoun.....	34
Figure 21 : (A), (B) et (C) : Prélèvement du sang de la gazelle dorcas de sexe mâle à partir de la veine jugulaire.....	37
Figure 22 : Etapes de synchronisation des cellules de la gazelle dorcas adulte.....	39
Figure 23: Mécanisme du blocage de la synthèse de l'ADN par la Thymidine utilisée pour la synchronisation des cultures cellulaires.....	40
Figure 24 : Culot cellulaire après synchronisation cellulaire.....	49
Figure 25 : Chromosomes en prométaphase de la gazelle dorcas adulte de sexe femelle observés au microscope optique en contraste de phase.....	49
Figure 26: Métaphase de la gazelle dorcas de sexe mâle, en bandes GTG.....	51
Figure 27: Caryotype en prométaphase des bandes GTG de la gazelle dorcas <i>Gazella dorcas neglecta</i> de sexe mâle du Parc Zoologique de Ben Aknoun.....	54
Figure 28: Caryotype en bandes GTG de la gazelle dorcas <i>Gazella dorcas neglecta</i> de sexe femelle du Parc Zoologique de Ben Aknoun.....	55
Figure 29: Métaphase de la gazelle dorcas <i>Gazella dorcas neglecta</i> de sexe femelle, après coloration en bandes RBG.....	57
Figure 30: Caryotype en prométaphase des bandes RBG de la gazelle dorcas <i>Gazella dorcas</i> de sexe mâle du Parc Zoologique de Ben Aknoun.....	60
Figure 31: Caryotype en bandes RBG de la gazelle dorcas <i>Gazella dorcas</i> de sexe femelle du Parc Zoologique de Ben Aknoun.....	61
Figure 32: Comparaison des chromosomes en bandes GTG de la gazelle dorcas <i>Gazella dorcas neglecta</i> avec les chromosomes de la gazelle dorcas du Parc Zoologique de Vincennes.....	64
Figure 33 : Comparaison des chromosomes de la gazelle dorcas en bandes GTG avec les chromosomes du bœuf <i>Bos taurus</i>	66
Figure 34 : Caryotype de la gazelle <i>Gazella gazella</i> en bandes GTG.....	68
Figure 35 : Comparaison du chromosome 12 en bandes GTG de la gazelle dorcas <i>Gazella dorcas neglecta</i> et de la gazelle gazella avec les chromosomes homologues du bœuf.....	69
Figure 36 : Similitudes et différences des chromosomes en bandes GTG de la gazelle dorcas <i>Gazella dorcas neglecta</i> avec les chromosomes de la gazelle leptocère <i>Gazella leptoceros</i>	71
Figure 37: Eventuels réarrangements chromosomiques à l'origine de la formation des chromosomes métacentriques, des chromosomes	

acrocentriques et des chromosomes télocentriques qui se seraient produits durant l'évolution des gazelles.....	72
--	----

Liste des Tableaux

Tableau I : Détermination du genre <i>Gazella</i>	04
Tableau II : Liste des différentes espèces de gazelles avec leur localisation géographique ainsi que leur statut de protection.....	11
Tableau III : Techniques de marquages des chromosomes.....	16
Tableau IV : Code des techniques de marquages chromosomiques.....	18
Tableau V : Chromosomes mesurés (cm) avec le logiciel Adobe Photoshop 8.0, en bandes GTG de la gazelle <i>Gazella dorcas neglecta</i> de sexe mâle et femelle.....	52
Tableau VI : Chromosomes mesurés (cm) avec le logiciel Adobe Photoshop 8.0, en bandes RBG de la gazelle <i>Gazella dorcas neglecta</i> de sexe mâle et femelle.....	58

*INTRODUCTION
GÉNÉRALE*

Introduction Générale

Au cours de ces dernières décennies, la chasse intensive et organisée, le braconnage, l'accroissement des activités humaines et les influences anthropiques ont profondément contribué à la disparition de plusieurs espèces d'ongulés sauvages.

Actuellement, parmi les nombreuses espèces qui figurent comme étant vulnérables dans la liste rouge établie par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN, 2006), on retrouve la gazelle dorcas *Gazella dorcas*. Cette espèce est intégrée dans un programme de reproduction en captivité des espèces de faune Sahélo-Sahariennes menacées de disparition, proposé par l'Agence Algérienne pour la Conservation de la Nature (ANN). La gazelle dorcas est également protégée, en Algérie, par la loi 04-07 du 14 Août 2004, relative à la chasse et l'ordonnance 06-05 du 15 juillet 2006, relative à la protection et à la préservation de certaines espèces animales menacées de disparition.

Le caryotype de la gazelle dorcas a été déjà établi dans le cadre d'une étude phylogénique afin de reconstituer l'histoire évolutive des gazelles. Cependant, aucune étude n'a été consacrée à la description précise et individuelle des chromosomes de cette espèce. Dans le but d'entamer l'analyse du génome de cette antilope, une étude cytogénétique à partir d'individus adultes a été effectuée, pour la première fois en Algérie. Ainsi, ce travail permet d'établir le caryotype en bandes structurales GTG et dynamiques RBG, pour la première fois. Une comparaison des chromosomes de cette espèce avec les chromosomes d'autres espèces d'antilopes comme la gazelle gazelle *Gazella gazella* et la gazelle leptocère *Gazella leptoceros* a été établie. Aussi, des homologies sont décrites dans cette étude entre le caryotype de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* et le caryotype du bœuf qui est considéré comme ancestral.

La première partie de cette étude est consacrée à un rappel bibliographique sur les connaissances en taxonomie et en phylogénie de la gazelle dorcas *Gazella dorcas*. Nous parlerons ensuite des données cytogénétiques et génomiques et des travaux sur les caryotypes réalisés sur les différentes espèces de gazelles.

La seconde partie a pour objet d'expliquer notre démarche expérimentale, réalisée au Laboratoire de Génétique du Développement, pour l'établissement des cultures de lymphocytes. En effet, le sang a été prélevé sur des gazelles mâles et femelles grâce à une collaboration avec le Parc Zoologique de Ben Aknoun. Nous décrivons ensuite la synchronisation avec de la thymidine, en excès, qui permet d'obtenir des chromosomes en prométaphases. Les caryotypes en bandes morphologiques GTG et dynamiques RBG seront alors décrits.

Après la présentation des résultats, nous les discuterons par l'établissement d'une analyse comparative des chromosomes de l'espèce locale *Gazella dorcas* avec ceux de la gazelle dorcas du Parc Zoologique de Vincennes, pour laquelle seul le caryotype en bande GTG a été établi, et dont l'origine de la sous-espèce étudiée reste inconnue (Vassart *et al.*, 1995). Enfin, nous terminerons cette étude par des conclusions et des perspectives.

RAPPELS
BIBLIOGRAPHIQUES

1. La biologie de la gazelle dorcas *Gazella dorcas*

1.1. Taxonomie

La gazelle dorcas *Gazella dorcas* appartient à l'embranchement des Chordata, la classe des Mammalia, l'ordre des Artiodactyla et la famille des Bovidae. Cette famille comprend une vingtaine d'espèces réparties dans les genres *Gazella*, *Antilope*, *Procapra*, *Antidorcas*, *Litocranius* et *Ammodorcas* (O'Regan, 1984; Corbet et Hill, 1986; Groves, 1988). Cette antilope appartient au sous genre *Gazella* et à son groupe central à l'intérieur duquel les limites spécifiques ne sont pas entièrement définies (Groves, 1969; O'Regan, 1984; Corbet et Hill, 1986). La gazelle dorcas comprend cinq sous-espèces qui se différencient par leur morphologie et leur distribution géographique. Ces sous-espèces peuvent être divisées en deux groupes. Le premier groupe du Sahara comprend les gazelles *Gazella dorcas dorcas* (Linnaeus, 1758), *Gazella dorcas massaesyla* (Cabrera, 1928) et *Gazella dorcas neglecta* (Blaine, 1913). Ces dernières sont de petites tailles et de couleur pâle. Alors que le deuxième groupe des collines de la mer rouge comprend les gazelles *Gazella dorcas isabella* (Gray, 1846) et *Gazella dorcas pelzelni* (Kohl, 1886). Ces gazelles sont plus grandes et de couleur plus foncée (Yom-Tov *et al.*, 1995).

1.2. Phylogénie des gazelles

La famille des bovidés (Figure 1) est l'une des plus diversifiée au sein des grands mammifères avec près de 140 espèces actuellement recensées. La caractéristique phénotypique de cette famille est la présence des cornes, constituées d'un pivot osseux non ramifié et d'un étui de kératine permanent, chez les mâles et parfois chez les femelles. Le registre paléontologique indique une soudaine apparition des bovidés en Eurasie et en Afrique depuis plus de 20 millions d'années (Buntjer *et al.*, 1997; Gatesy *et al.*, 1997; Montgelard *et al.*, 1997). La classification des bovidés est encore en pleine évolution. La plupart des études de morphologies s'accordent pour définir une douzaine de tribus à l'intérieur de cette famille mais les relations de parenté entre ces divers ensembles restent énigmatiques. Une analyse de 40 loci par électrophorèse des protéines a été proposée chez les bovidés (Georgiadis *et al.*, 1990). Une autre étude phylogénique basée sur la comparaison des séquences d'ADN mitochondrial de 15 espèces a montré que les bovidés sont monophylétiques (groupes incluant un ancêtre et la totalité de ses descendants) et comprennent deux clades (regroupement d'individus basé sur des parentés phylogénétiques). Le premier clade comprend les tribus Boselaphini, Bovini et Tragelaphini. Le deuxième clade comprend le groupe des Antilopini et Néotragini (Allard *et al.*, 1992).

Dans la tribu des Antilopini, la classification du genre *Gazella* est l'une des plus confuses de tous les mammifères (Grzimek, 1968; Corbet, 1978; Honacki *et al.*, 1982; O'Regan, 1984; Spinage, 1986; Benirschke et Kumamoto, 1988; Haltenorth et Diller, 1988; Le Berre, 1990; Corbet et Hill, 1991). La description de la coloration du pelage, du crâne et des squelettes est couramment utilisée pour la classification (Tableau I) (Bouet, 1933; Jeanin, 1945; Dekeyser, 1955; Panouse, 1957; Cokrum, 1989). Toutefois, dans le genre *Gazella* ces caractéristiques ne sont pas distinctes. La tribu des Antilopini comporte 19 espèces, parmi lesquelles 14 espèces appartiennent au genre *Gazella* (Corbet et Hill, 1991). La diversité génétique des espèces du genre *Gazella* a été évaluée par électrophorèse des protéines. En effet, une proximité génétique a été détectée pour les différentes sous-espèces de la gazelle *Gazella gazella* (*Gazella gazella gazella*, *Gazella gazella erlangeri*, *Gazella gazella cora* et *Gazella gazella farasani*) qui ont des caryotypes identiques. Les distances génétiques entre les sous-espèces

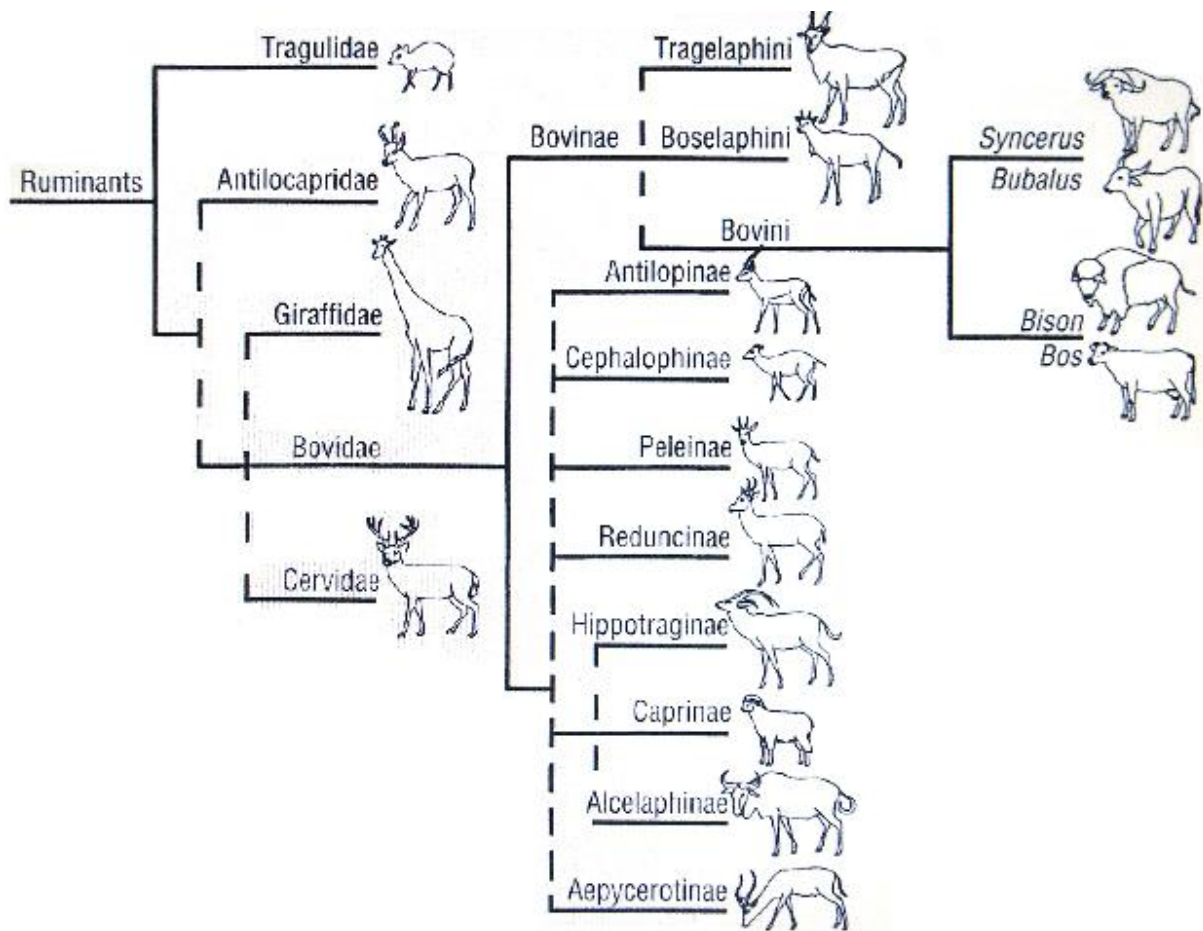


Figure 1 : Cladogramme résumé des Bovidés. Présentation des différentes sous familles des bovidés (Buntjer *et al.*, 1997; Gatesy *et al.*, 1997; Montgelard *et al.*, 1997).

Tableau I : Détermination du genre *Gazella* (Bouet, 1933; Jeanin, 1945; Dekeyser, 1955; Panouse, 1957; Cokrum, 1989).

Espèces	Caractéristiques
<i>Gazella dama</i>	Les dimensions de la tête et du corps sont supérieures à 125 cm. La hauteur au garrot est supérieure ou égale à 95cm et la longueur de la queue est supérieure ou égale à 35cm avec l'absence de bande brune ou noire sur les flancs. Les cornes sont en forme de lyres, massives, courtes et fortement annelées. La taille du crâne est supérieure à 21cm et les fosses préorbitales sont très petites. La sous-espèce <i>Gazella dama dama</i> est de couleur très foncée. La teinte rousse s'étend du dos aux flancs et se prolonge sur les pattes.
<i>Gazella cuvieri</i>	Le pelage brun grisâtre est épais avec des taches rougeâtres. La hauteur au garrot dépassant 65cm chez les adultes. La taille du crâne est supérieure à 15cm.
<i>Gazella leptoceros</i>	La couleur générale est pâle. Les cornes sont peu recourbées en arrière et parallèles et les fosses préorbitales sont petites. La sous-espèce <i>Gazella leptoceros loderi</i> est de grande taille. Les cornes du mâle atteignent couramment 35cm et les records dépassent 40cm.
<i>Gazella dorcas</i>	La couleur est plus foncée. La ligne sur les flancs et celle qui lie les yeux aux narines est légèrement sombre que sablonneux. Les fosses préorbitales sont grandes. Les cornes sont en forme de lyre incurvées vers l'arrière. Les cornes de la <i>Gazella dorcas neglecta</i> sont dirigées vers l'intérieur et nettement tournées en avant à leurs pointes qui sont beaucoup plus rapprochées. Les cornes de la <i>Gazella dorcas dorcas</i> sont en forme de lyre et légèrement recourbées vers l'arrière.

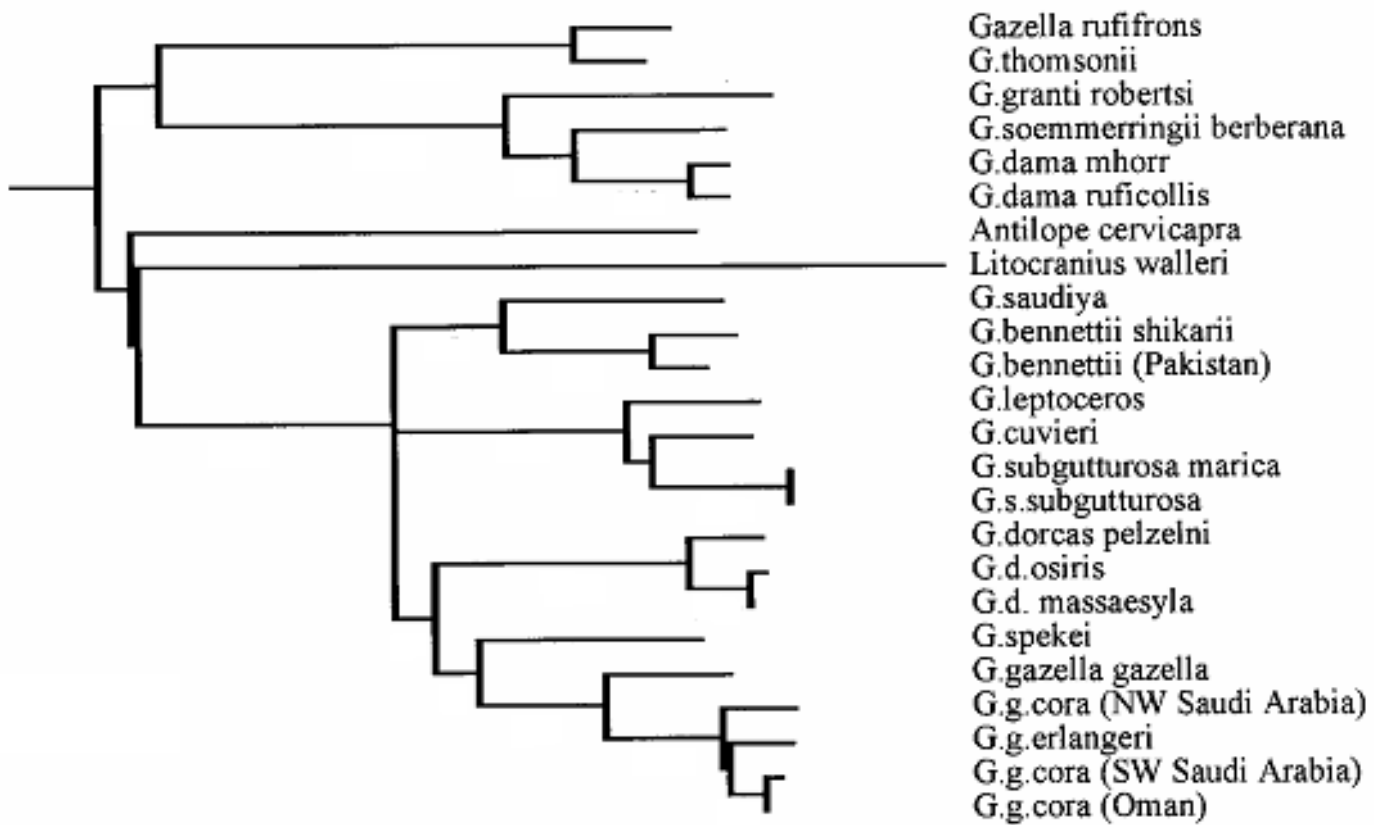


Figure 2: Arbre phylogénique des Antilopinés, réalisé après une étude des séquences nucléotidiques des cytochromes b et c oxydase III de l'ADN mitochondrial. Le genre *Gazella* est subdivisé en 5 groupes. (1) *G. dama*, *G. granti* et *G. soemmerringii*, (2) *G. rufifrons* et *G. thomsonii*, (3) *G. subgutturosa*, *G. leptoceros* et *G. cuvieri*, (4) *G. saudiya* et *G. bennettii*. (5) *G. dorcas*, *G. gazella* et *G. spekei* (Rebholz et Harley, 1999).

déduites des résultats d'électrophorèse des protéines sont faibles. Ces résultats confirment leur appartenance à une même espèce (Vassart *et al.*, 1995). Ces travaux ont également montré l'importance du polymorphisme Robertsonien (variation du nombre de chromosomes entre individus d'une même espèce par des phénomènes de fusion-fission chromosomiques) chez la gazelle *Gazella subgutturosa marica* et la gazelle *Gazella dama* et le polymorphisme du chromosome Y chez *Gazella gazella gazella*. L'analyse génétique permet de déterminer le statut taxonomique et phylogénétique de ces espèces. L'étude des séquences nucléotidiques du cytochrome b et le cytochrome c oxydase III de l'ADN mitochondrial a permis de construire l'arbre phylogénétique qui montre que les Antilopini sont monophylétiques (groupes incluant un ancêtre et la totalité de ses descendants) et que le genre *Gazella* est subdivisé en cinq groupes. En effet, le premier groupe comprend *Gazella dama*, *Gazella granti* et *Gazella soemmerringii*. Le deuxième groupe est constitué de *Gazella rufifrons* et *Gazella thomsonii*. Le troisième groupe est formé de *Gazella subgutturosa*, *Gazella leptoceros* et *Gazella cuvieri*. Le quatrième groupe est constitué de *Gazella saudiya* et *Gazella bennettii*. Enfin, le cinquième groupe comprend *Gazella dorcas*, *Gazella gazella*, et *Gazella spekei* (Figure 2) (Rebholz et Harley, 1999).

La taxonomie de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* reste très confuse. Plusieurs travaux ont été consacrés à l'étude du statut taxonomique des sous-espèces (Lydekker et Blaine, 1914; Groves et Harrison, 1967; Groves, 1969; Lange, 1972; Rostron, 1972; Corbet, 1978; Ferguson, 1981; Groves, 1981; Groves, 1983). Une analyse des liaisons entre différentes variables (dimensions du crâne, de la mâchoire et la forme et la taille des cornes) et des ressemblances entre les individus a été réalisée (Alados, 1987). Cette étude, a révélée la présence de deux sous-espèces de gazelle dorcas en Algérie. La gazelle *Gazella dorcas dorcas* est largement distribuée à travers le pays. Alors que, la gazelle *Gazella dorcas neglecta* est localisée dans le Sud et dans le Hoggar. Ces deux espèces se différencient par la morphologie des cornes (Lavauden, 1926).

1.3. Description morphologique

La gazelle dorcas *Gazella dorcas* est une petite gazelle à la robe fauve pâle et au ventre blanc. La limite entre la zone dorsale et ventrale est soulignée par une bande plus ou moins foncée sur les flancs (Figure 3). Cet animal pèse entre 15 et 20 Kg et est d'une longueur comprise entre 90 cm et 110 cm avec une hauteur au garrot de 55 cm à 65 cm. Les cornes sont de 20 à 40 cm de longueur et sont en forme de lyre (dirigées vers l'arrière et divergentes) chez le mâle, mais plus fines, plus courtes et moins annelées chez la femelle. Par ailleurs, la morphologie des cornes est parmi les caractères phénotypiques les plus importants pour l'identification des différentes espèces de gazelles. En Algérie, la gazelle dorcas *Gazella dorcas*, la gazelle du Sahara *Gazella leptoceros*, la gazelle de cuvier *Gazella cuvieri* et la gazelle dama *Gazella dama* sont les quatre espèces de gazelles recensées. Les cornes de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* (Figure 4A) sont en forme de lyre, annelées, incurvées vers l'arrière et divergentes puis recourbées à l'intérieur avec des extrémités pointées vers le haut (Yom-Tov *et al.*, 1995). La gazelle dama *Gazella dama* (Figure 4B) présente des cornes courtes, épaisses, fortement annelées, parallèles dans leur tiers inférieur, puis recourbées vers l'arrière en forme de S (Mallon et Kingswood, 2001). La gazelle de cuvier *Gazella cuvieri* (Figure 4C) présente des cornes longues (25 à 37 cm) et bien annelées chez les deux sexes. Elles sont parallèles puis divergent vers l'arrière et l'extérieur. Les pointes lisses se courbent vers l'intérieur et vers l'avant (Groves, 1988; Kingdon, 1997). Les cornes de la gazelle leptocère *Gazella leptoceros* (Figure 4D) sont longues, portées droites, divergentes et presque rectilignes chez les deux sexes avec 20 à 25 anneaux bien marqués. Elles sont plus larges et plus longues chez les mâles, jusqu'à 35 à 40 cm (Groves, 1988).



Figure 3 : Gazelle dorcas *Gazella dorcas* de sexe femelle en captivité au Parc Zoologique de Ben Aknoun (02-03-2009).

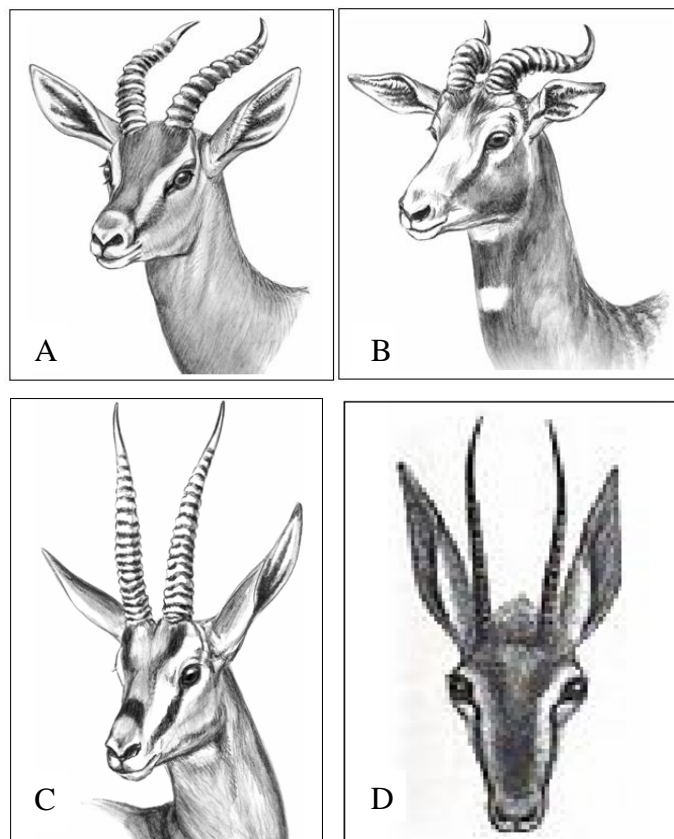


Figure 4 : Les différentes morphologies des cornes de quatre espèces de gazelles. A : Gazelle dorcas *Gazella dorcas*. B : Gazelle dama *Gazella dama*. C : Gazelle cuvier *Gazella cuvieri*. D : Gazelle femelle du Sahara *Gazella leptoceros* (Groves, 1988; Yom-Tov *et al.*, 1995; Kingdon, 1997; Mallon et Kingswood, 2001).

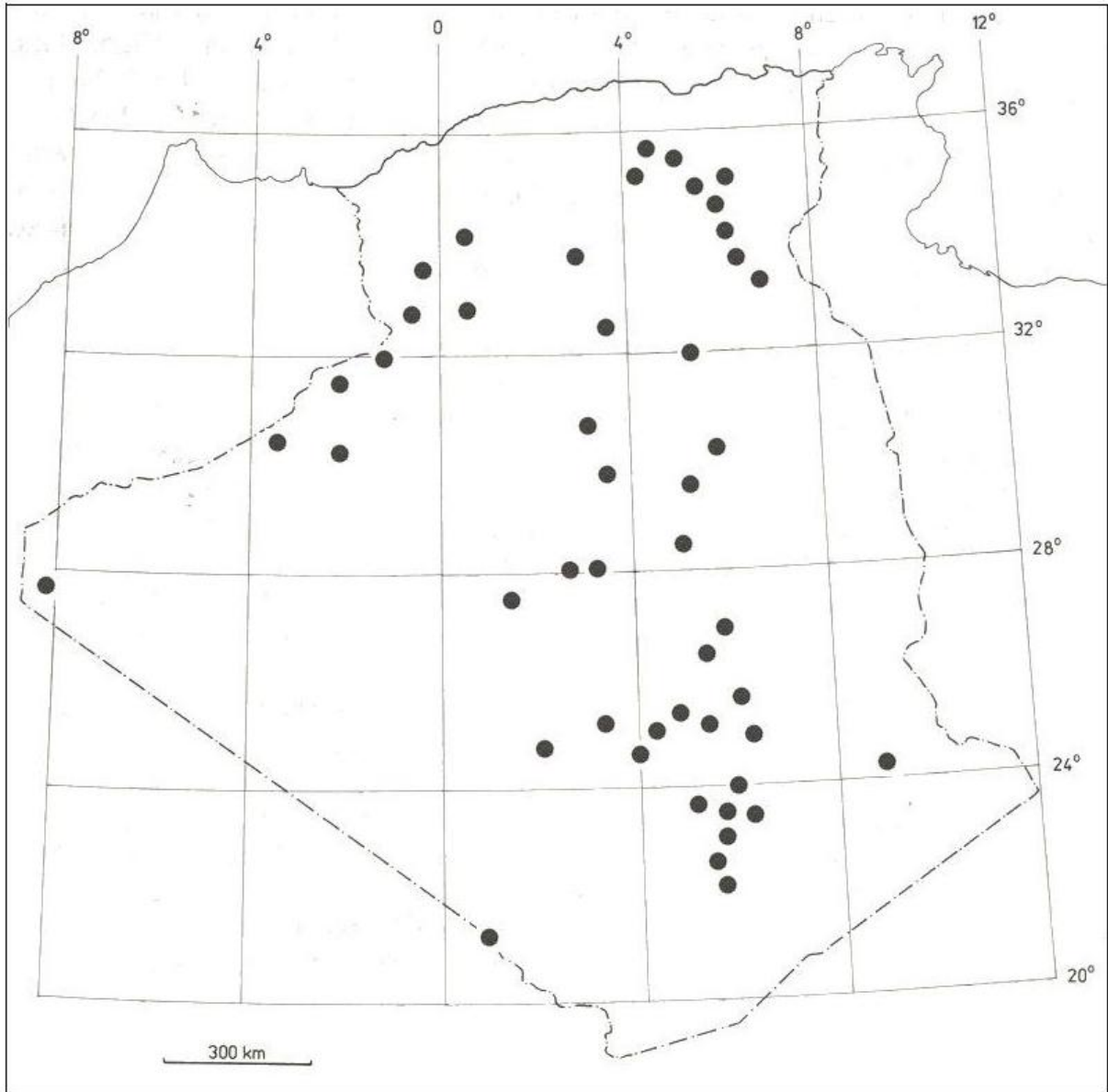


Figure 5 : Répartition de la gazelle dorcas à travers l'Algérie (Kowalski et Rzebik, 1991).
 ● : Présence de l'espèce.

1.4. Caractéristiques biologiques

L'alimentation de la gazelle dorcas dépend des conditions de son habitat et des disponibilités de la nourriture. En effet, cette espèce se nourrit de plantes pérennes herbacées ou buissonnantes (Carlisle et Ghobrial, 1968; Newby, 1974; Osborn et Helmy, 1980; Grettenberger *et al.*, 1986). Pendant la saison sèche, elle peut se passer d'eau et subvient à ses besoins en sélectionnant des plantes à forte teneur en eau (Osborn et Helmy, 1980). La maturité sexuelle est atteinte vers l'âge de deux ans. La période de rut s'étend du mois de Novembre jusqu'à la fin du mois de Décembre. Pendant cette période aussi bien le comportement du mâle que celui de la femelle change. La femelle qui refusait la compagnie du mâle, cherche le contact et s'apprête à l'accouplement en relevant sa queue et en courbant son échine pour faciliter la saillie. Après 160 à 180 jours de gestation, les femelles mettent bas un seul jeune à la fois (Abaigar *et al.*, 2009).

1.5. Répartition géographique

La gazelle dorcas *Gazella dorcas* est une espèce des zones désertiques et subdésertiques. Elle peuple les hauts plateaux, le Sahara, le Tassili et l'Ahaggar (Figure 5) (Loche, 1858; Lataste, 1885; Battandier et Trabut, 1898; de Smet, 1989; Le Berre, 1990; Kowalski et Rzebik, 1991). Les différentes sous-espèces de cette gazelle se trouvent dans toute la région Sahélo-Saharienne de l'Océan Atlantique jusqu'à la Mer Rouge, dans tout le Sinaï et le Sud d'Israël et de la Mer Méditerranée au Sud du Sahel (Yom-Tov *et al.*, 1995; Riede, 2001; Mallon et Kingswood, 2001). La gazelle *Gazella dorcas pelzelni* est localisée dans la région Somalienne. *Gazella dorcas dorcas* est rencontrée dans le désert occidental d'Egypte, alors que *Gazella dorcas isabella* vit dans le désert oriental et les collines de la Mer Rouge. On retrouve la gazelle *Gazella dorcas massaesyala* sur les Hauts Plateaux Marocains et dans le Sahara Atlantique et ses abords. *Gazella dorcas neglecta* est rencontrée dans le Sahel, les massifs Centro-Sahariens et les abords septentrionaux du Sahara Occidental (Figure 6) (Groves, 1969; Osborn et Helmy, 1980; Alados, 1987; Groves, 1988).

a- Habitat

La gazelle dorcas *Gazella dorcas* se déplace en petits groupes de 2 à une quinzaine d'individus. Elle a été observée dans les oueds, les plateaux, les canyons, les plaines herbeuses, les déserts de sable et arides, les abords d'oasis, les ergs, les chotts, les sebkas et les dunes (Lavauden, 1926c; Dupuy, 1966; Osborn et Helmy, 1980; Kowalski et Rzebik-Kowalska, 1991; Kacem *et al.*, 1994). Elle habite les Hauts Plateaux, le Grand Erg Oriental, le Grand Erg Occidental, les plaines côtières, les dépressions du désert et dans les montagnes du Hoggar, jusqu'à 2000 mètres d'altitude (Dupuy, 1967; Osborn et Helmy, 1980).

b- Taille de la population

Les effectifs de la gazelle dorcas ont été réduits et l'espèce a été éliminée dans les parties importantes de son aire de répartition (Dragesco – Joffe, 1993). Cette espèce vit dans les aires protégées allant des régions sub-humides jusqu'aux frontières Maliennes. Elle est installée dans les Parcs nationaux tels que le Parc National de Belezma, la réserve de chasse du Djebel Aissa et surtout dans les wilayas du sud (Tamanrasset et Adrar). Une enquête récente, menée par la Direction Générale des Forêts, sur l'identification des aires de répartition des antilopes Sahélo-Sahariennes en Algérie a estimé 619 individus de gazelle dorcas. Ces gazelles sont présentes dans 13 Wilayas et 21 communes (02 Wilayas de l'Atlas Telliens, 05 Wilayas du semi aride et 06 Wilayas du climat aride).

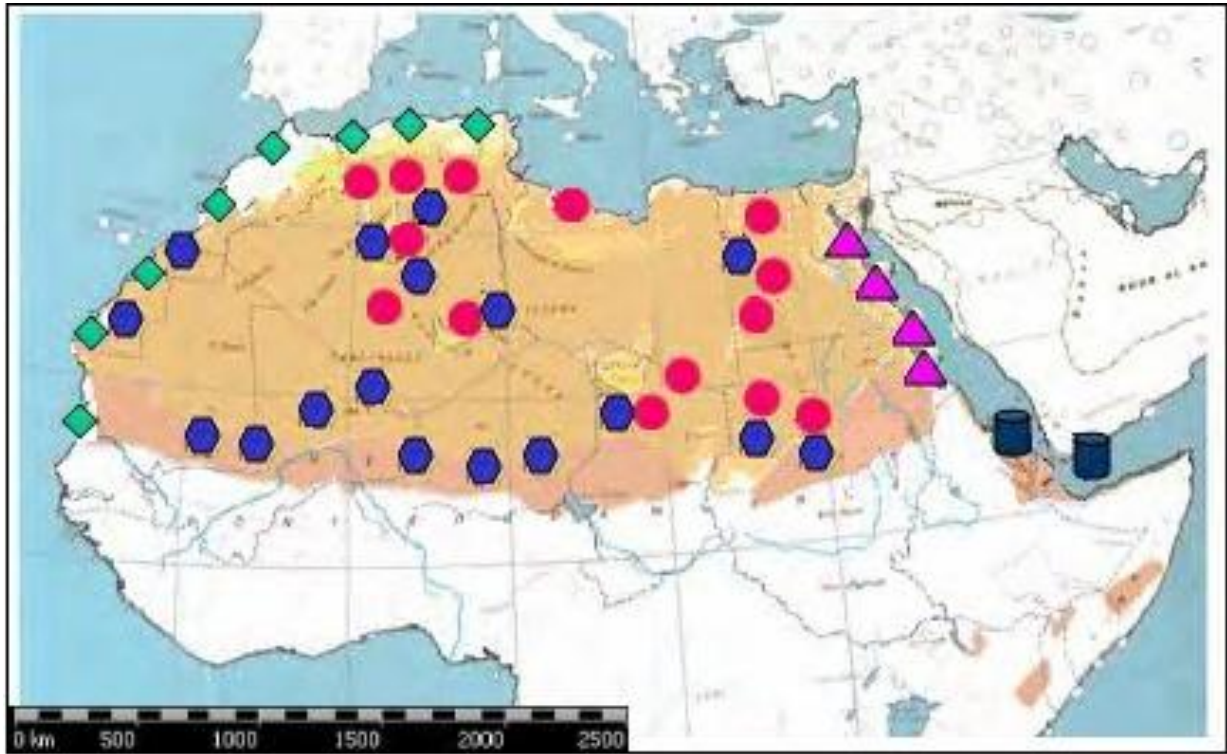


Figure 6 : Distribution géographique des sous-espèces de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* (Mallon et Kingswood, 2001).

◆ : *Gazella dorcas massaesyala* ; ● : *Gazella dorcas neglecta* ; ● : *Gazella dorcas dorcas* ;
 ▲ : *Gazella dorcas isabella* ; ■ : *Gazella dorcas pelzelni*.

Tableau II : Liste des différentes espèces de gazelles avec leur localisation géographique ainsi que leur statut de protection (UICN, 2007).

Espèces	Localisations	Risque d'extinction
<i>Gazella arabica</i> (Lichtenstein, 1827)	Proche-Orient	éteinte
<i>Gazella bennettii</i> (Sykes, 1831)	Asie	préoccupation mineure
<i>Gazella bilkis</i> (Groves et Lay, 1985)	Proche-Orient	éteinte
<i>Gazella cuvieri</i> (Ogilby, 1841)	Afrique du Nord	en danger
<i>Gazella dama</i> (anc. <i>Nager dama</i>) (Pallas, 1766)	Afrique	en danger critique
<i>Gazella dorcas</i> (Linnaeus, 1758)	Afrique, Proche-Orient	vulnérable
<i>Gazella gazella</i> (Pallas, 1766)	Proche-Orient	vulnérable
<i>Gazella granti</i> (Brooke, 1872)	Afrique	faible risque
<i>Gazella leptoceros</i> (F. Cuvier, 1842)	Afrique	en danger
<i>Gazella rufifrons</i> (Gray, 1846)	Afrique	vulnérable
<i>Gazella rufina</i> (Thomas, 1894)	Afrique du Nord	éteinte
<i>Gazella saudiya</i> (Carruthers et Schwarz, 1935)	Proche-Orient	éteinte à l'état sauvage
<i>Gazella soemmeringi</i> (Cretzschmar, 1828)	Afrique	vulnérable
<i>Gazella spekei</i> (Blyth, 1863)	Afrique de l'Est	en danger
<i>Gazella subgutturosa</i> (Güldenstaedt, 1780)	péninsule Arabique, Asie centrale	vulnérable
<i>Gazella thomsonii</i> (Günther, 1884)	Afrique de l'Est	faible risque

1.6. Statut et menaces d'extinction

L'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) a établi une liste rouge de toutes les espèces de gazelles menacées de disparition (Tableau II). La gazelle dorcas *Gazella dorcas* est classée comme étant Vulnérable, avec une population en régression. Son aire de distribution ne cesse de régresser en Algérie (Figure 7). Les périodes de sécheresses connues entre les années 1980 et 1990 dans le Sud de l'Algérie ont fortement affecté la productivité des milieux. Par conséquent, les facteurs qui viennent d'être cités ont entraîné la migration des populations de gazelles dorcas vers les régions les plus propices. Ainsi l'accroissement de la pression démographique, l'élevage de grands troupeaux d'ovins et caprins, l'installation des infrastructures pétrolières accentuent l'effet de la désertification dans les milieux naturels. Ces derniers sont déjà fragilisés par de longues périodes de sécheresse, d'où la régression du couvert végétal. L'apparition d'armes à feu modernes, la construction d'un important réseau routier et le développement des moyens de transport, en particulier les voitures tous terrains, ont entraîné une intensification de la chasse et du braconnage des différentes espèces de gazelles (CMS, 2006).

Dans le but de protéger la biodiversité et les ressources naturelles, le gouvernement Algérien a promulgué ses premières lois sur la Chasse et la Protection de l'Environnement en 1982. Celles-ci ont été suivies par plusieurs décrets et arrêtés complémentaires établissant les listes des espèces de faune et de flore sauvages protégées. La gazelle dorcas *Gazella dorcas* est protégée par la loi 04-07 du 14 Août 2004, relative à la chasse et l'ordonnance 06-05 du 15 juillet 2006, relative à la protection et à la préservation de certaines espèces animales menacées de disparition. La gazelle dorcas *Gazella dorcas* est aussi inscrite à l'Annexe I de la Convention de Bonn sur les espèces migratrices et à l'Annexe III de la Convention de Washington sur le commerce internationale des espèces de faune et de flore menacée. Le projet soutenu par le Fonds Français pour l'Environnement Mondial (FFEM) est une mise en application du Plan d'Action de la Convention sur les Espèces Migratrices de la Faune Sauvage (CEM) pour la restauration et la conservation des Antilopes Sahélo-Sahariennes dans 14 pays (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye, Égypte, Mauritanie, Sénégal, Mali, Niger, Tchad, Soudan, Burkina Faso, Nigeria et Éthiopie). Actuellement, il concerne 7 pays (Tunisie, Niger et Mali, Maroc, Mauritanie, Sénégal et Tchad). Ce projet a pour but d'atténuer la diminution rapide des espèces d'antilopes qui sont en danger critique d'extinction ou en sérieux déclin (l'Oryx algazelle, l'Addax, la gazelle dama, la gazelle leptocère, la gazelle de Cuvier et la gazelle dorcas). Ainsi, l'Algérie dans son programme sur la stratégie nationale sur la biodiversité, a mis en place un réseau des aires protégées et des centres d'élevage. Le Projet des Nations Unies pour le Développement (PNUD), lancé par la Direction Générale des Forêts en collaboration avec les Nations Unies, vise la conservation de la biodiversité et la gestion durable dans les zones arides.

1.7. Elevage en captivité

L'élevage en captivité a permis de collecter de nombreuses informations sur les gazelles de Cuvier, les gazelles dorcas et les gazelles Speke (Read et Frueh, 1980; Kranz *et al.*, 1983; Olmedo *et al.*, 1985). Chez cette dernière espèce, l'insémination avec du sperme frais a été réussie. Dans la collection d'Almeria, en Espagne, un programme de gestion génétique a permis de limiter les effets négatifs de la consanguinité dans les populations captives (Alados et Escos, 1991). L'objectif était d'augmenter la taille de la population afin d'éviter les risques d'extinction. L'influence de la consanguinité sur la longévité, fécondité, survie des jeunes, la prolificité et le poids à la naissance a été étudiée chez les gazelles dama, dorcas et de Cuvier (Alados et Escos, 1991) de la collection d'Almeria en Espagne.

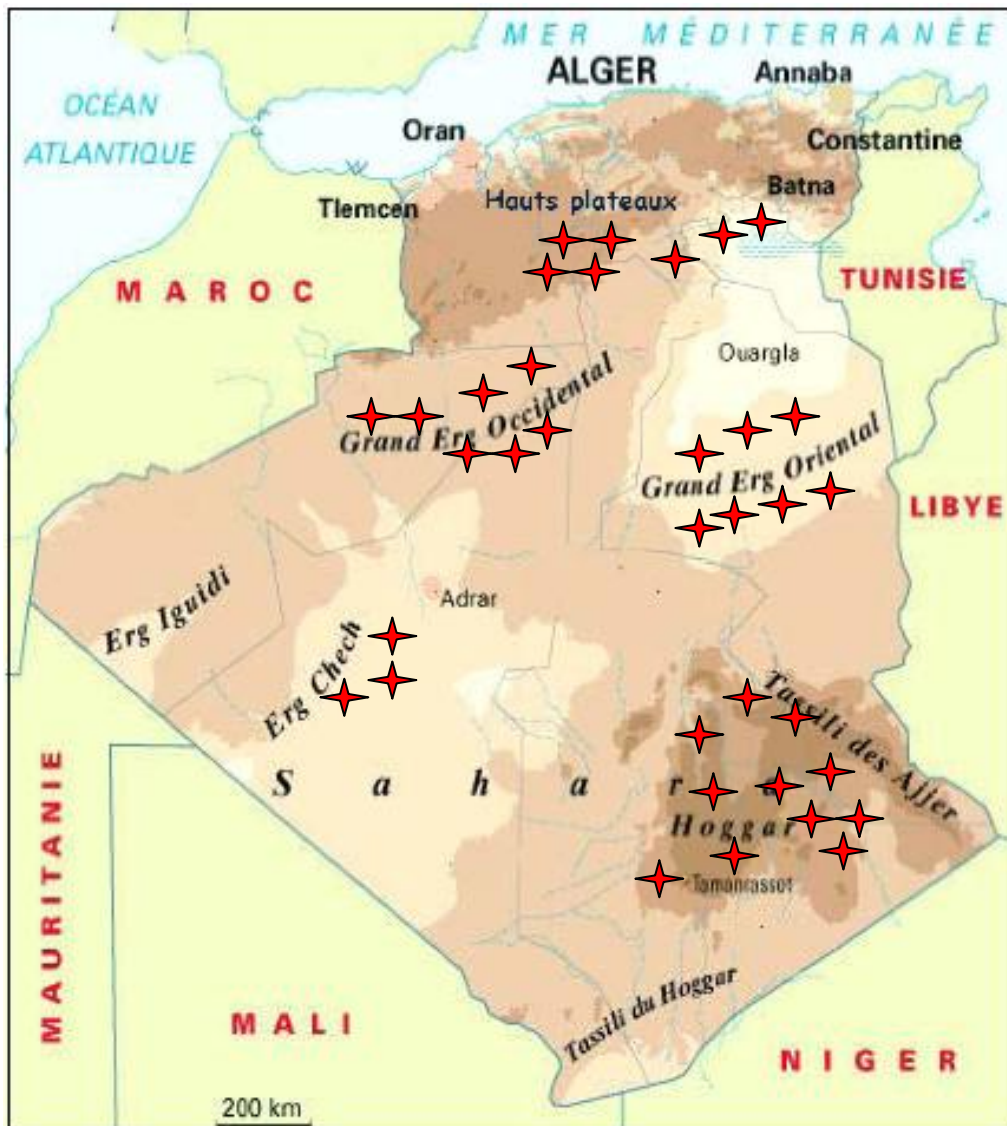


Figure 7: Distribution géographique de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* en Algérie (Selon CMS, 2006). ★ : Présence de l'espèce.



Figure 8: Une jeune gazelle dorcas *Gazella dorcas* dans l'enclos d'El Bayadh (Fellous, 2000).

En Algérie, les populations de gazelles sont gérées à l'échelle Nationale par la Direction Générale des Forêts (DGF) et à l'échelle Régionale par les Conservations des Forêts et des Parcs. La gazelle dorcas *Gazella dorcas* est intégrée dans un programme de reproduction en captivité des espèces menacées de disparition proposé par l'Agence Nationale pour la Conservation de la Nature (ANN). Ce projet a été concrétisé par la mise en place d'une station d'élevage dans la région de Brezina (Wilaya d'El Bayadh) en Août 2000 (Figure 8). La population des gazelles dorcas de la station de Brezina, avait atteint 32 individus en Octobre 2008 avec 13 mâles et 19 femelles issues de 5 individus. Ces animaux sont placés dans un enclos de 7,8 Hectares. Les gazelles captives de la station de Brezina sont issues de populations sauvages capturées par les habitants locaux de l'Erg Occidental et de la région d'El Bayadh. La provenance des parents est importante à connaître pour les gazelles dorcas puisque cette espèce présente une confusion taxonomique (Abaigar *et al.*, 2009).

2. Cytogénétique des Bovidés

2.1. Historique

La cytogénétique est une science qui permet une analyse individuelle des chromosomes. Elle s'est développée avec la détermination du nombre exacte ($2n=46$) de chromosomes humains (Tjio et Levan, 1956). Après, les études du caryotype se sont étendues à de nombreux mammifères (Hsu et Benirschke, 1967; Matthey, 1973). Cependant, ce n'est qu'avec la mise au point des techniques de colorations et de marquages chromosomiques que la cytogénétique a connu un développement considérable (Casperson *et al.*, 1970; Dutrillaux et Lejeune, 1971; Seabright, 1971; Sumner *et al.*, 1971). L'appariement des chromosomes homologues est devenu possible, ainsi que la classification selon des critères morphologiques pour chaque espèce. Ensuite, les techniques de marquages chromosomiques ont été développées et ont permis d'identifier avec précision les chromosomes et de détecter les anomalies structurales (Dutrillaux, 1973; Popescu, 1990; Hayes, 1993; Ladjali *et al.*, 1995; Vassart *et al.*, 1995). Les chromosomes sont constitués d'une molécule d'ADN associée à de nombreuses autres molécules, principalement des histones. Le degré de compaction de l'ADN varie au cours du cycle cellulaire. La métaphase représente l'étape où les chromosomes sont individualisés. Ceci est réalisé par l'addition de la colchicine qui inhibe la formation du fuseau mitotique et empêche la progression de la mitose vers l'anaphase. Les cellules sont mises en milieu hypotonique afin de faciliter la dispersion des chromosomes. Ensuite, ces préparations sont traitées, fixées et étalées sur les lames (Comings, 1978).

2.2. Principes des techniques de cytogénétique

L'analyse chromosomique nécessite la préparation de lames riches en étalements chromosomiques analysables, obtenues après la mise en culture de lymphocytes stimulés par un agent mitogène ou à la suite de cultures primaires de fibroblastes. Chez les mammifères, les lymphocytes B et T sont les seules cellules du sang susceptibles d'être transformées en cellules actives et proliférantes. Cette transformation de lymphoblastes est induite *in vivo* par des antigènes et peut être stimulée *in vitro* par des composés tels que les lectines. Les lymphocytes peuvent être mis en culture soit à partir de sang total (Moorhead *et al.*, 1960), soit après séparation par centrifugation en gradient de densité (Boyum, 1968). La culture de fibroblastes est difficile à réaliser sur des animaux adultes car la biopsie peut causer des arrêts cardiaques. Aussi, les prélèvements ne peuvent pas être conservés plus de 24 heures avant la mise en culture (Caspersson *et al.*, 1970).

Tableau III: Techniques de marquages des chromosomes (Comings, 1978; Hayes, 1993; Ladjali, 1994).

Marquages	Principe	Auteurs
Bandes G (Giemsa)	Coloration de l'euchromatine riche en AT (réplication tardive, faible densité en gènes) en utilisant soit l'action de la trypsine soit une dénaturation par la chaleur des différents composés protéiques et nucléiques.	Seabright, 1971; Evans <i>et al.</i> , 1973; Schnedl et Czaker, 1974; Stock <i>et al.</i> , 1974; Carlenius <i>et al.</i> , 1981; Schmid <i>et al.</i> , 1989; Ladjali <i>et al.</i> , 1995.
Bandes R (Reverse)	Coloration de l'euchromatine riche en GC (réplication précoce, forte densité en gènes) par dénaturation thermique.	Schweizer, 1976; Schmid <i>et al.</i> , 1978; Carlenius <i>et al.</i> , 1981; Di Bernardino et Innuzzi, 1982; Hayes <i>et al.</i> , 1991; Ponce de leon <i>et al.</i> , 1992; Ladjali <i>et al.</i> , 1995.
Bandes Q	Coloration de l'euchromatine riche en AT par la Quinacrine ou DAPI.	Bloom et Goodpasture, 1976; Gustavsson <i>et al.</i> , 1976a; Hansen, 1973; Fritschi et Stranzinger, 1985.
Bandes C (centromère)	Coloration de l'hétérochromatine constitutive (ADN répété, réplication tardive) par un traitement à l'hydroxyde de baryum (BaOH) et coloration au Giemsa.	Pardue et Gall, 1970; Evans <i>et al.</i> , 1973; Schnedl et Czaker, 1974; Carlenius <i>et al.</i> , 1981; Pollock et Fechheimer, 1981.
Bandes NOR	Coloration des régions organisatrices du nucléole par la méthode Ag-NOR technique de précipitation argentique utilisant une solution de nitrate d'argent.	Bloom et Bacon, 1985; Auer <i>et al.</i> , 1987; Mayr <i>et al.</i> , 1987; Di Meo <i>et al.</i> , 1991.
Bandes T	Coloration des régions télomériques.	Dutrillaux, 1973.

2.2.1. Synchronisation des cellules

La culture cellulaire permet d'obtenir des préparations chromosomiques à différents stades de condensation. En métaphase, les chromosomes sont compacts et courts, avec pour conséquence une diminution du nombre de bandes révélées par les techniques de marquages. L'identification des chromosomes est plus facile et plus exacte si le nombre de bandes détectées est plus grand et la définition de leur motif est meilleure.

La synchronisation des cellules, à l'aide de la thymidine (précurseur de la thymine), l'améthoptérine, l'aminoptérine et le 5-Fluoro-2'-déoxyUridine (FdU) permet d'accumuler un maximum de cellules au stade de prométaphase. La thymidine, ajoutée en excès au milieu de culture, provoque le blocage du cycle cellulaire d'une façon réversible pendant la phase S de synthèse de l'ADN par inhibition de la synthèse de la 2'-déoxycytidine, un des triphosphates nécessaire à la réplication de l'ADN. Le traitement des chromosomes par des techniques de marquage produit des bandes ayant une haute résolution (Viegas Piquiniot et Dutrillaux, 1978; Hayes, 1993; Ladjali *et al.*, 1995).

2.2.2. Marquages chromosomiques

L'établissement des caryotypes, consiste à classer les chromosomes selon leur taille (généralement par ordre décroissant), la position du centromère et le profil des bandes. La coloration au Giemsa permet d'avoir une idée précise de la morphologie générale des chromosomes (Dutrillaux et Couturier, 1981). Les techniques de bandes chromosomiques permettent la mise en évidence d'une succession de bandes présentant des propriétés fonctionnelles et structurales particulières caractérisant chaque paire chromosomique (Tableau III). Cela est réalisable grâce à des réactions biochimiques faisant intervenir les composants des chromosomes (ADN et protéines), la réplication de l'ADN et la condensation des chromatides (Comings, 1978; Hayes, 1993; Ladjali, 1994).

- **Marquage de l'hétérochromatine**

L'hétérochromatine est constituée de séquences d'ADN hautement répétées qui se répliquent tardivement durant la phase S de synthèse de l'ADN. C'est une fraction qui ne se décondense pas durant l'interphase et qui se situe dans les régions juxta-centromériques de tous les chromosomes. L'hétérochromatine est mise en évidence par des techniques de marquages dites bande C (Summer, 1972). Les bandes C sont révélées après des traitements successifs dans des conditions acides, alcalines et salines à une température élevée puis une coloration au Giemsa est effectuée (Comings *et al.*, 1973). Une autre technique, les bandes Ag-NOR, consiste en la coloration des organisateurs nucléolaires, situés sur les bras des chromosomes acrocentriques chez l'homme (Bloom et Goodpasture, 1976).

- **Marquage de l'euchromatine**

L'euchromatine est révélée par les méthodes de marquages chromosomiques produisant les bandes Q, R et G et correspondant à l'ADN transcrit. La dénomination des bandes Q (de Quinacrine), G (de Giemsa) et R (de Reverse) provient des types de traitements et de colorations employés. Ainsi, une succession de bandes est obtenue. Ces bandes sont soit intensément colorées et elles sont dites bandes positives, ou légèrement colorées correspondant aux bandes négatives. Les motifs des bandes Q induits par la quinacrine résultent d'une excitation différentielle du fluorochrome selon la richesse de l'ADN en séquences AT. Les bandes R correspondent aux régions de l'euchromatine riches en GC. Elles font intervenir un traitement thermique qui dénature les segments les plus sensibles.

Tableau IV: Code des techniques de marquages chromosomiques (Conférence de standardisation des chromosomes humains, 1971; Hayes, 1993; Ladjali, 1994).

Code	Type de marquage chromosomique et bandes révélées
GTG	Bandes G, par action de la Trypsine, colorées au Giemsa.
GBG	Bandes G, par incorporation du 5-Bromo-2'-déoxyUridine (BrdU), colorées au Giemsa.
GAG	Bandes G, par l'action d'une solution saline, colorées au Giemsa.
CBG	Bandes C, par l'action de l'hydroxyde de Barium, colorées au Giemsa.
RFA	Bandes R, Fluorescentes, colorées par l'Acridine orange.
RHG	Bandes R, dénaturation thermique (Heat), colorées au Giemsa.
RBG	Bandes R, par incorporation du BrdU, colorées au Giemsa.
RBA	Bandes R, par incorporation du BrdU, colorées par l'Acridine orange.
RBP	Bandes R, par incorporation du BrdU, colorées à l'iodure de Propidium.
QFQ	Bandes Q, Fluorescentes, colorées par la Quinacrine.
QFH	Bandes Q, Fluorescentes, colorées au Hoechst 33258

Les motifs des bandes G sont obtenus par digestion grâce à des enzymes protéolytiques comme la trypsine (Dutrillaux *et al.*, 1971; Ladjali *et al.*, 1995). Les structures mises en évidence par les différentes méthodes de coloration ont été répertoriées et classifiées suivant un code de trois lettres (Tableau IV). Dans ce code la première lettre définit le type de bandes, la deuxième la nature de la technique et la troisième le colorant utilisé (Hayes, 1993; Ladjali, 1994).

a) Coloration conventionnelle au Giemsa

La coloration au Giemsa représente la coloration la plus utilisée car elle permet d'avoir une idée précise de la morphologie générale des chromosomes. Le Giemsa est aussi utilisé pour la révélation des marquages induits par certains traitements de marquages chromosomiques (Couturier *et al.*, 1973).

b) Techniques de marquages chromosomiques révélant les bandes morphologiques

Les mécanismes des différentes techniques révélant les bandes structurales reposent uniquement sur la structure intrinsèque des chromosomes qui ne nécessite aucun traitement préalable. Les méthodes révélant les bandes morphologiques G utilisent soit l'action d'une enzyme protéolytique, soit des conditions douces de dénaturation. Ces traitements agissent sur les liaisons stabilisant la structure des composés protéiques ou nucléiques de la chromatine (Dutrillaux *et al.*, 1972; Ladjali *et al.*, 1995).

c) Techniques de marquages chromosomiques révélant les bandes dynamiques

Les bandes R correspondent aux régions de l'euchromatine riches en GC (Comings, 1973; Dutrillaux et Covic, 1974). Les techniques de marquage révélant les bandes dynamiques impliquent l'incorporation d'un analogue structural de la thymidine qui est le 5-bromo-2'-désoxyuridine (BrdU) dans l'ADN chromosomique durant la phase S (synthèse de l'ADN) du cycle cellulaire. L'incorporation du BrdU est à peu près équivalente dans toutes les cellules récoltées. Ce type de méthode est appliqué sur des cellules synchronisées pour lesquelles, la majorité est au même stade de division. Grâce aux propriétés de photo-décomposition des segments chromosomiques ayant incorporé le BrdU, plusieurs méthodes ont été développées permettant de colorer de manière différentielle ces régions. Le dessin des bandes ainsi obtenues est reproductible et caractéristique du stade pendant lequel le BrdU est ajouté et de la durée de son incorporation (Zakharov et Egorina, 1968; Ladjali *et al.*, 1995).

3. Analyse des caryotypes et polymorphisme génétique

3.1. Caractéristiques du caryotype des bovidés

Les bovidés constituent une famille très intéressante pour l'étude de l'évolution des caryotypes. Cette famille comprend 123 espèces et 45 genres regroupés en neuf sous familles (Bovinae, Caprinae, Hippotraginae, Reduncinae, Alcelaphinae, Antilopinae, Cephalophinae, Aepycerotinae et Peleinae). Les réarrangements chromosomiques qui se sont produits dans cette famille durant l'évolution peuvent être regroupés en quatre régions chromosomiques (autosomes, gonosomes, centre organisateur nucléolaire et l'hétérochromatine). Des études comparatives utilisant une combinaison de techniques d'hybridation *in situ* en fluorescence et de marquages chromosomiques ont permis d'apporter des informations fondamentales sur cette famille de bovidés (Iannuzzi, 2008).

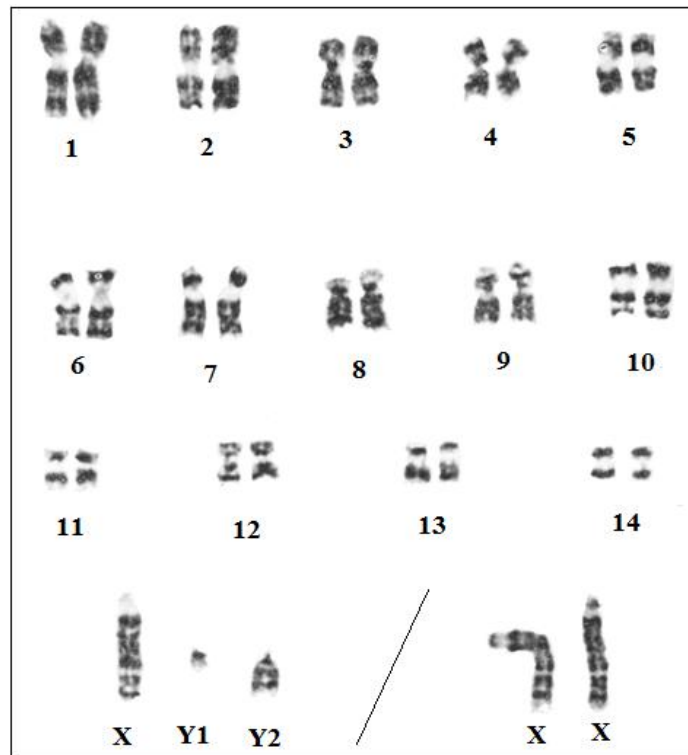


Figure 9 : Caryotype en bandes GTG de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* du Parc Zoologique de San Diego. Ce dernier contient 28 autosomes décrits comme métacentriques, un chromosome sexuel X acrocentrique, un chromosome sexuel Y1 acrocentrique et un autosome Y2 qui est également acrocentrique (Efron *et al.*, 1976).

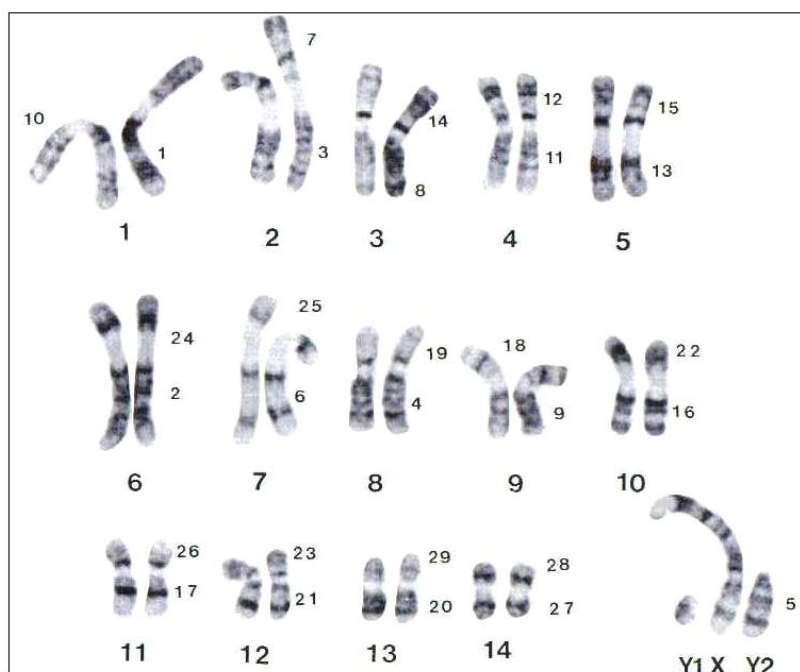


Figure 10 : Caryotype en bandes GTG de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* du Parc Zoologique de Vincennes (Vassart *et al.*, 1995). Les chiffres à droite des chromosomes indiquent l'homologie avec les chromosomes standards du bœuf (ISCNDA, 1989).

En effet, le nombre de chromosomes diploïde varie entre 30 à 60 mais le nombre fondamental (FN) est généralement constant et est de 58 chromosomes, à l'exception de l'antilope tétracère *Tetracerus quadricornis* (38 chromosomes), la gazelle de Thomson *Gazella thomsoni* (72 chromosomes) et le dik dik *Rhyncotragus kirki* (50 chromosomes) (Wurster et Benirschke, 1968). La réduction du nombre de chromosomes est accompagnée par la formation de bras autosomiques à partir des fusions centriques, suivie par la perte de l'hétérochromatine constitutive (Todd, 1975). Les autosomes acrocentriques sont conservés chez toutes les espèces (Efron *et al.*, 1976). Les chromosomes sexuels ont fait l'objet d'une évolution complexe qui a abouti à des modifications de la morphologie (position du centromère), de la taille (variation de la concentration de l'hétérochromatine) et l'ordre des gènes (inversion). Les chromosomes sexuels ont fusionné avec les autosomes chez certaines espèces (Gallagher et Womack, 1992). Les centres organisateurs nucléolaires sont souvent présents au niveau des télomères de différents chromosomes de nombreuses espèces (Gallagher *et al.*, 1999).

3.2. Caryotype de la gazelle dorcas *Gazella dorcas*

Un premier caryotype de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* en bandes a été proposé (Efron *et al.*, 1976). Ce caryotype a été réalisé à partir de cultures de lymphocytes et de fibroblastes prélevés sur des individus du Parc Zoologique de San Diego. Ce caryotype comporte 31 chromosomes chez le mâle et 30 chromosomes chez la femelle (Figure 9). Le caryotype du mâle est composé d'un chromosome sexuel X qui est acrocentrique, d'un chromosome sexuel Y1 qui est acrocentrique et d'un autosome nommé Y2 qui est également acrocentrique. Ce chromosome Y2 est issu de remaniements chromosomiques de types translocations à partir d'un caryotype qui serait ancestral. Le caryotype en bande C de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* montre qu'il y a très peu d'hétérochromatine au niveau des centromères sur les autosomes. Alors que le bras court du chromosome X est riche en hétérochromatine (Efron *et al.*, 1976).

Afin de reconstituer l'évolution phylogénétique des gazelles, une étude comparative des caryotypes de différentes espèces de gazelles a été établie (Vassart *et al.*, 1995). Aucune description avec précision des chromosomes de la gazelle dorcas n'a été proposée. Ainsi, seul le caryotype en bandes GTG a été établi (Figure 10). Comme il n'existe pas de nomenclature internationale pour les chromosomes des espèces sauvages, les chromosomes de la gazelle dorcas ont été classés selon leurs homologies avec les chromosomes du caryotype standard des bovins (ISCNDA, 1989). Le caryotype standard du bœuf est considéré comme l'homologue du caryotype ancestral des bovidés, ceci permet l'identification des chromosomes et l'extrapolation des données de la cartographie bovine sur le génome des gazelles (Gallagher *et al.*, 1999).

3.3. Caryotypes standards bovins et caprins

3.3.1. Caryotype standard des bovins

L'application des techniques de marquages chromosomiques sur les métaphases des animaux domestiques, a permis d'établir différents systèmes de nomenclatures cytogénétiques. L'accumulation des données sur les gènes clonés a nécessité la mise en place de caryotypes standards pour les espèces domestiques. Ceci afin d'élaborer des nomenclatures de référence pour établir des cartographies chromosomiques. Un premier caryotype standard du bœuf *Bos taurus* a été proposé (Reading Conference, 1980). Les profils des bandes chromosomiques ont été décrits sur la base des différentes études précédentes (Lin *et al.*, 1977).

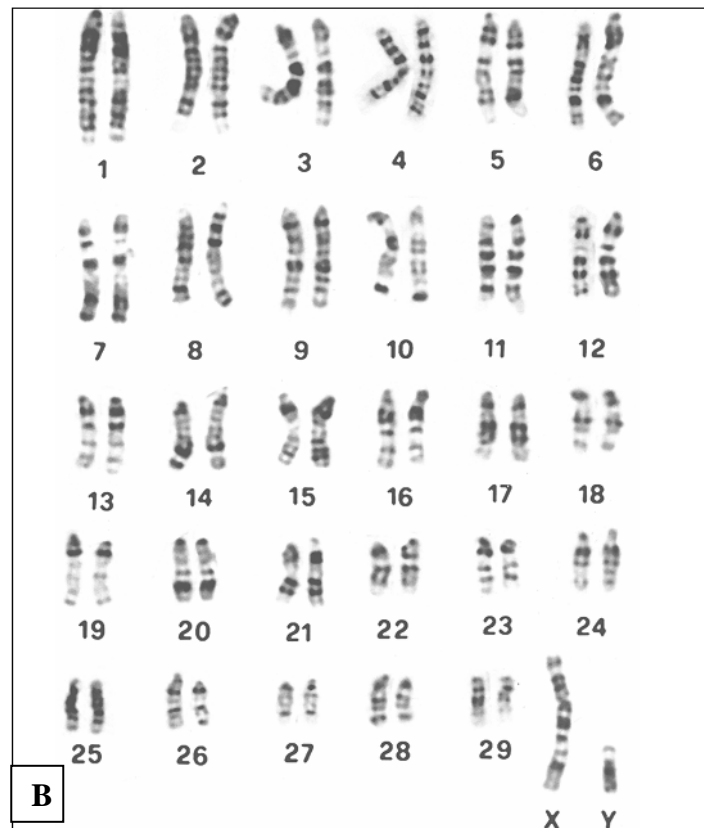
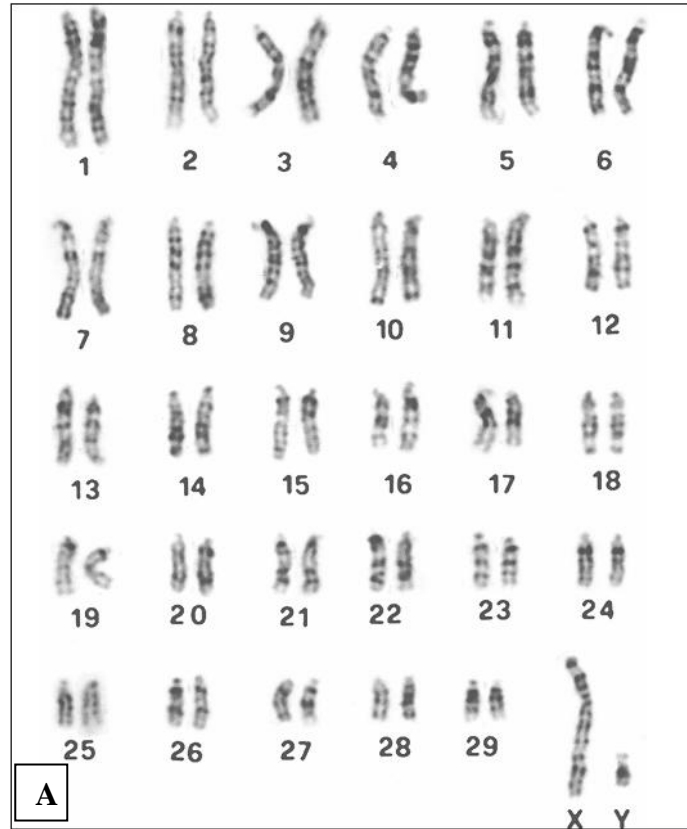


Figure 11 : Caryotype standard du bœuf *Bos taurus*. (A) : en bandes morphologiques GTG. (B) : en bandes dynamiques RBG (ISCNDA, 1989).

Par la suite un caryotype standard en bandes G et R a été établi (Di Berardino et Iannuzzi, 1982; Di Berardino *et al.*, 1985; Iannuzzi *et al.*, 1989). L'application des techniques de synchronisation des cultures cellulaires sur des cellules de bovin a permis l'établissement d'un caryotype à haute résolution en bandes G et R sur les chromosomes en prométaphase (Figure 11). Ceci facilite l'identification des chromosomes, la description des anomalies chromosomiques et la représentation des idiogrammes. Le caryotype des bovins est constitué de 29 paires de chromosomes tous acrocentriques, d'un chromosome sexuel X qui est submétacentrique et d'un chromosome sexuel Y submétacentrique (ISCNDA, 1989; Iannuzzi, 1990; Iannuzzi *et al.*, 1990; Di Berardino *et al.*, 1991; Hayes *et al.*, 1991; Iannuzzi et Di Meo, 1996).

3.3.2. Caryotype standard des caprins

L'examen du profil des bandes G et R du bœuf *Bos taurus* et de la chèvre *Capra hircus* montre un degré d'homologie élevé entre les chromosomes des espèces à l'exception du chromosome 9 et des chromosomes sexuels X et Y (Evans *et al.*, 1973; Schnedl et Czaker, 1974; Buckland et Evans, 1978; Di Berardino *et al.*, 1987; Menscher *et al.*, 1989). Les similitudes entre les chromosomes du bœuf et de la chèvre ont permis d'établir le caryotype standard de la chèvre en bandes R (Figure 12). Les chromosomes ont été classés selon le caryotype standard en bandes R du bœuf (ISCNDA, 1989).

Le chromosome 9 de la chèvre *Capra hircus* (Figure 13a) semble être différent de celui du bœuf *Bos taurus*. La bande négative située au milieu du chromosome 9 est plus pâle chez le bœuf. Cependant, le nombre de bandes chromosomiques en dessous de cette région est plus élevé chez la chèvre. Ceci suggère qu'une inversion paracentrique est survenue pendant ou après la divergence, à partir d'un ancêtre commun, des Bovinae et Caprinae durant l'évolution. Le chromosome sexuel Y de la chèvre (Figure 13b) est punctiforme et métacentrique. Tandis qu'il est plus grand et submétacentrique chez le bœuf. Le chromosome sexuel X de la chèvre (Figure 13c) est subtélocentrique, alors qu'il est submétacentrique chez le bœuf. Ces différences chromosomiques pourraient être le résultat d'une inversion péricentrique (Evans *et al.*, 1973; Schnedl et Czaker, 1974). En effet, une partie du bras long du chromosome sexuel X de la chèvre ressemble étroitement au bras long du chromosome sexuel X du bœuf si ce dernier est retourné. Ce qui suggère que des réarrangements chromosomiques complexes se seraient produits durant l'évolution à savoir, l'addition de l'hétérochromatine et des remaniements intrachromosomiques (Hayes *et al.*, 1991).

3.4. Anomalies chromosomiques et polymorphisme génétique

La première anomalie chromosomique décrite chez le bœuf *Bos taurus*, est une translocation Robertsonienne qui implique le chromosome 1 et le chromosome 29 (Gustavsson et Rockborn, 1964). Cette translocation résulte de la jonction centromérique de deux chromosomes acrocentriques non homologues appartenant aux paires 1 et 29, après deux cassures autour du centromère et formant par la suite un seul chromosome submétacentrique. Ceci aboutit à la réduction du nombre total à 59 chromosomes chez les porteurs hétérozygotes et à 58 chromosomes chez les porteurs homozygotes au lieu de 60 chromosomes chez les bovins normaux (Di Meo *et al.*, 2006). La gazelle de sable *Gazella subgutturosa*, présente un nombre de chromosomes diploïde variable de 30, 31 et 32 chez la femelle, alors qu'il est de 31, 32 et 33 chromosomes chez les mâles (Wurster, 1972; Effron *et al.*, 1976; Benirschke et Kumamoto, 1988; Kingswood et Kumamoto, 1988; Vassart *et al.*, 1993).

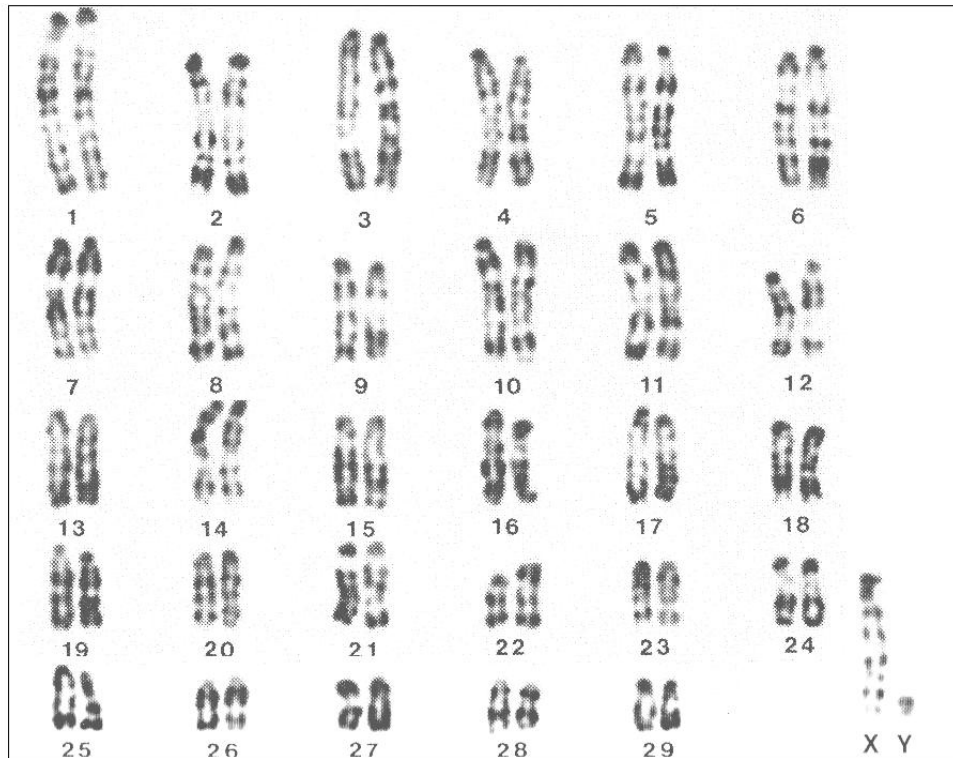


Figure 12 : Caryotype standard en bandes RBG de la chèvre *Capra hircus* (ISCNDA, 1989).

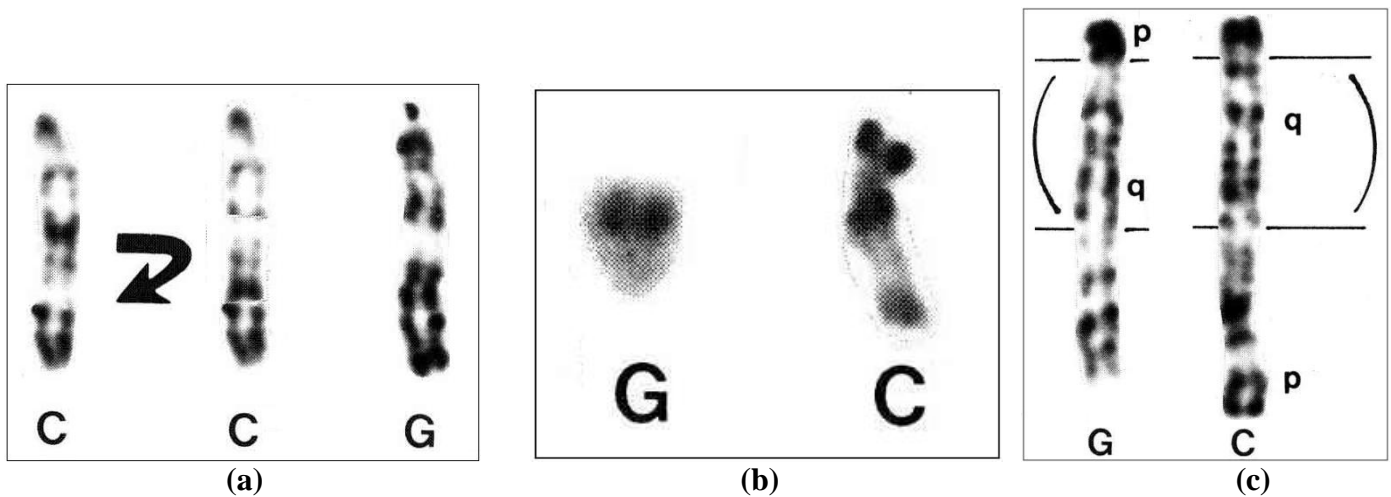


Figure 13 : (a) : Comparaison du chromosome 9 en bandes RBG de la chèvre (G) et du bœuf (C). L'inversion paracentrique est indiquée par une flèche. (b) : Comparaison du chromosome sexuel Y qui est métacentrique chez la chèvre et submetacentrique chez le bœuf. (c) : Comparaison du chromosome sexuel X qui est subtélocentrique chez la chèvre (G) et submetacentrique chez le bœuf (C). La région homologue est représentée par une parenthèse (Hayes *et al.*, 1991).

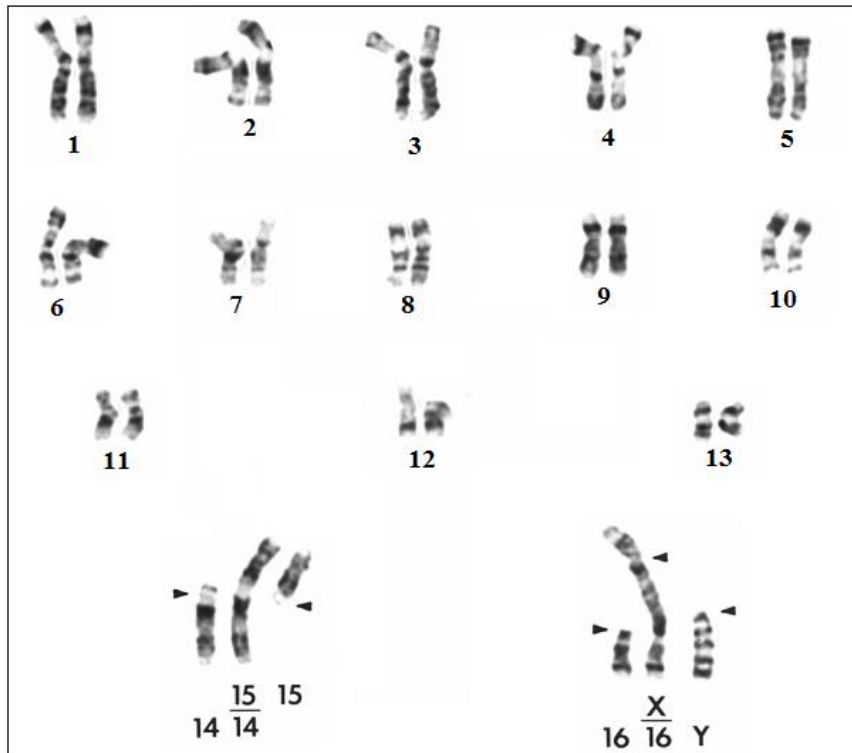


Figure 14 : Caryotype en bande GTG de la gazelle de sable *Gazella subgutturosa*. Les complexes, en bas de la figure, représentent une translocation autosome 16 / chromosome X et une translocation Robertsonienne impliquant les deux dernières paires de chromosomes acrocentriques 14 et 15 (Kingswood *et al.*, 1994).

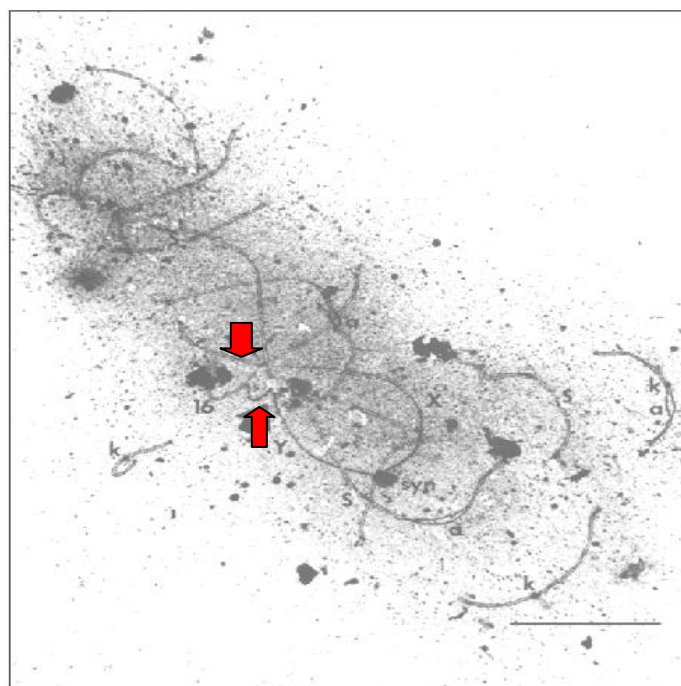


Figure 15 : Micrographie en microscopie électronique du noyau au stade pachytène de la méiose de la gazelle de sable *Gazella subgutturosa*. Des chiasmata sont observés dans la plupart des bivalents et des trivalents et sont restreints à la partie autosomale des trivalents formés par l'autosome, le chromosome X et le chromosome Y. (Kingswood *et al.*, 1994). Les flèches indiquent l'association de la portion terminale du chromosome 16 non appariée avec le chromosome Y.

Le nombre de chromosomes diploïde diffère entre les deux sexes à cause d'une translocation autosome 16 / chromosome X (Figure 14). Ce nombre varie au sein des individus du même sexe à cause de la translocation Robertsonienne impliquant les deux dernières paires de chromosomes acrocentriques 14 et 15. Cette translocation est fixée chez la gazelle *Gazella subgutturosa subgutturosa*, tandis qu'elle est polymorphe chez la gazelle *Gazella subgutturosa marica* (Kingswood et Kumamoto, 1988). La présence de translocations entre les chromosomes sexuels et les autosomes et l'existence d'un polymorphisme Robertsonien dans beaucoup d'espèces, rendent extrêmement intéressante l'étude de la méiose. En effet, l'étude des complexes synaptonémaux (complexes protéiques impliqués dans le processus d'appariement des chromosomes méiotiques) de la gazelle *Gazella subgutturosa* montre une configuration classique de trivalent aux stades pachytène et diacinèse de la métaphase (Figure 15). Les seuls univalents identifiés sont des chromosomes Y (15.9% au pachytène et 5.7% en diacinèse). Des chiasmats sont observés dans la plupart des bivalents et des trivalents et sont restreints à la partie autosomale des trivalents formés par l'autosome, le chromosome sexuel X et le chromosome sexuel Y. L'analyse des métaphases ne révèle aucune non disjonction chez les individus homozygotes ou hétérozygotes pour la translocation Robertsonienne. Aucune de ces deux translocations ne perturbe le bon déroulement de la méiose. L'apparente absence des perturbations pourrait être due en partie à des associations entre les portions non appariées du trivalent formé par l'autosome, le chromosome sexuel X et le chromosome sexuel Y plutôt qu'entre celles-ci et le trivalent Robertsonien (Kingswood *et al.*, 1994).

4. Etudes génomiques comparatives

4.1. Evolution chromosomique des gazelles

L'étude comparative des caryotypes en bandes structurales GTG a été réalisée sur les espèces et les sous-espèces des gazelles *Gazella dorcas*, *Gazella gazella*, *Gazella subgutturosa*, *Gazella leptoceros*, *Gazella cuvieri*, *Gazella dama mhorri*, *Gazella dama rufficollis*, *Gazella soemmerringi*, *Gazella rufifrons* et *Gazella thomsoni*. Trois espèces des groupes externes ont été choisies pour construire l'arbre phylogénique chromosomique des gazelles, à savoir *Capra hircus*, *Antidorcas marsupialis* et l'*Antilope cervicapra*. Les comparaisons des caryotypes montrent que les principaux remaniements chromosomiques entre les différentes espèces sont de type fusion centrique. Le caryotype ancestral proche de celui de la chèvre, ne comprend que des autosomes acrocentriques. Ces fusions centriques ainsi que les translocations entre les chromosomes sexuels et les autosomes sont déterminantes pour regrouper ces espèces. Toutes les gazelles ont une translocation impliquant le chromosome 5 et le chromosome sexuel X, par rapport au caryotype ancestral des bovins. Deux groupes de gazelles présentent une translocation du chromosome 16 / chromosome sexuel Y (Figure 16). Les animaux de ces groupes sont les grandes gazelles du sous genre *Nanger* d'une part, *Gazella rufifrons* et *Gazella thomsoni* d'autre part. Ces dernières espèces apparaissent très similaires. Elles ne présentent pas d'autosomes métacentriques ($2n = 58$) et leurs chromosomes sexuels X sont légèrement différents. Ceci suggère leur appartenance au même groupe. Elles apparaissent proches de la base de l'arbre parce qu'elles ont un grand nombre de chromosomes. Le chromosome 3 de toutes les espèces de gazelles apparaît remanié par rapport au chromosome 3 ancestral de la chèvre. Le chromosome 25 est également remanié chez *G. subgutturosa*. Pour les deux chromosomes 3 et 25, la nature du remaniement est confuse. Ces données permettent de proposer une reconstruction phylogénique (Figure 17) avec le rapprochement de *Gazella rufifrons* et *Gazella thomsoni* et la proximité des espèces *Gazella subgutturosa*, *Gazella leptoceros* et *Gazella cuvieri* d'une part et de *Gazella gazella* et *Gazella dorcas* d'autre part (Vassart *et al.*, 1995).

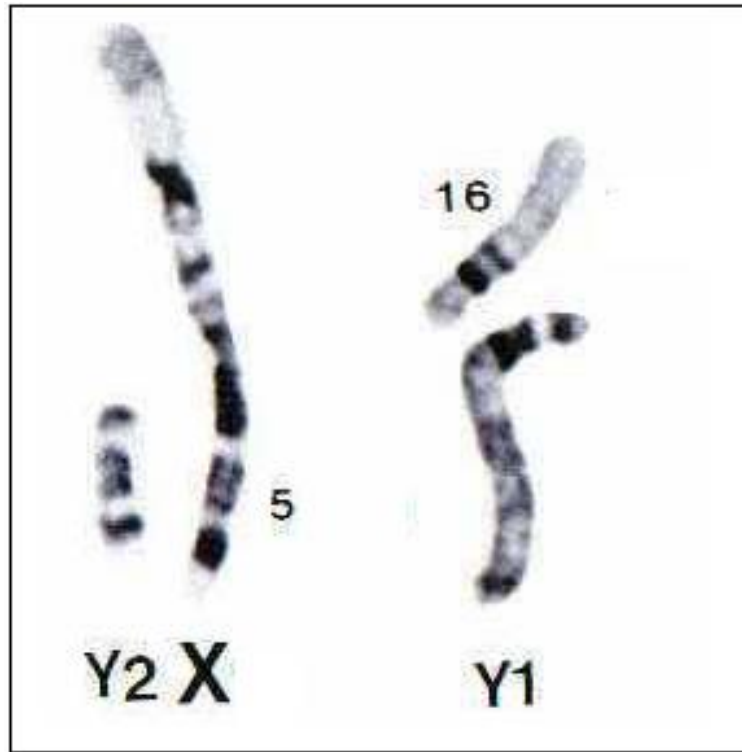
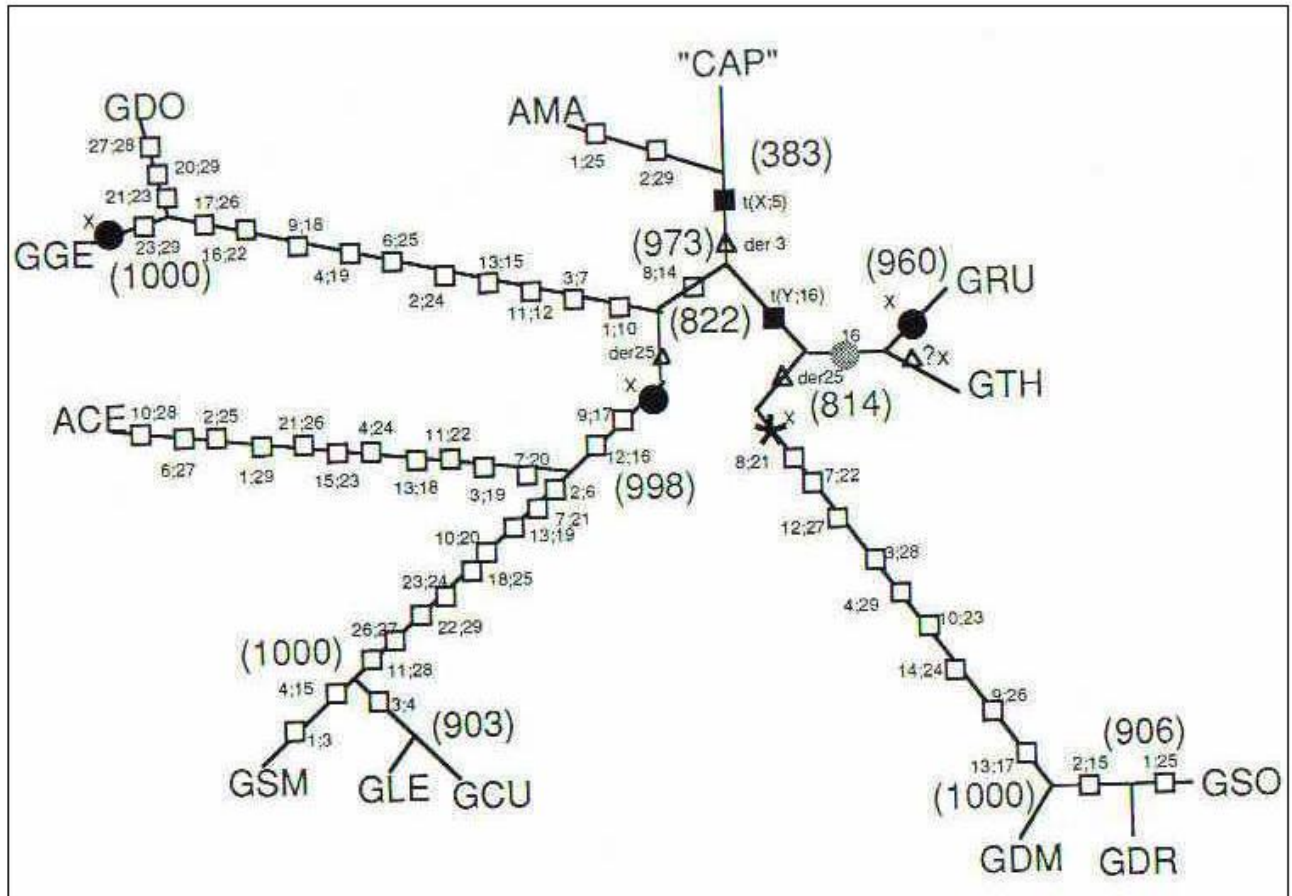


Figure 16: Chromosomes sexuels de la gazelle *Gazella rufifrons* en bande GTG. Toutes les gazelles présentent un remaniement de type translocation impliquant le chromosome 5 et le chromosome sexuel X. Deux groupes de gazelles (*Gazella rufifrons* et *Gazella thomsoni*) ont une translocation impliquant le chromosome 16 et le chromosome sexuel Y (Vassart *et al.*, 1995).

Figure 17 : Phylogénie chromosomique des gazelles (Vassart *et al.*, 1995).



GMD: *Gazella dama mhorri*, GDR: *Gazella dama ruficollis*, GSO: *Gazella soemmerrigi*, GCU: *Gazella cuvieri*, GLE: *Gazella leptoceros*, GGE: *Gazella gazella erlangeri*, GSM: *Gazella subgutturosa murica*, GTH: *Gazella thomsoni*, GRU: *Gazella rufifrons*, GDO: *Gazella dorcas*, AMA: *Antidorcas marsupialis*, ACE: *Antilope cervicapra*, CAP: caryotype ancestral présumé type caprin. □ : fusion centrique. ■ : translocation autosome-gonosome. * : passage centromérique. Δ : réarrangement non identifié. ● : addition de l'hétérochromatine sur le chromosome X. ● : addition de l'hétérochromatine sur le chromosome 16.

Les chiffres entre parenthèses représentent la valeur de bootstrap (valeur obtenue par l'analyse de la robustesse qui montre la résistance d'un noeud). L'évolution chromosomique chez les bovidés est due essentiellement à des translocations Robertsoniennes. Par exemple, chez *Gazella leptoceros* et *Gazella cuvieri* la translocation par fusion centrique des chromosomes 3 et 4 est le remaniement chromosomique qui les sépare de *Gazella subgutturosa murica* qui possède la translocation par fusion centrique des chromosomes 1 et 3.

4.2. Cartographie génique

A l'exception des analyses phylogénétiques réalisées sur l'ADN mitochondrial des gazelles, aucune étude génomique n'a été rapportée chez ces espèces. Cependant les bovins, les ovins et les caprins sont les plus étudiés grâce à leur intérêt économique. L'établissement systématique des cartes géniques des principales espèces domestiques a été entrepris seulement depuis quelques années dans le cadre d'étude des gènes impliqués dans des caractères économiques (résistances aux maladies, rendements qualitatifs et quantitatifs...etc.) (Gellin et Chevalet, 1994).

La cartographie génique consiste à repérer la position des gènes ou des séquences d'ADN le long des chromosomes. Elle peut être subdivisée en carte génétique, carte physique et carte chromosomique. La carte génétique permet de décrire l'ordre relatif des marqueurs génétiques avec leurs distances relatives au sein d'un groupe de liaison. La distance entre ces marqueurs est exprimée en centimorgans (cM). Un centimorgan est équivalent à un taux de recombinaison de 1%. La carte physique est un assemblage de longs morceaux d'ADN chromosomique ou contigs, dans lequel la distance entre les séquences d'ADN est exprimée en kilobases (Kb). La carte chromosomique moléculaire consiste en l'hybridation *in situ* de fragments d'ADN clonés sur les chromosomes. Elle permet d'établir la correspondance avec les cartes physiques (Kreitman, 2000).

La cartographie génétique chez la chèvre a été limitée à un groupe de liaison contenant deux gènes de la caséine CASA1 et CASA2, à cause de la rareté des marqueurs polymorphes (Grosclaude *et al.*, 1987). L'identification des microsatellites a permis l'établissement de la première carte génétique de la chèvre. Cette carte comprenait 219 marqueurs, dont 204 ont été intégrés dans des groupes de liaisons (Vaiman *et al.*, 1996). Depuis, environ 250 loci ont été assignés à des chromosomes par hybridation *in situ* chez la chèvre (Di Meo *et al.*, 2006 ; Perucatti *et al.*, 2006a,b) et le mouton (Iannuzzi *et al.*, 2001; Di Meo *et al.*, 2002, 2003; Iannuzzi *et al.*, 2003; Di Meo *et al.*, 2005a,2005b, 2006; Perucatti *et al.*, 2006a, 2006b).

Plus de 101 000 clones ont été intégrés à la carte physique bovine (Schibler *et al.*, 2004). Cette carte a été utilisée pour poursuivre les travaux de cartographie fine de gènes d'intérêt (gène sans corne, gène responsable de la syndactylie et plusieurs régions contenant des QTL (Quantitative Trait Loci) BTA7, BTA15 et BTA26). Actuellement, une carte de liaison bovine est construite intégrant 294 microsatellites, 3 haplotypes de protéines de lait et 6769 fragments de polymorphisme de nucléotides uniques. Cette carte est d'une longueur de 3249 cM (Arias *et al.*, 2009).

Deux banques d'ADN génomique à grandes insertions BAC (Bacterial artificial chromosome) et YAC (Yeast Artificial Chromosome) ont été développées chez les bovins, les ovins et les caprins (Cai *et al.*, 1995; Smith *et al.*, 1996; Schibler *et al.*, 1998; Zhu *et al.*, 1999; Buitkamp *et al.*, 2000; Eggen *et al.*, 2001; Hayes *et al.*, 2003; Schibler *et al.*, 2004). Ces banques ont permis d'établir des cartes génétiques et physiques des régions d'intérêt économique comme le locus Polled Intersex Syndrome (PIS) chez la chèvre (Vaiman *et al.*, 1996), le groupe sanguin C chez les bovins (Saunier *et al.*, 2001, Mahé *et al.*, 2003) et le complexe majeur d'histocompatibilité chez les ovins (Liu *et al.*, 2006). La comparaison entre les espèces de ces cartes a permis de mettre en évidence des segments chromosomiques conservés entre les différents génomes (Hayes *et al.*, 2003; Di Meo *et al.*, 2008; Strazullo *et al.*, 2010).

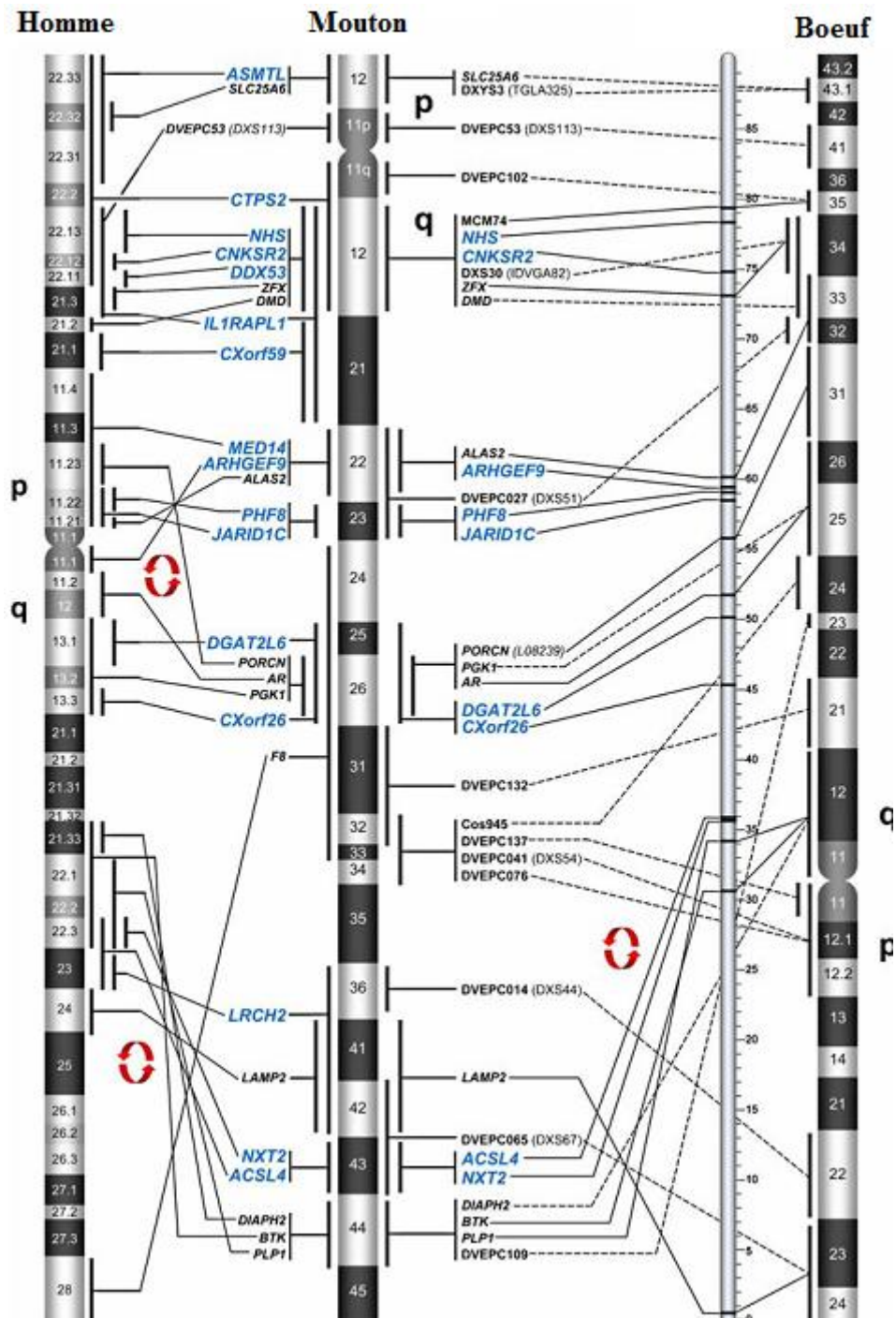


Figure 18 : Comparaison du chromosome sexuel X entre le mouton, le bœuf et l’homme. Détection des régions de synténie conservées et des remaniements chromosomiques de type inversion chez les trois espèces (Goldammer *et al.*, 2009).

4.3. Cartographie comparée

La cartographie comparée consiste à déterminer les régions chromosomiques homologues et donc conservées entre différentes espèces, ainsi que la présence de réarrangements chromosomiques afin de reconstituer l'évolution chromosomique et phylogénétique.

Plusieurs études ont montré que les chromosomes autosomes de nombreuses espèces de bovidés ont évolué par un mécanisme de fusion centrique qui réduit le nombre de chromosomes diploïde sans modifier le nombre fondamental (Wurster et Benirschke, 1968). Cette hypothèse a été démontrée en utilisant la combinaison de techniques de marquages chromosomiques et d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) (Buckland et Evans, 1978; Gallagher et Womack, 1992; Hayes *et al.*, 1991; Iannuzzi et Di Meo, 1996; Iannuzzi *et al.*, 2000a, 2001; DiMeo *et al.*, 2002; Hayes *et al.*, 2003). En effet, le mouton et le buffle diffèrent du bœuf par la présence de trois fusions centriques. Alors qu'ils diffèrent de la chèvre par la présence de cinq fusions centriques (Gautier *et al.*, 2003).

Contrairement aux chromosomes autosomes, l'évolution des chromosomes sexuels des bovidés est le résultat de réarrangements complexes. En effet, le chromosome sexuel Y présente des variations de taille et de forme. Ce chromosome est submétacentrique chez le bœuf *Bos taurus*, acrocentrique chez le buffle *Bubalus bubalis* et métacentrique chez le mouton *Ovis aries* et la chèvre *Capra hircus*. Cependant le chromosome sexuel Y peut fusionner avec un autosome comme chez les gazelles *Gazella rufifrons*. La comparaison des cartes chromosomiques a permis de comprendre le processus de l'évolution du chromosome sexuel Y des bovidés. En effet, une inversion péricentrique est détectée entre le bœuf *Bos taurus* et le buffle *Bubalus bubalis*. Une inversion péricentrique avec une perte importante de l'hétérochromatine est mise en évidence entre le buffle *Bubalus bubalis*, le mouton *Ovis aries* et la chèvre *Capra hircus*. Une translocation du chromosome sexuel X a été détectée entre la gazelle *Gazella rufifrons* et le bœuf *Bos taurus* (Di Meo *et al.*, 2005).

Des comparaisons génomiques entre différentes classes sont rendues possibles. En effet, la comparaison entre le mouton, le bœuf et l'homme (Figure 18) a permis l'identification des régions de synténie conservées entre ces espèces. L'ordre des gènes est également conservé dans les régions du chromosome sexuel X du mouton (Xp12-q22) et de l'homme (Xp22.33-p11.3). Cependant, des remaniements chromosomiques sont mis en évidence. Le segment chromosomique Xq22-q23 est inversé chez l'homme et comprend la région centromérique Xp11.22-q11.1. De même, tout le bras long du chromosome X du bœuf (Xq21-q43.2) est inversé par rapport à celui du mouton, à l'exception de la région Xp12-q31 (Goldammer *et al.*, 2009).

Vu l'absence de données génétiques portant sur la gazelle dorcas *Gazella dorcas*, les connaissances apportées par l'étude génomique et par les caryotypes standards bovins et caprins nous servent de référence pour cette présente étude. Ceci nous permettra de proposer le caryotype de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* et d'interpréter les résultats obtenus.

Objectif du travail

La gazelle dorcas *Gazella dorcas* est une espèce Sahélo-Saharienne menacée de disparition. Elle figure comme étant vulnérable dans la liste rouge établie par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN, 2006). Le caryotype de la gazelle dorcas a été déjà établi dans le cadre d'une étude phylogénétique afin de reconstituer l'histoire évolutive des gazelles (Vassart *et al.*, 1995). Cependant, aucune description précise et individuelle des chromosomes n'a été réalisée.

Le but de ce travail est d'entamer la description du génome de la gazelle dorcas *Gazella dorcas*, espèce menacée de disparition. Cette première étape nous permettra d'établir une banque de données génomiques. Des cartographies comparées avec des espèces proches de la gazelle dorcas et la connaissance des caryotypes standards bovins et caprins nous permettront par la suite de reconstituer les différents remaniements chromosomiques.

Pour atteindre cet objectif, une culture de lymphocytes a été effectuée, pour la première fois en Algérie, sur cette espèce. Le sang a été prélevé sur des gazelles adultes de sexes mâles et femelles grâce à une collaboration avec le Parc Zoologique de Ben Aknoun. La synchronisation par de la thymidine a permis d'obtenir des chromosomes allongés à haute résolution. Les techniques de marquages chromosomiques ont permis l'établissement du caryotype de la gazelle dorcas en bandes morphologiques GTG et dynamiques RBG, pour la première fois. On a établi une comparaison des chromosomes de l'espèce locale *Gazella dorcas* avec les chromosomes de la gazelle dorcas du Zoo de Vincennes pour laquelle seul le caryotype en bande G a été établi, et dont l'origine de la sous-espèce étudiée reste inconnue. De plus, la comparaison de ces chromosomes avec les caryotypes standards du bœuf et de la chèvre a facilité l'identification individuelle des chromosomes. L'étude comparative des chromosomes de la gazelle dorcas avec d'autres espèces d'antilopes comme la gazelle gazelle *Gazella gazella* et la gazelle leptocère *Gazella leptoceros* a été établie et a permis de proposer les différents réarrangements chromosomiques qui se seraient produits durant l'évolution des gazelles.

MATÉRIEL
ET
MÉTHODES

1. Matériel biologique

Plusieurs difficultés ont été rencontrées pour obtenir les prélèvements sanguins des gazelles. En effet, pour prélever les animaux sauvages il faut suivre un protocole d'anesthésie précis afin de maîtriser l'endormissement et le réveil de l'animal. De plus, le fait d'approcher l'animal peut le tuer. Les animaux sont très stressés en enclos et un arrêt cardiaque peut survenir au moment du prélèvement.

Pour la réalisation de cette étude, le matériel biologique a été obtenu grâce à une collaboration établie avec le Parc Zoologique de Ben Aknoun. En effet, un mâle et deux femelles adultes de gazelles dorcas ont été prélevés (Figure 19 et 20). Ces gazelles, qui sont installées au Parc Zoologique, sont d'origine inconnue. D'après les caractéristiques phénotypiques et notamment les cornes, il s'agirait bien de la sous-espèce *Gazella dorcas neglecta*.

2. Méthodes

L'analyse chromosomique nécessite la préparation de lames riches en étalements chromosomiques analysables. Ceci est réalisé grâce à la mise en culture de fibroblastes ou de lymphocytes, préalablement stimulés par des agents mitogènes. L'accumulation de cellules en métaphase ou en prométaphase est effectuée. Ces stades de divisions correspondent au moment où les chromosomes sont individualisés. Ensuite, les cellules sont récoltées et les étalements sont préparés.

Les techniques réalisées dans cette étude sont adaptées à la gazelle dorcas à partir de protocoles établis chez les bovidés (Dutrillaux et Courturier, 1981) et mis au point au Laboratoire de Génétique du Développement (FSB, USTHB). Le travail a été réalisé dans des conditions stériles dans une pièce de culture cellulaire équipée d'une hotte à flux laminaire verticale (Polaris72 N°19311).

2.1. Culture de fibroblastes

Principe

Les cultures cellulaires primaires peuvent être réalisées à partir de tissus prélevés directement sur des animaux adultes, sur des embryons ou des fœtus. Les cultures embryonnaires ou fœtales ont un indice mitotique élevé et un potentiel de générations plus grand. Environ 50 générations sont obtenues pour les cultures d'origine fœtale contre 20 générations pour les cultures de cellules de tissu adulte (Hayes, 1993; Ladjali, 1994).

Protocole

Des fragments de tissus musculaires sont prélevés et placés dans un flacon stérile contenant du milieu de culture RPMI 1640 (Gibco) supplémenté de 10% de Sérum de Veau Fœtal (SVF). Les fragments sont dilacérés et mis dans une fiole contenant un barreau aimanté et 10 mL d'une solution de trypsine (Sigma) à 0.05%, préalablement chauffée à 37°C. La fiole est placée sur un agitateur magnétique pendant 10 mn, à vitesse modérée, pour éviter la formation de mousse pouvant provoquer l'éclatement des cellules. Après décantation, le surnageant est transféré délicatement dans un tube de 15 mL qui est ensuite centrifugé à 2000 rpm pendant 5 mn dans une centrifugeuse (Sigma) à rotors inclinés.



Figure 19: Gazelle dorcas *Gazella dorcas* de sexe mâle en captivité au Parc Zoologique de Ben Aknoun (02-03-2009).



Figure 20: Gazelle dorcas *Gazella dorcas* de sexe femelle en captivité au Parc Zoologique de Ben Aknoun (08-03-2009).

Le surnageant est aspiré à l'aide d'une pompe à vide. Le culot est suspendu délicatement dans 4 mL de milieu de culture RPMI 1640 (Gibco) additionné de 10% de Sérum de Veau Fœtal (Gibco). La suspension est ensemencée dans une boîte de culture de 25 cm² et déposée dans une étuve à 37°C. Quelques heures après, les cellules sont observées à l'aide d'un microscope inversé (Zeiss Axiovert 40c, objectif GX40) pour s'assurer du début d'adhésion des cellules au fond de la boîte. Le lendemain, le milieu de culture devenu jaunâtre est aspiré et éliminé pour enlever les toxines, les débris organiques et les cellules non adhérentes. Les cellules sont lavées avec du milieu de culture RPMI 1640 (Gibco), puis 4 mL de milieu RPMI 1640 (Gibco) enrichi avec 10% de SVF (Gibco) sont ajoutés aux cellules. La boîte est remise à l'étuve et observée régulièrement. L'opération de lavage est effectuée autant de fois que cela est jugé nécessaire. La couleur du milieu de culture est un bon indicateur de l'activité cellulaire. Lorsque le milieu devient jaune, cela indique une forte activité cellulaire, il faut alors changer le milieu.

Remarque

Comme il a déjà été évoqué précédemment, au Parc Zoologique de Ben Aknoun il n'existe pas encore de protocoles précis d'anesthésies adaptés aux espèces sauvages maintenues en captivité. Par conséquent, il nous a été impossible d'effectuer des biopsies pour la mise en culture des fibroblastes. Nous avons par contre préféré donner toutes les méthodes de culture cellulaire pour cette espèce.

Solutions nécessaires

Milieu de culture complet RPMI 1640 (Gibco)

- Milieu RPMI 1640 + 20 mM HEPES – L-Glutamine (Gibco Réf : 22409-031, lot : 305511).
- Sérum de Veau Fœtal (Gibco Réf : 15160-047, lot : 3086587) : 10%
- L-Glutamine 200 mM (Sigma) : 1%
- Pénicilline et Streptomycine (Sigma) : 1%
- Fungizone (Sigma): 1%

Milieu pour le lavage des cellules

- Milieu RPMI 1640 –L-Glutamine avec NaHCO₃ sans HEPES (Eurobio Réf : CM1RPM00-0U lot : 651528)

Trypsine à 0.05%

Dissoudre 0.05g de trypsine (Sigma) en poudre dans 100 mL de PBS⁻ puis filtrer avec un filtre de 0.45 µm.

Solution PBS⁻ (Dulbecco's phosphate buffered saline) sans Ca²⁺ et sans Mg²⁺

- NaCl (137 mM): 8 g
- KCl (5.4 mM): 0.2 g
- Na₂HPO₄·12H₂O (8 mM): 2.89 g
- KH₂PO₄ (1.47 mM): 0.2 g
- Eau distillée qsp 1 litre.

La solution finale (pH = 7.2) est autoclavée et conservée à +4°C.

2.2. Culture de lymphocytes

Principe

Le sang qui est souvent facile à prélever, constitue la source de cellules la plus utilisée en cytogénétique humaine. Chez les mammifères, les lymphocytes B et T sont les seules cellules du sang susceptibles d'être transformées en cellules actives et proliférantes. Cette transformation de lymphoblastes, induite *in vivo* par des antigènes, peut être stimulée *in vitro* par des lectines. Il existe plusieurs types de lectines (Sharon et Lis, 1989), les plus couramment employées pour la transformation de lymphoblastes sont la phytohémagglutinine (PHA), la concanavaline A (Con A) et le pokeweed mitogène (PWM). L'effet mitogène de ces produits diffère selon l'agent utilisé. Ainsi la PHA et la Con A activent préférentiellement les lymphocytes T alors que le PWM active les lymphocytes T et B. De plus, ces trois lectines ne stimulent pas toutes les mêmes sous populations de lymphocytes T. Les lymphocytes peuvent être mis en culture soit à partir de sang total (Moorhead *et al.*, 1960), soit après séparation par centrifugation en gradient de densité (Boyum, 1968). Seul le protocole de mise en culture à partir du sang total sera décrit dans cette étude.

2.2.1. Mise en culture

Protocole

Après désinfection soigneuse à l'aide d'une compresse imbibée d'alcool chirurgical (70%), un volume de sang (10 mL) est prélevé de la veine jugulaire (Figure 21) dans des tubes stériles contenant de l'héparine de sodium. Environ 1mL de sang total est ensemencé dans 10 mL de milieu de culture RPMI 1640 (Gibco) supplémenté de 10% de Sérum de Veau Fœtal (SVF). Ensuite, 50 µL de concanavaline A sont ajoutés (concentration finale: 10 µg/mL). Cette dernière est un agent mitogène activant la division des lymphocytes. Les cellules sont incubées à 37°C pendant 72h, avec agitation des tubes plusieurs fois par jour.

Remarque

Après les prélèvements et en attendant la mise en culture des cellules sanguines, les tubes de sang sont déposés dans une glacière pour éviter les contaminations lors du transfert au Laboratoire. La mise en culture peut être retardée d'une semaine et les tubes sont alors maintenus à 4°C.

Solution nécessaire

Concanavaline A

Une quantité de 5 mg de concanavaline A (Sigma) est dissoute dans 5 mL d'eau distillée. Cette solution est filtrée (0.20 µm) et conservée à -20°C.

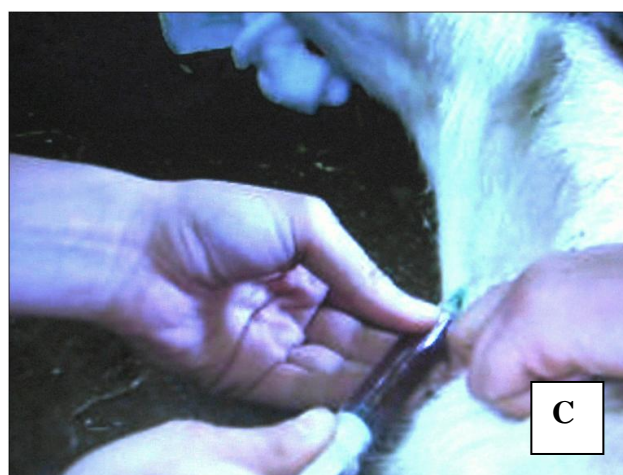


Figure 21 : (A), (B) et (C) : Différentes étapes du prélèvement de sang de la gazelle dorcas *Gazelle dorcas* de sexe mâle à partir de la veine jugulaire.

2.2.2. Synchronisation des cellules

Principe

La synchronisation du cycle cellulaire à l'aide d'agents tels que la thymidine (précurseur de la thymine), l'améthoptérine, l'aminoptérine et le 5-Fluoro-2'-déoxyUridine (FdU) permet d'accumuler le maximum de cellules au stade de prométaphase. La thymidine provoque le blocage du cycle cellulaire d'une façon réversible pendant la phase S de synthèse de l'ADN (Figure 22). En effet, la thymidine ajoutée en excès au milieu de culture pénètre dans les cellules et inhibe la voie de synthèse de la désoxycytidine triphosphate (dCTP), un des quatre désoxyribonucléotides indispensables à la réplication de l'ADN (Figure 23) (Dutrillaux et Couturier, 1981).

Les chromosomes obtenus par cette technique sont dits à haute résolution car ils sont très allongés et leur traitement par des techniques de marquages chromosomiques produit des bandes avec une haute définition.

Protocole

1^{er} jour: Blocage des cellules à la thymidine

Un volume de 150 µL d'une solution de thymidine stérile (concentration finale: 1 mg/mL) est ajouté au milieu de culture (10 mL). Les cellules sont incubées à 37°C. Ce blocage est réalisé pendant 18h. Cette étape est effectuée vers 14 heures.

2^{ème} jour : Levée du blocage

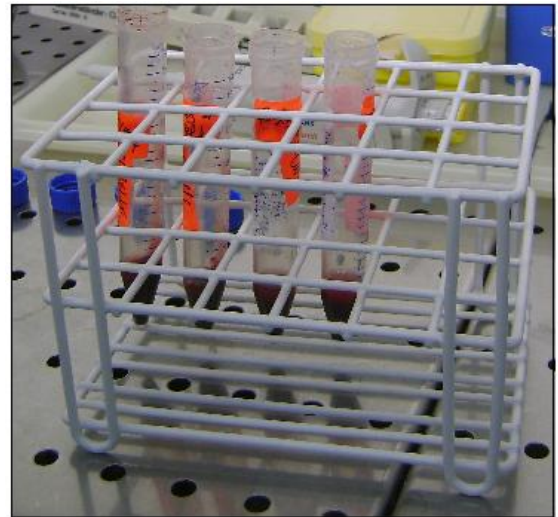
Le lendemain, vers 8 heures du matin, le milieu de culture est aspiré et éliminé. Les cellules sont lavées 3 fois pendant 15 minutes avec 8 mL d'une solution de BSS⁺ préalablement chauffée à 37° C. Ensuite, les cellules sont incubées dans du milieu RPMI 1640 supplémenté de 10% SVF auquel sont ajoutés 33 µL de 5-bromo-2'-déoxyuridine (BrdU) (concentration finale: 14,4 µg/mL). Le BrdU est un analogue structural de la thymidine, il est incorporé lors de la réplication de l'ADN (Zakharov et Egolina, 1968; Ladjali *et al.*, 1995). Pour augmenter le rendement de l'action du BrdU, un volume de 100 µL d'une solution de 5-fluoro-2'-déoxyuridine (FdU) (concentration finale de 1.07 µg/mL) est ajouté au milieu de culture. Les cellules sont incubées pendant 6 à 7h à 37°C.

Remarque

Le temps nécessaire entre la levée du blocage et la récolte des cellules varie selon l'espèce. Il faut donc effectuer plusieurs essais pour obtenir les conditions optimales. Dans cette étude, l'intervalle de temps a été estimé à 7-8 heures pour les cellules de la gazelle dorcas.



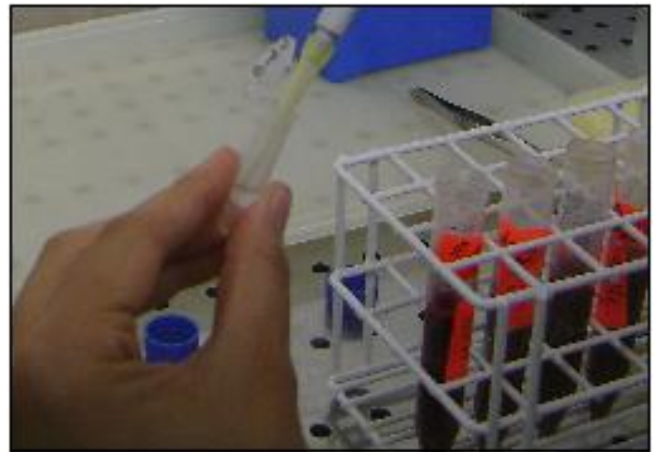
(A)



(B)



(C)



(D)

Figure 22 : Étapes de synchronisation des cellules de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* adulte. (A) Incubation à 37°C des cellules après un blocage à la thymidine. (B) Levée du blocage, lavage des cellules par une solution de BSS⁺. (C) Ajout du milieu complet à la suspension cellulaire. (D) Traitement des cultures par le 5-bromo-2'-déoxyuridine (BrdU).

Solutions nécessaires

Solution de thymidine 1X

Une quantité de 100 mg de thymidine Sigma (41,13 mM) est dissoute dans 10 mL de milieu RPMI 1640 (Gibco). La solution est filtrée à l'aide d'un filtre de 0,22 μm et utilisée extemporanément ou conservée à -20°C .

Solution de BSS⁺ (Hank's Balanced Salt Solution) avec Ca⁺⁺

NaCl (137 mM): 8 g
KCl (5,4 mM) :0.4g
MgSO₄-7H₂O (0.81 mM): 0.2 g
Na₂HPO₄-12H₂O (0.33 mM) : 0.12 g
KH₂PO₄ (0,44 mM): 0.06 g
Eau distillée qsp 1 litre

La solution préparée est autoclavée. Ensuite, un volume de 6 mL d'une solution de NaHCO₃ à 5.6% et 2 mL d'une solution de CaCl₂ (1M) sont ajoutés stérilement à la préparation. Le pH de la solution finale est de 7.2 - 7.7.

Solution de BrdU

Une quantité de 30,7 mg de BrdU (Sigma) est dissoute dans 10 mL de PBS⁻, le mélange ainsi obtenu est filtré sur une membrane de 0,22 μm et est conservé en fractions de 1 mL à -20°C .

Solution de FdU

Une quantité de 7,5 mg de FdU (Sigma) est dissoute dans 10 mL de PBS⁻. Cette solution est conservée à -20°C par fraction de 1 mL 10X (3 mM).
Pour une solution de travail de 1X, 1 mL d'une solution 10X est dilué dans 9 mL de PBS⁻. Le mélange est ensuite filtré sur membrane 0,22 μm et conservé en fraction de 1 mL.

2.2.3. Préparation des étalements chromosomiques

Pour obtenir des préparations chromosomiques, il faut récolter les cellules aux stades de prophases et de prométaphases, les faire gonfler par un traitement hypotonique, les fixer puis les étaler sur des lames.

a. Accumulation des cellules mitotiques

Principe

L'accumulation des cellules mitotiques est réalisée après avoir ajouté de la colchicine. Cette dernière, inhibe la formation des fibres du fuseau mitotique.

Protocole

Un volume de 25 μL d'une solution de colchicine 1X est ajouté au milieu de culture à une concentration finale de 0.024 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pendant 10 minutes à 37°C avant la récolte des cellules.

Solution nécessaire

Solution de colchicine 1X

Une quantité de 0.4 mg de colchicine est dissoute dans 10 mL de solution PBS⁻, puis le mélange est conservé en fractions de 1 mL à -20°C. Pour une solution de travail 1X, 1 mL de la solution de 10X est dilué dans 9 mL de solution PBS⁻. La conservation est effectuée en fractions de 1 mL à -20°C.

b. Traitement hypotonique

Principe

Afin de faciliter l'éclatement des cellules et la dispersion des chromosomes au moment de l'étalement sur les lames, la suspension cellulaire est incubée dans une solution hypotonique. Cette solution provoque un gonflement des cellules par effet osmotique. Différentes solutions hypotoniques ont été élaborées comme les solutions salines (KCl (0.075M)) et les solutions de sérum ou de plasma. Certaines techniques utilisent en complément l'EDTA qui par son action de chélation des cations divalents, déstabilise les membranes cellulaires et les fragilise (Hayes, 1993). Dans cette présente étude, nous avons utilisé une solution de KCl (0.075M).

Protocole

La suspension cellulaire est centrifugée pendant 15 minutes à 1200 rpm. Le culot est remis en suspension dans 5 mL de milieu hypotonique KCl (0.075M), préalablement chauffé à 37°C. La suspension cellulaire est incubée pendant 10 minutes à 37°C.

Solutions nécessaires

Solution hypotonique de KCl (0.075 M)

Une quantité de 5.6 g de KCl est dissoute dans 1 litre d'eau distillée.

c. Fixation

Principe

Les suspensions cellulaires sont fixées pour préserver les structures internes des cellules et pour pouvoir appliquer les techniques de colorations et de marquages chromosomiques.

Protocole

Une préfixation est réalisée en ajoutant 1 mL de fixateur (3 volume d'éthanol / 1 volume d'acide acétique) directement dans le milieu hypotonique pendant 5 minutes à 37°C. La suspension cellulaire est ensuite centrifugée pendant 10 minutes à 1200 rpm. Le culot est repris dans 10 mL de fixateur pendant 15 minutes à 4°C. Après centrifugation pendant 10 minutes à 1200 rpm, le surnageant est éliminé et le culot est repris dans 10 mL de fixateur et remis à 4°C pendant toute une nuit. Le lendemain, après une centrifugation à 1200 rpm pendant 5 minutes, le surnageant est éliminé et les cellules sont dissociées dans un volume minimum de fixateur. Ce volume sera ajusté après l'observation de la première lame au microscope optique (Zeiss Primostar, Grossissement GX10). En effet, une estimation du contenu de la suspension cellulaire est effectuée après avoir étalé une goutte de la suspension.

Si un indice mitotique de 10 métaphases par champ de vision (GX10) est atteint, les autres lames sont étalées. Si l'indice mitotique est inférieur à 10, il faut encore concentrer le volume de la suspension. Si l'indice mitotique est supérieur à 10, il faut diluer le volume de la suspension cellulaire.

Solution nécessaire

Fixateur

Pour la préparation de 100 mL de fixateur, on mélange 75 mL de méthanol et 25 mL d'acide acétique.

d. Etalement

La suspension cellulaire est déposée sur les lames, préalablement lavées et conservées dans de l'eau distillée glacée. On laisse tomber une goutte d'une hauteur d'environ 10 cm sur chaque lame froide et recouverte d'un fin film d'eau. L'excès d'eau autour de la goutte déposée est tamponné et les lames sont laissées sécher à l'air libre, puis congelées à -20°C jusqu'à leur utilisation. Les lames non colorées sont observées au microscope (Zeiss Primostar) en contraste de phase. Un indice mitotique d'environ 10 métaphases par lames, des chromosomes bien regroupés et non dispersés sont des critères importants qui permettent d'analyser correctement une lame.

3. Techniques de cytogénétiques

3.1. Techniques de marquages chromosomiques

Les techniques de cytogénétique ont été développées pour étudier la structure interne des chromosomes en révélant une série de bandes séquentielles appropriées aux différents stades de contraction. Un code spécifique composé de trois lettres a été adopté pour caractériser la méthodologie utilisée distinguant la technique cytogénétique des motifs de bandes révélées. Ainsi, la première lettre correspond au type de bande, la seconde à la nature de la technique et la troisième au colorant utilisé (Gustavsson, 1980). Dans ce chapitre, ne seront décrites que les techniques qui ont été utilisées dans cette étude.

3.1.1. Coloration conventionnelle au Giemsa

C'est la coloration la plus utilisée. Elle permet d'avoir une idée précise de la morphologie générale des chromosomes (Ladjali, 1994).

Principe

Le Giemsa est un mélange complexe de six groupes de colorants (ayant différents degrés d'oxydation) constitués principalement de thiazines qui se lient au groupe phosphate de l'ADN chromosomique. Ceci induit une diminution de la densité optique et de la longueur d'onde d'absorbance du colorant. Un changement de couleur se produit se traduisant par un passage du bleu clair au rouge violacé ou magenta foncé (Comings, 1978).

Protocole

Les lames sont plongées dans la solution de coloration pendant 20 mn à température ambiante. Puis les lames sont rincées abondamment à l'eau courante et à l'eau déminéralisée.

Les lames sont séchées à l'air et observées au microscope en lumière normale (Grossissement GX40, GX100) avec un filtre vert. Les métaphases colorées sont prises en photos (Canon Powershot A640 digital camera 10.0 megapixels)

Solutions nécessaires

Solution de coloration de Giemsa à 6%

Pour un volume de 25 mL, mélanger 1.5 mL de colorant Giemsa (Sigma Aldrich) avec 23.5 mL de tampon phosphate.

Tampon phosphate

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$: 2.9 g.

KH_2PO_4 : 0.2 g.

NaCl : 8 g.

KCl : 0.2 g.

H_2O qsp 1 litre.

Le pH final du tampon est ajusté à 7,15 en ajoutant progressivement un certain volume d'une solution de HCl (1N).

3.1.2. Coloration chromosomique en bandes structurales et dynamiques

a. Technique révélant les bandes structurales

Les Bandes G -Trypsine - Giemsa (GTG)

Principe

Le principe de la mise en évidence de ces bandes est basé sur une digestion enzymatique avec protéolyse selon la technique de Seabright (1971) modifiée (Ladjali *et al.*, 1995).

Protocole

Les lames vieilles de 3 à 10 jours sont plongées pendant 7 à 10 secondes dans une solution de trypsine (0.25%) préparée extemporanément à température ambiante, puis les lames sont lavées dans deux bains successifs de PBS⁻ pour inactiver l'action de la trypsine. Les lames sont ensuite colorées avec une solution de Giemsa 6% pendant 20 minutes. Elles sont rincées abondamment à l'eau courante puis laissées sécher à l'air libre. Les métaphases colorées sont observées au microscope en lumière normale avec un filtre vert (Grossissement X40, X100) et prises en photos (Canon Powershot A640 digital camera 10.0 megapixels).

Solutions nécessaires

Giemsa : pour 25 mL d'une solution préparée extemporanément

- Solution de Giemsa L : 1.5 mL
- Tampon phosphate (pH 7.15) : 0.75 mL
- Eau distillée : 23.75 mL.

Tampon phosphate : pour 500 mL

- Phosphate dissodique $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$: 1.45 g
- Phosphate monopotassique KH_2PO_4 : 0.1 g
- Chlorure de sodium NaCl : 4 g
- Chlorure de potassium KCl : 0.1 g

Le pH final du tampon est ajusté à 7.15 en ajoutant progressivement un certain volume d'une solution de HCl (1N).

Remarque

Les lames séchées à l'air libre doivent avoir entre 3 et 10 jours, les lames congelées peuvent être utilisées juste après leur décongélation.

b. Technique révélant les bandes dynamiques Bandes R- BrdU- Giemsa (RBG)

L'obtention des bandes dynamiques RBG nécessite un traitement particulier lors de la culture cellulaire. En effet, du 5'Bromo-2'-déoxyuridine (BrdU), qui est un analogue structural de la thymidine, est ajouté au milieu (Zakharov et Egolina, 1968 ; Egolina, 1972). Le BrdU est incorporé lors de la réplication de l'ADN chromosomique après la levée du blocage qui a été effectué par de la thymidine. Alors, des bandes R dynamiques à réplication précoce sont obtenues. Le rendement de l'action du BrdU peut être augmenté par l'ajout de 5-fluoro-2'-déoxyuridine (FdU) (Bell et Wolff, 1966). L'incorporation du BrdU est à peu près équivalente dans toutes les cellules récoltées. Ce type de méthode est appliqué sur des cultures synchronisées pour lesquelles, la majorité des cellules sont au même stade du cycle cellulaire. Grâce aux propriétés de photo-décomposition des segments chromosomiques ayant incorporé le BrdU, plusieurs méthodes ont été développées permettant de colorer de manière différentielle ces régions. Le dessin des bandes ainsi obtenu est reproductible et caractéristique du stade pendant lequel le BrdU est ajouté et de la durée de son incorporation (Ladjali *et al.*, 1995).

Coloration Fluorochrome – Photolyse – Giemsa (FPG)

Principe

Cette technique est basée sur l'action d'un fluorochrome (Hoechst 33258) qui se fixe sur l'ADN chromosomique sous l'effet d'une exposition à la lumière noire. Le BrdU incorporé au préalable dans l'ADN subit une photolyse et un ensemble de réactions radicalaires. Ces mécanismes ont pour effet de diminuer l'affinité des régions riches en BrdU au Giemsa. La coloration se produit uniquement dans les régions de l'ADN n'ayant pas incorporé le BrdU (Perry et Wolf, 1974 ; Douarin *et al.*, 1989, Ladjali *et al.*, 1995).

Protocole

Les lames sont plongées dans une solution de Hoechst 33258 (concentration finale 1mg/100 mL) préparée extemporanément pendant 20 minutes. Elles sont ensuite rincées à l'eau du robinet puis à l'eau distillée. Les lames sont déposées à plat dans des boîtes en plastique recouvertes d'une solution 2X SSC. Elles sont exposées à une lumière noire à une distance de 15 cm pendant 90 minutes. Ensuite, les lames sont rincées à l'eau du robinet et à l'eau distillée. Puis, elles sont plongées dans une solution de Earle sans bicarbonate à pH= 6,5 pendant 10 minutes à 87°C. Elles sont ensuite lavées et colorées au Giemsa à 6%. L'observation et la prise de photos (Canon Powershot A640 digital camera 10.0 megapixels) des métaphases colorées s'effectue au microscope photonique en lumière blanche avec un filtre vert. (Grossissement X40, X100).

Solutions nécessaires

Solution de Hoechst

Une quantité de 100 mg Hoechst 33258 (Sigma) est dissoute dans 100 mL d'eau distillée. Cette solution est conservée par fraction de 1 mL à -20°C. Elle est concentrée 100X. Au moment du traitement, 1 mL de la solution 100X est diluée dans 99 mL de H₂O.

Earle 10X sans bicarbonate

- NaCl (1.16) : 68 g
- KCl (0.054) : 4 g
- NaH₂PO₄-H₂O (0,01 mM) : 1.4 g
- MgSO₄-7H₂O (8.1 mM) : 2 g
- Glucose (0.055 M) : 10 g
- CaCl₂ (18 mM) : 2 g
- Rouge de phénol : une pincée
- Eau distillée qsp 1 litre

La solution est filtrée et conservée à 4°C. Le jour de l'utilisation la solution mère 10X est diluée pour obtenir une solution 1X. Le pH est ajusté avec une solution saturée de Na₂HPO₄-12H₂O.

Solution SSC20X (Standard Saline Solution)

- NaCl (3 M) : 175.2 g
- Na₃C₆H₅O₇-2H₂O (0.3 M) : 88.2 g
- H₂O qsp 1 litre

La solution est autoclavée et conservée à 4°C.

Remarque

Pour avoir une dénaturation correcte, il est préférable de mettre au bain marie la solution de Earle pendant 20 minutes avant de plonger les lames pour que la température de la solution atteigne 87°C. La qualité des bandes dépend de l'incorporation du BrdU. Si l'incorporation est insuffisante, les chromosomes sont plutôt sombres, par contre une prédominance de couleur claire apparaît si l'incorporation du BrdU est très forte. Un contraste net existe entre les bandes négatives et positives dans le cas d'une incorporation correcte.

4. Classification des chromosomes et établissement des caryotypes

L'établissement du caryotype de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* est réalisé suite à la prise de photos des métaphases colorées (Canon Powershot A640 digital camera 10.0 megapixels). Les lames colorées sont observées dans un premier temps à l'objectif GX10 pour avoir une idée de l'indice mitotique. Puis, elles sont observées à l'objectif GX40 pour une vision générale de la métaphase. Lorsqu'une métaphase présente des chromosomes allongés et non chevauchants avec des bandes chromosomiques visibles, on passe alors à l'objectif GX100. Une goutte d'huile à immersion est déposée sur une lamelle qui recouvre la lame. Après la prise de photos, les chromosomes sont découpés, à partir des photos prises, avec le logiciel Adobe Photoshop 8.0.

Les chromosomes de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* n'ont pas été classés dans les caryotypes déjà établis (Efron *et al.*, 1976; Vassart *et al.*, 1995). Nous avons mesuré les chromosomes d'une même métaphase pour proposer un classement selon la taille décroissante et la position du centromère, pour la première fois.

Il n'existe pas de caryotype standard de la gazelle dorcas, comme pour la plupart des espèces sauvages. Nous avons alors pris comme référence le caryotype standard des bovins (ISCNDA, 1989), puisque ce dernier serait proche du caryotype ancestral des bovidés.

RÉSULTATS

1. Matériel animal

Pour la réalisation de notre étude expérimentale, la culture de cellules a été effectuée à partir du sang prélevé sur des gazelles adultes de sexe mâle et femelle vivant en captivité au Parc Zoologique de Ben Aknoun. L'obtention du matériel biologique a été extrêmement difficile. En effet, le produit anesthésiant (Immobilon), adapté aux espèces sauvages maintenues en captivité n'était pas disponible. Nous avons alors essayé de capturer les gazelles à l'aide d'une sarbacane en administrant 0,1 mL de l'anesthésiant Rompun, mais cette dose n'était pas suffisante pour immobiliser les animaux.

Nous avons prélevé deux gazelles dorcas de sexe femelle et une gazelle dorcas de sexe mâle. L'origine de ces gazelles est inconnue. Par ailleurs, d'après les caractéristiques phénotypiques et notamment les cornes, il s'agirait bien de la sous-espèce *Gazella dorcas neglecta*. Après capture, la gazelle est immobilisée en maintenant les cornes et les pattes postérieures. La région qui est prélevée est soigneusement désinfectée avec une compresse imbibée d'alcool chirurgical (70%). Ensuite un volume de 10 mL de sang est prélevé de la veine jugulaire. Le sang recueilli est ensuite partagé dans deux tubes stériles contenant de l'héparine de sodium. Les tubes sont agités pour éviter la coagulation et ils sont étiquetés et déposés dans une glacière.

Toutes les techniques réalisées dans cette étude sont adaptées à la gazelle à partir de protocoles établis chez les bovidés (Dutrillaux et Courturier, 1981) et mis au point au Laboratoire de Génétique du Développement (FSB, USTHB). La culture cellulaire a été réalisée stérilement dans une pièce de culture cellulaire équipée d'une hotte à flux laminaire verticale (Polaris72 N°19311).

2. Cultures cellulaires

Deux types de cultures cellulaires pouvaient être initiés chez la gazelle dorcas, la culture de lymphocytes et la culture primaire des fibroblastes. Seule la culture de lymphocytes a été réalisée dans cette étude, à cause des difficultés rencontrées pour la réalisation de la biopsie de la gazelle dorcas.

La culture de lymphocytes a été effectuée à partir du sang total dans des conditions stériles avec du RPMI 1640 (Gibco) enrichi de 10% de sérum de veau fœtal (Gibco). Ce dernier, contient des facteurs de croissances nécessaires pour la prolifération cellulaire. Une première culture a été réalisée le 02 Mars 2009 à partir du sang issu de la gazelle dorcas de sexe mâle. Tandis que la deuxième culture a été effectuée le 08 Mars 2009 à partir du sang issu de la gazelle dorcas de sexe femelle. Pour chaque culture, le volume sanguin a été partagé dans quatre tubes. Les tubes ont été traités à deux jours d'intervalle. La division des lymphocytes a été stimulée par de la concanavaleine A. Ces différents traitements ont été effectués dans les mêmes conditions et sous une hotte à flux laminaire verticale (Polaris72 N°19311). Les cellules ont été, ensuite, incubées à 37°C pendant 72h.

3. Synchronisation des cellules et obtention de chromosomes allongés

Pour obtenir des chromosomes à haute résolution, nous avons effectué huit synchronisations des lymphocytes. Le cycle cellulaire a été bloqué par de la thymidine en excès pendant 18 heures.



Figure 24 : Culot de lymphocytes après 72h de culture cellulaire.



Figure 25 : Chromosomes en prométaphase de la gazelle dorcis *Gazella dorcas neglecta* adulte de sexe femelle, observés au microscope photonique en contraste de phase (GX40).

Ce blocage a permis de synchroniser avec succès les divisions des lymphocytes de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta*, pour la première fois, et nous avons récolté les chromosomes en prométaphase. La levée d'inhibition a été réalisée par une série de lavages des cellules avec une solution de BSS⁺.

Nous avons réalisé deux types de blocages. Le premier blocage a duré 15 heures et nous avons constaté, après la récolte des cellules que les chromosomes étaient contractés. Alors, nous avons bloqué les cellules pendant 18 heures. Ceci a permis d'obtenir des chromosomes allongés.

La récolte cellulaire a été réalisée après le traitement des cellules par de la colchicine qui inhibe la formation des fibres du fuseau mitotique. Afin de faciliter l'éclatement des cellules et la dispersion des chromosomes au moment de l'étalement sur les lames, la suspension cellulaire a été incubée dans une solution hypotonique de KCl (0.075M). Cette dernière entraîne un gonflement des cellules par effet osmotique. Les cellules ont été fixées pour préserver leurs structures internes et pour pouvoir appliquer les techniques de colorations et de marquages chromosomiques. Les culots (Figure 24) issus de toutes les cultures ont été rassemblés en 4 tubes différents. Pour chaque tube, une douzaine de lames ont été étalées. Les lames ont été observées au microscope photonique (Zeiss Primostar) en contraste de phase grossissement (GX10) et (GX40). Seules les lames présentant un indice mitotique de 10 métaphases par champs de vision (GX10), et montrant la présence de chromosomes allongés et non dispersés, ont été sélectionnées (Figure 25). Ceci afin d'effectuer des marquages chromosomiques mettant en évidence des bandes morphologiques GTG et des bandes dynamiques RBG. Les métaphases jugées intéressantes ont été analysées au grossissement (GX100) et photographiées (Canon Powershot A640 digital camera 10.0 megapixels).

4. Marquages chromosomiques et première description des chromosomes de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* en bandes structurales GTG

Les métaphases obtenues à partir des cultures n'ayant subi aucun traitement lors de la culture cellulaire ont été soumises à une protéolyse par de la trypsine. Cette dernière hydrolyse les régions associées à des protéines particulières le long des chromosomes (Dutrillaux et Couturier, 1981; Ladjali *et al.*, 1995). Les lames ont été, ensuite, colorées avec le Giemsa. Le temps de coloration par le Giemsa a été estimé à 20 minutes seulement, en raison de la forte imprégnation des chromosomes des bovidés par ce colorant (Comings, 1978). Les lames sont utilisées 3 à 10 jours après leur étalement. Ces bandes permettent la caractérisation précise des chromosomes. Ces techniques sont reproductibles seulement si toutes les conditions de coloration sont respectées, comme le pH, la concentration de la trypsine et l'âge de la lame.

Environ 10 à 20 lames par tubes ont été analysées dans cette étude, avec en moyenne 10 métaphases par lame. La plupart des métaphases obtenues étaient complètes. L'établissement du caryotype de la gazelle dorcas a été réalisé après la prise de photos des métaphases colorées (Canon Powershot A640 digital camera 10.0 megapixels) et après découpage des chromosomes avec le logiciel Adobe Photoshop 8.0.

La visualisation des métaphases complètes qui ne présentent pas des chevauchements importants (Figure 26), a permis d'établir le caryotype de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* en bandes morphologiques GTG. Dans l'étude du caryotype déjà proposé (Vassart *et al.*, 1995), les chromosomes n'ont pas été décrits avec précision et ils n'ont pas non plus été classés.



Figure 26: Métaphase de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* de sexe mâle, après coloration en bandes GTG (Microscope optique GX100).

Tableau V : Chromosomes mesurés (μm) avec le logiciel Adobe Photoshop 8.0, en bandes GTG de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* de sexe mâle et femelle.

Chromosomes	<i>Gazella dorcas neglecta</i> de sexe mâle		<i>Gazella dorcas neglecta</i> de sexe femelle	
	Largeurs	Longueurs	Largeurs	Longueurs
1	6500	37900	6100	20900
2	6400	37000	6000	18500
3	6500	36200	6000	16400
4	6500	36000	6100	16200
5	6400	31200	6100	15300
6	6500	28800	6100	15100
7	6500	28000	6100	14800
8	6400	27800	6000	12000
9	6400	26300	6000	11200
10	6500	25000	6100	9800
11	6500	20400	6000	9000
12	6400	18500	6100	7800
13	6400	18300	6100	7400
14	6500	14000	6000	5500
X	6500	30500	6100	29800
Y1	6400	7700	-	-
Y2	6400	16100	-	-

Aussi, l'analyse des chromosomes (Vassart *et al.*, 1995) a été établie selon leurs homologies avec le caryotype standard du bœuf (ISCNDA, 1989). Ce dernier est considéré comme le caryotype ancestral des bovidés (Wurster et Benirschke, 1968). De plus, on ne connaît pas l'origine et la sous-espèce de la gazelle dorcas qui a été étudiée (Vassart *et al.*, 1995). Pour classer les chromosomes de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* en bandes GTG, nous avons mesuré les chromosomes issus d'une même métaphase (Tableau V).

Dans cette présente étude, nous proposons pour la première fois, un classement des chromosomes de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* selon la taille par ordre décroissant et la position du centromère (ISCNDA, 1989).

Le nombre diploïde des chromosomes de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* a été estimé à 31 chromosomes chez le mâle et 30 chromosomes chez la femelle. Le caryotype du mâle est composé de 28 autosomes qui sont métacentriques à submétacentriques, d'un chromosome sexuel X qui est acrocentrique, d'un chromosome sexuel Y1 qui est acrocentrique et d'un autosome Y2 qui est également acrocentrique. Tandis que le caryotype de la femelle est constitué de 28 autosomes qui sont métacentriques à submétacentriques et d'une paire de chromosomes sexuels XX qui sont acrocentriques. Le caryotype en bandes GTG de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* est décrit pour la première fois ci-dessous (Figure 27 et 28).

Le chromosome 1 est submétacentrique. Le bras court (p) présente 2 bandes positives et 2 bandes négatives. Le bras long (q) présente 2 bandes positives et 2 bandes négatives.

Le chromosome 2 est métacentrique. Il possède un bras court (p) avec 2 bandes positives alternées de 2 bandes négatives. Le bras long (q) présente 3 bandes positives et 2 bandes négatives.

Le chromosome 3 est submétacentrique. Le bras court (p) présente 1 bande positive et 2 bandes négatives. Le bras long (q) présente 2 bandes positives et 3 bandes négatives.

Le chromosome 4 est submétacentrique. Tandis que le bras court (p) présente 1 bande positive et 1 bande négative, le bras long (q) présente 3 bandes positives et 3 bandes négatives.

Le chromosome 5 est submétacentrique. Le bras court (p) possède 2 bandes positives et 2 bandes négatives. Le bras long (q) présente 2 bandes positives et 3 bandes négatives.

Le chromosome 6 est métacentrique. Le bras court (p) présente 2 bandes positives et 1 bande négative. Le bras long (q) présente 1 bande négative et 2 bandes positives.

Le chromosome 7 est métacentrique. Le bras court (p) présente 2 bandes positives alternées de 2 bandes négatives. Le bras long (q) présente 3 bandes positives et 2 négatives.

Le chromosome 8 est submétacentrique. Tandis que le bras court (p) présente 1 bande positive et 2 bandes négatives, le bras long (q) présente 3 bandes positives et 2 bandes négatives.

Le chromosome 9 est métacentrique. Le bras court (p) présente 1 bande positive et 2 bandes négatives. Le bras long (q) présente 2 bandes positives et 2 bandes négatives.

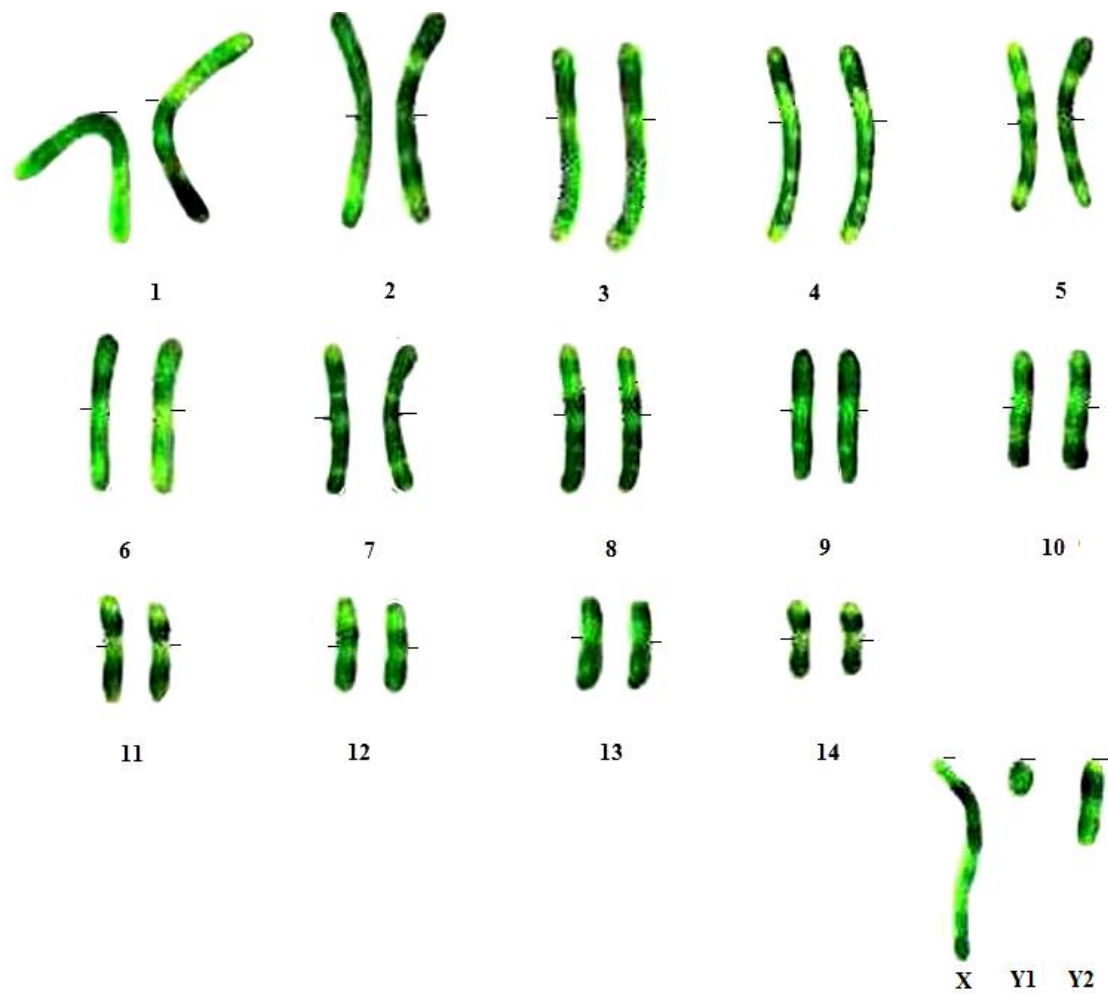


Figure 27: Caryotype en prométaphase des bandes GTG de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* de sexe mâle du Parc Zoologique de Ben Aknoun.

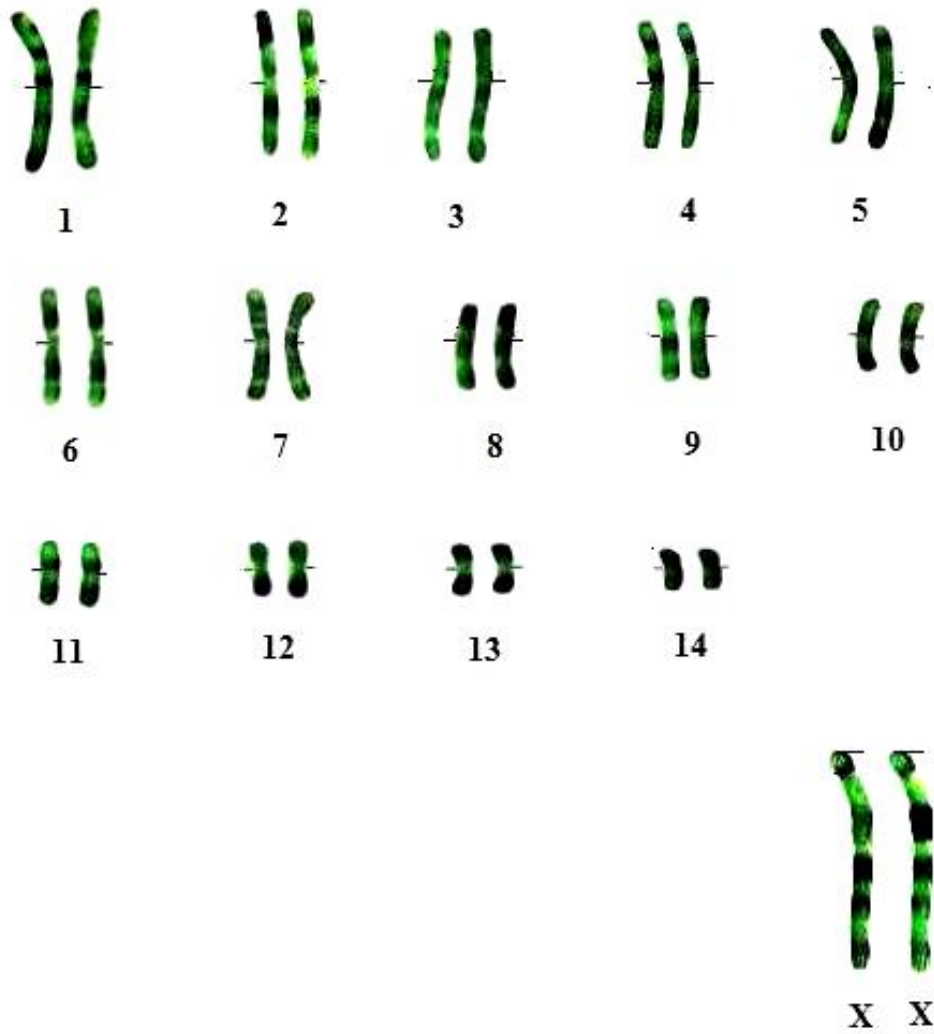


Figure 28: Caryotype en bandes GTG de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* de sexe femelle du Parc Zoologique de Ben Aknoun.

Le chromosome 10 est métacentrique. Le bras court (p) possède 1 bande positive et 2 bandes négatives. Le bras long (q) présente 2 bandes positives et 2 bandes négatives.

Le chromosome 11 est submétacentrique. Le bras court (p) présente 1 bande positive et 1 bande négative. Le bras long (q) présente 1 bande positive et 2 bandes négatives.

Le chromosome 12 est métacentrique. Le bras court (p) présente 1 bande positive et 1 bande négative. Le bras long (q) présente 1 bande positive et 1 bande négative.

Le chromosome 13 est métacentrique. Les deux bras présentent 1 bande positive et une fine bande négative.

Le chromosome 14 est métacentrique. Les deux bras présentent 1 bande positive et une fine bande négative.

Le chromosome X est acrocentrique. Le bras long (q) présente 6 bandes positives et 6 bandes négatives (Figure 27 et 28).

Le chromosome Y2 est acrocentrique. Il possède 2 bandes négatives et 3 bandes positives.

Le chromosome Y1 est un petit acrocentrique. Il présente 1 bande négative et une fine bande positive.

5. Marquages chromosomiques et première description des chromosomes de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* en bandes dynamiques RBG

Nous avons appliqué la technique qui révèle les bandes dynamiques RBG sur des préparations chromosomiques dont l'ADN a été modifié durant la culture cellulaire par l'incorporation du BrdU. L'addition de ce dernier permet à l'ADN chromosomique de contenir le BrdU dans les régions correspondantes à l'euchromatine riche en séquences AT qui se répliquent tardivement. Après la coloration par la technique FPG (Fluorochrome-Photolyse-Giemsa) ce sont les bandes R, à répllication précoce, qui sont visualisées. Le taux d'incorporation du BrdU lors de la répllication de l'ADN détermine la résolution des bandes RBG. Cette incorporation est à peu près équivalente dans toutes les cellules récoltées, car ce type de méthode est appliqué sur des cultures synchronisées qui sont au même stade du cycle cellulaire. Pour augmenter le rendement de l'incorporation du BrdU, du FdU a été ajouté à la culture cellulaire.

La visualisation des métaphases complètes qui ne présentent pas des chevauchements importants, a permis d'établir le caryotype de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* en bandes dynamiques RBG. Le nombre diploïde de chromosomes de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* a été estimé à 31 chromosomes chez le mâle et 30 chromosomes chez la femelle. Le caryotype du mâle est composé de 28 autosomes qui sont métacentriques à submétacentriques, d'un chromosome sexuel X qui est acrocentrique, d'un chromosome sexuel Y1 qui est acrocentrique et d'un autosome Y2 qui est également acrocentrique (Figure 29).

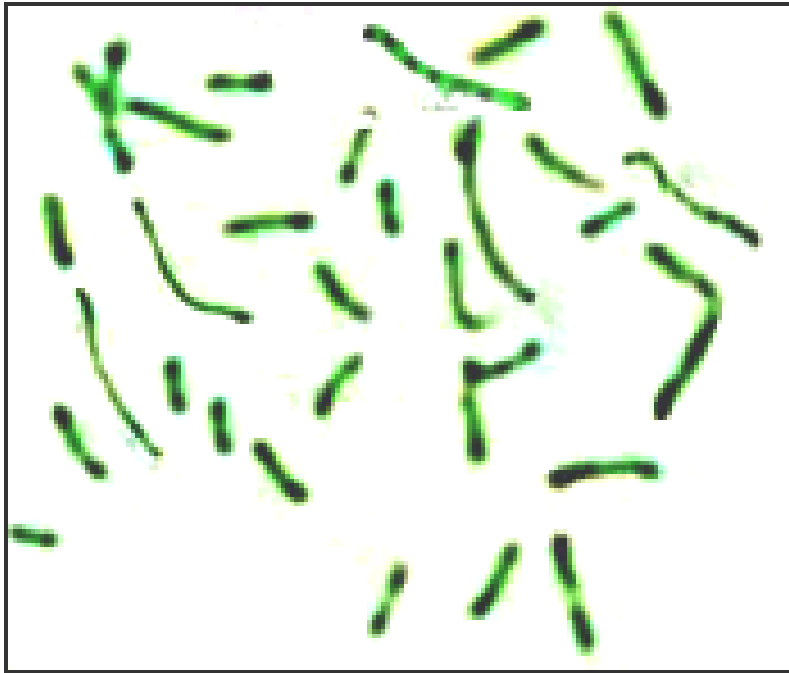


Figure 29: Métaphase de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* de sexe femelle, après coloration en bandes RBG (Microscope optique GX100).

Tableau VI : Chromosomes mesurés (cm) avec le logiciel Adobe Photoshop 8.0, en bandes RBG de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* de sexe mâle et femelle

Chromosomes	<i>Gazella dorcas neglecta</i> de sexe mâle		<i>Gazella dorcas neglecta</i> de sexe femelle	
	Largeurs	Longueurs	Largeurs	Longueurs
1	6200	38900	6100	18900
2	6200	38000	6000	17700
3	6100	36000	6000	16000
4	6200	35500	6100	15800
5	6200	31200	6100	15200
6	6100	24300	6100	15000
7	6200	23000	6100	14300
8	6100	20500	6000	11800
9	6100	20100	6000	11100
10	6200	19700	6100	9500
11	6200	15900	6000	7900
12	6100	14000	6100	7000
13	6100	13000	6100	6400
14	6200	11500	6000	5300
X	6200	10000	6100	27800
Y1	6000	7700	-	-
Y2	6200	15200	-	-

Nous avons mesuré et classé les chromosomes issus d'une même métaphase (Tableau VI) par ordre décroissant et selon la position du centromère, comme pour le caryotype standard des bovins (ISCNDA, 1989).

Nous proposons, pour la première fois, des descriptions précises des chromosomes de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* en bandes dynamiques RBG, ci-dessous (Figure 30 et 31).

Le chromosome 1 est submétacentrique. Le bras court présente 3 bandes positives et 2 bandes négatives. Le bras long présente 2 bandes positives et 2 bandes négatives.

Le chromosome 2 est métacentrique. Le bras court présente 2 bandes positives et 2 bandes négatives. Le bras long présente 2 bandes positives et 2 bandes négatives.

Le chromosome 3 est submétacentrique. Le bras court présente 1 bande positive et 1 bande négative. Le bras long présente 2 bandes positives et 2 bandes négatives.

Le chromosome 4 est submétacentrique. Le bras court présente 1 bande positive et 1 bande négative. Le bras long présente 3 bandes positives et 2 bandes négatives.

Le chromosome 5 est submétacentrique. Le bras court possède 2 bandes positives et 2 bandes négatives. Le bras long présente 2 bandes positives et 2 bandes négatives.

Le chromosome 6 est métacentrique. Le bras court présente 2 bandes positives et 1 bande négative. Le bras long possède 2 bandes négatives et 1 bande positive.

Le chromosome 7 est métacentrique. Le bras court présente 2 bandes positives et 1 bande négative. Le bras long présente 2 bandes positives et 1 bande négative.

Le chromosome 8 est submétacentrique. Tandis que le bras court présente 1 bande positive et 1 bande négative, le bras long présente 2 bandes positives et 2 bandes négatives.

Le chromosome 9 est métacentrique. Le bras court possède 1 bande positive et 1 bande négative. Le bras long possède 2 bandes positives et 2 bandes négatives.

Le chromosome 10 est métacentrique. Le bras court présente 1 bande positive et 1 bande négative. Le bras long présente 2 bandes positives et 2 bandes négatives.

Le chromosome 11 est submétacentrique. Le bras court présente 1 bande positive et 1 bande négative. Le bras long présente 1 bande positive et 1 bande négative.

Le chromosome 12 est métacentrique. Le bras court présente 1 bande positive et 1 bande négative. Le bras long présente 1 bande positive et 1 bande négative.

Le chromosome 13 est métacentrique. Les deux bras possèdent 1 bande positive et une fine bande négative.

Le chromosome 14 est métacentrique. Les deux bras présentent 1 bande positive et une fine bande négative.

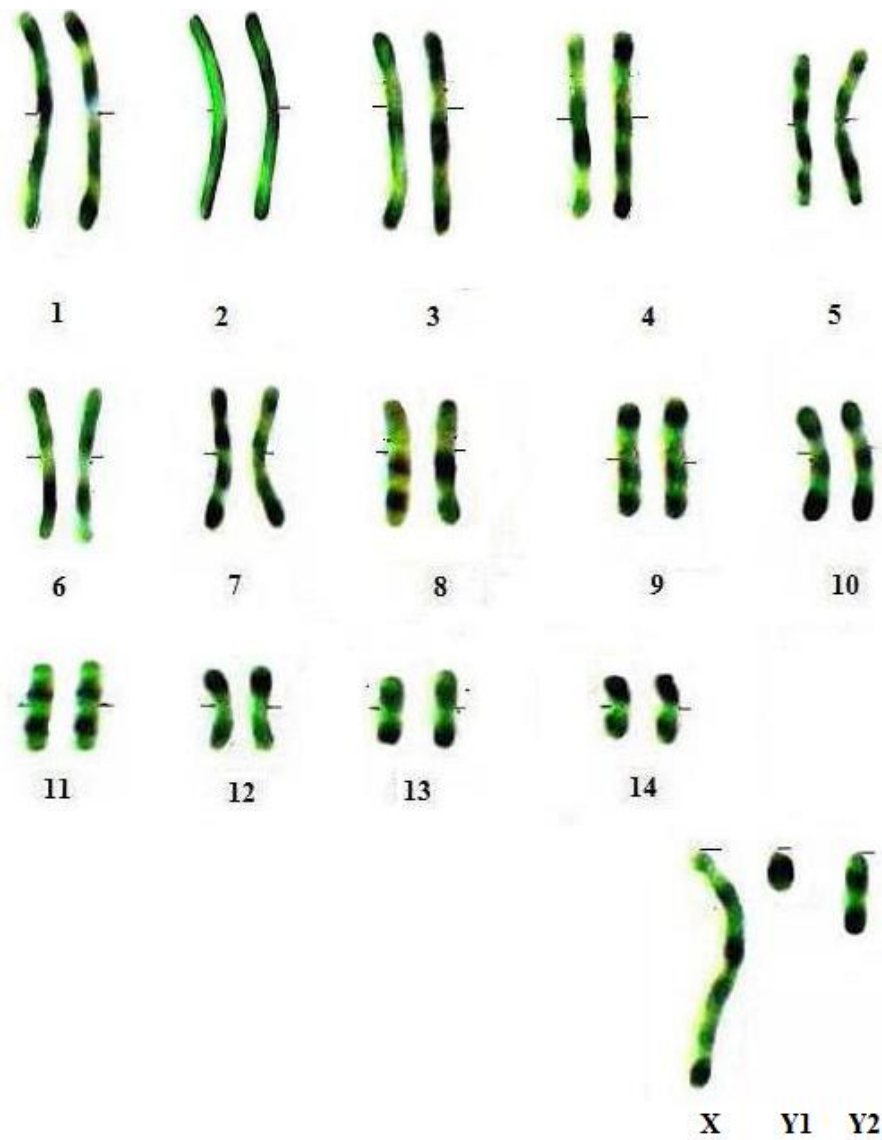


Figure 30: Caryotype en prométaphase des bandes RBG de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* de sexe mâle du Parc Zoologique de Ben Aknoun.

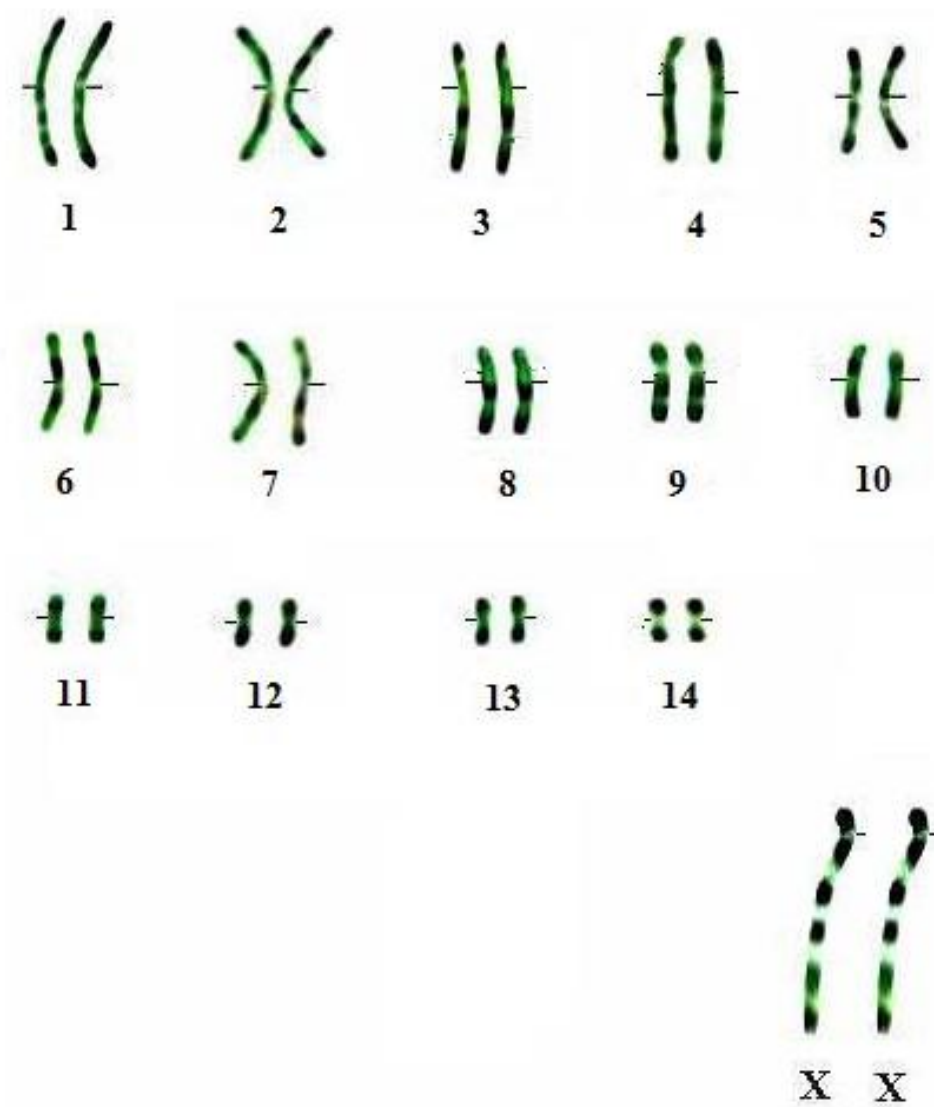


Figure 31: Caryotype en bandes RBG de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* de sexe femelle du Parc Zoologique de Ben Aknoun.

Le chromosome X est acrocentrique. Le bras long possède 6 bandes positives et 6 bandes négatives (Figure 30 et 31).

Le chromosome Y1 est acrocentrique. Il présente 2 bandes négatives et 3 bandes positives.

Le chromosome Y2 est un petit acrocentrique. Il présente 1 bande négative et une fine bande positive.

DISCUSSIONS

1. Cultures cellulaires

Pour la réalisation de cette étude, des difficultés ont été rencontrées pour l'obtention des prélèvements sanguins. En effet, les animaux en captivité du Parc Zoologique de Ben Aknoun sont très stressés en enclos et un arrêt cardiaque peut survenir au moment du prélèvement. La capture des gazelles est une technique difficile car il faut maîtriser les protocoles anesthésiants spécifiques aux espèces sauvages (Greth *et al.*, 1993). Ces derniers ne sont pas disponibles en Algérie. Par ailleurs, les animaux qui sont installés au Parc Zoologique sont d'origine inconnue, mais d'après les caractéristiques phénotypiques et notamment les cornes, il s'agirait bien de la sous-espèce *Gazella dorcas neglecta*.

La culture de lymphocytes a été effectuée, pour la première fois en Algérie, chez la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta*. Elle nous a permis d'obtenir des métaphases et de décrire les chromosomes de la gazelle dorcas en bandes morphologiques GTG. Aussi, nous avons obtenu des bandes dynamiques RBG, pour la première fois, dans ce travail. Les techniques appliquées ont été adaptées à cette espèce à partir de protocoles mis au point pour la culture de lymphocytes chez l'homme et les mammifères (Dutrillaux et Courturier, 1981).

Les caryotypes de la gazelle dorcas, déjà décrits dans la littérature, en bandes GTG uniquement, ont été obtenus à partir de cultures de fibroblastes (Effron *et al.*, 1976; Vassart *et al.*, 1995). Pour les raisons déjà évoquées précédemment, il nous a été impossible d'effectuer des biopsies pour la mise en culture des fibroblastes.

Contrairement à ce qui a été rapporté dans la littérature, par rapport à la culture de lymphocytes des bovidés, nous avons obtenu de bons résultats avec cette méthode dans notre présent travail. En effet, la division des lymphocytes a été stimulée par l'action de la concanavaline A. Le culot de lymphocytes obtenu après 72h de culture était important. Alors, l'action de ce mitogène est bien adaptée aux bovidés. Nous avons réalisé deux types de blocages avec de la thymidine en excès pour la synchronisation des cellules. L'un pendant 15 heures et l'autre pendant 18 heures. Les chromosomes issus du premier blocage étaient contractés, alors que les chromosomes issus du deuxième blocage étaient allongés. Nous pouvons donc conclure que la synchronisation a été réalisée avec succès. Pour obtenir des bandes dynamiques RBG, nous avons incorporé du BrdU. Le temps nécessaire pour l'incorporation du BrdU varie selon les espèces. Cet intervalle de temps a été estimé à 7-8 heures, pour la première fois. En effet, les bandes RBG nécessitant l'incorporation du BrdU lors de la réplication de l'ADN, n'ont jamais été obtenues chez la gazelle dorcas, ni chez les autres les gazelles étudiées, à ce jour.

2. Marquages chromosomiques et première description précise des chromosomes de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta*

L'application des techniques de synchronisation cellulaire et de marquages chromosomiques en bandes morphologiques GTG et dynamiques RBG, a été réalisée avec succès. Ceci nous a permis de proposer le caryotype de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* locale, pour la première fois. Les chromosomes obtenus à partir de cultures n'ayant subi aucun traitement au préalable, ont été soumis à une digestion enzymatique par de la trypsine.

Les chromosomes ont été colorés pendant 20 minutes seulement par le Giemsa, en raison de la forte imprégnation des chromosomes des bovidés par ce colorant (Comings, 1978). La qualité des bandes GTG obtenues dans ce travail, peut être améliorée en modifiant le temps de vieillissement des lames et la durée de digestion par de la trypsine. L'analyse des

métaphases complètes a permis d'établir le caryotype de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* en bandes GTG. Le caryotype de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* en bandes GTG déjà établi (Vassart *et al.*, 1995) nous a facilité l'identification individuelle des chromosomes. En effet, dans le caryotype proposé (Vassart *et al.*, 1995), les chromosomes ont été établis dans le cadre d'une étude phylogénique. Ainsi, des homologies avec le caryotype standard du bœuf ont été mises en évidence (Vassart *et al.*, 1995). De même, les chromosomes n'ont jamais été décrits avec précision et ils n'ont pas non plus été classés. La gazelle dorcas déjà étudiée est d'origine et de sous-espèce inconnue et par conséquent, on ne sait pas s'il s'agit de la même sous-espèce *Gazella dorcas neglecta*. Comme il n'existe pas de caryotype standard des gazelles, nous avons pris comme référence le caryotype standard du bœuf (ISCNDA, 1989). Nous avons proposé pour la première fois, un caryotype classé selon l'ordre décroissant des chromosomes et selon la position des centromères. Le caryotype standard du bœuf *Bos taurus* est constitué de 29 paires de chromosomes qui sont tous acrocentriques, d'un chromosome sexuel X qui est submétacentrique et d'un chromosome sexuel Y qui est submétacentrique (ISCNDA, 1989; Iannuzzi, 1990; Iannuzzi *et al.*, 1990; Di Bernardino *et al.*, 1991; Hayes *et al.*, 1991; Iannuzzi et Di Meo, 1996).

Le caryotype en bandes RBG obtenu, pour la première fois, chez la gazelle *Gazella dorcas neglecta* montre des chromosomes présentant une alternance de bandes sombres et claires. La qualité des bandes est moyenne et nécessite donc une mise au point pour améliorer leur résolution. On note qu'il est plus facile de distinguer les régions centromériques des chromosomes avec les bandes RBG qu'avec les bandes GTG (Ladjali *et al.*, 1995). Cependant, les bandes dynamiques RBG ne sont pas exactement l'inverse des bandes morphologiques GTG.

3. Cartographies Chromosomiques Comparées

Une comparaison du caryotype en bandes GTG obtenu dans cette étude avec celui de la gazelle dorcas déjà établi, et dont la sous-espèce demeure inconnue (Vassart *et al.*, 1995) a été effectuée. Le nombre de chromosomes diploïde de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* obtenu dans cette étude est identique à celui qui a été déjà établi (Vassart *et al.*, 1995). La comparaison des chromosomes a révélé la présence de similitudes entre les chromosomes homologues (15 paires d'autosomes et les chromosomes sexuels XY1Y2 et XX). Ceci pourrait suggérer l'appartenance de l'espèce étudiée dans la littérature (Vassart *et al.*, 1995) à la même sous-espèce d'Algérie *Gazella dorcas neglecta*.

Par ailleurs, nous avons classé, pour la première fois, les chromosomes de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* par ordre décroissant et selon la position du centromère en prenant comme référence la nomenclature standard établie chez les bovins (ISCNDA, 1989). Ainsi, les chromosomes 3, 4, 5, 6 et 7 de la gazelle dorcas locale correspondent, respectivement, aux chromosomes 7, 6, 4, 5 et 3 de la gazelle dorcas déjà étudiée (Figure 32). Les chromosomes sexuels de la gazelle dorcas présentent des particularités. En effet, cette espèce possède une formule gonosomique XY1Y2. Le chromosome sexuel X est acrocentrique. Le chromosome sexuel Y1 est acrocentrique et il est semblable à celui de la chèvre mais plus petit que celui du bœuf (Hayes et Petit, 1991).

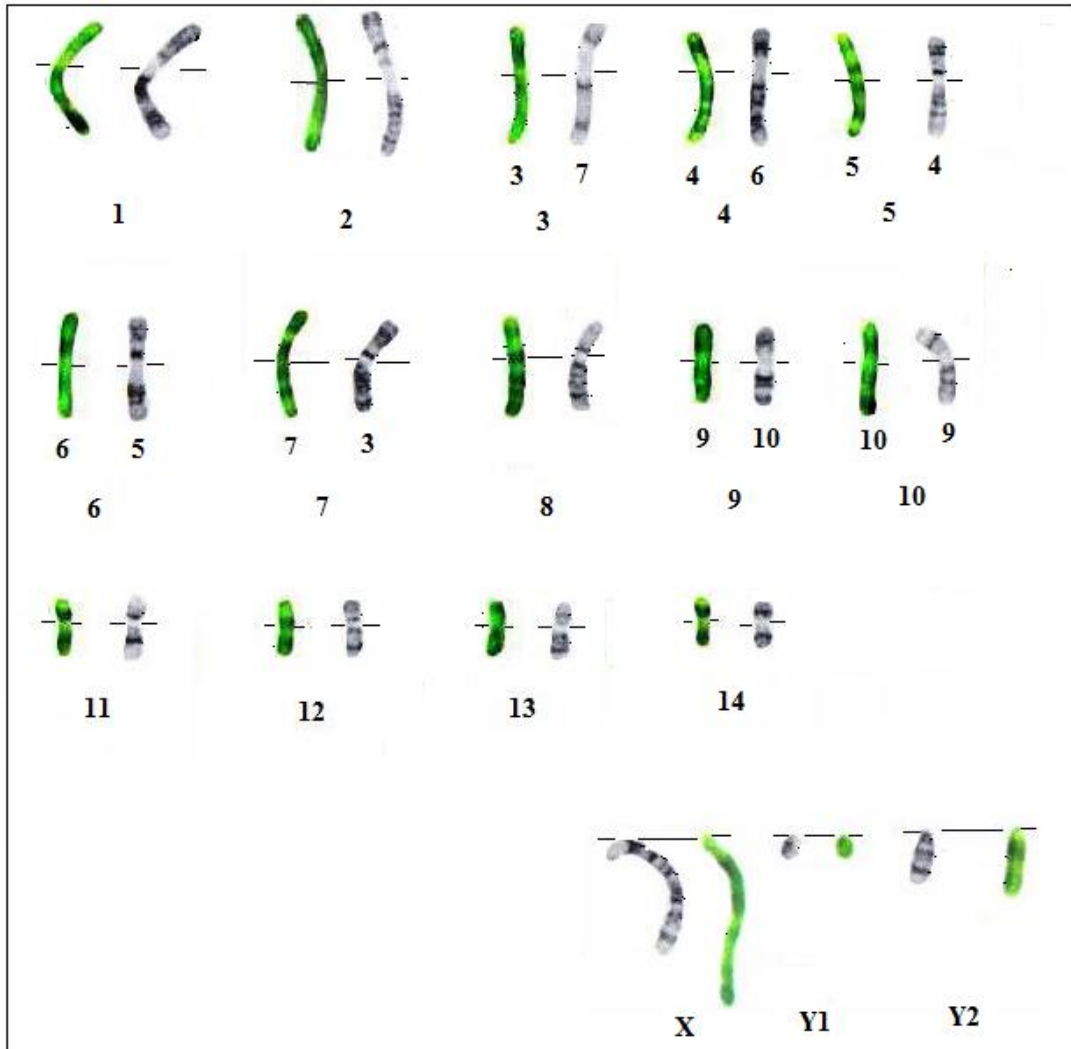


Figure 32: Comparaison des chromosomes en bandes GTG de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* (à gauche) avec les chromosomes de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* du Parc Zoologique de Vincennes (à droite) (Vassart *et al.*, 1995).

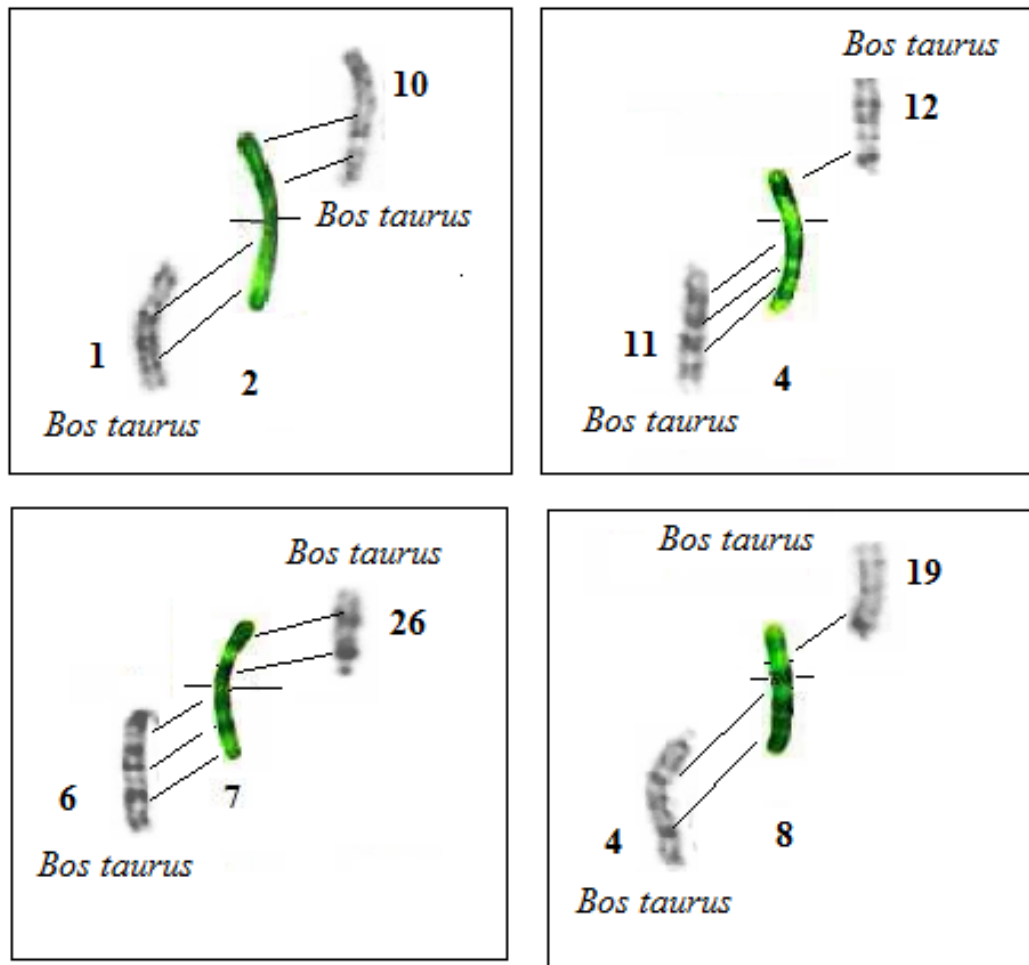


Figure 33 : Comparaison des chromosomes de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* en bandes GTG avec les chromosomes du bœuf *Bos taurus* (ISCNDA, 1989). Les traits représentent les homologies entre les deux espèces.

Le chromosome Y2 est un autosome acrocentrique qui est issu de remaniements chromosomiques de types translocations (Vassart *et al.*, 1995). En effet, une translocation impliquant le chromosome sexuel X d'un caryotype ancestral des bovins et un chromosome autosome homologue du Y2, chez les gazelles, est à l'origine de la formation du chromosome X de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* (Vassart *et al.*, 1995). L'autre chromosome Y2 a été classé parmi la formule sexuelle. Cette translocation du chromosome X et de l'autosome a été aussi décrite chez toutes les gazelles et chez les gerbillidae (Viegas-Pequignot *et al.*, 1982), les marsupiaux (Sharman, 1961) et les souris (Searle, 1962). Les gazelles *Gazella soemmeringi* (Benirschke *et al.*, 1984) et *Gazella dama* (Arroyo Nombela *et al.*, 1990) présentent un mécanisme de détermination du sexe de type X1X2Y1Y2 chez le mâle et X1X1X2X2 chez la femelle. Ce mécanisme est dû à des translocations impliquant des chromosomes sexuels X et Y et des autosomes (Vassart *et al.*, 1995).

La comparaison des chromosomes de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* avec les chromosomes du caryotype standard du bœuf *Bos taurus* (ISCNDA, 1989) a permis de mettre en évidence des homologies entre les différents bras chromosomiques de la gazelle dorcas et les chromosomes acrocentriques du caryotype ancestral du bœuf. En effet, le caryotype de la gazelle *Gazella dorcas neglecta*, composé de chromosomes métacentriques à submétacentriques, serait le résultat de nombreuses fusions centriques issues des chromosomes du caryotype ancestral des bovins (Figure 33) (Wurster et Benirschke, 1968; Buckland et Evans, 1978).

Le chromosome classé 9 (Vassart *et al.*, 1995) et que nous avons classé en 10 et le chromosome 14 de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* ne présentent aucune homologie avec les chromosomes du bœuf mais avec ceux de la chèvre. C'est-à-dire que le chromosome que nous avons classé en 10 est issu d'une fusion centrique des chromosomes 22 et 16 du caryotype ancestral de la chèvre. Alors que, le chromosome 14 de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* serait issu d'une fusion entre les chromosomes 28 et 27 du caryotype ancestral de la chèvre (Buckland et Evans, 1978; Vassart *et al.*, 1995).

Le chromosome que nous avons classé en 7 chez la gazelle *Gazella dorcas neglecta* et qui correspond au chromosome 3 dans le caryotype déjà proposé (Vassart *et al.*, 1995) ne présente aucune homologie avec les chromosomes du bœuf et de la chèvre. Ce chromosome pourrait être le résultat d'une inversion paracentrique (Hayes *et al.*, 1991; Kaftanovskaya et Serov, 1994; Iannuzzi et Di Meo, 1996) accompagnée de réarrangements intrachromosomiques complexes (Iannuzzi *et al.*, 2000). Aussi, il semble que la partie distale du chromosome sexuel X de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* est homologue du chromosome 5 du bœuf. Ceci serait le résultat d'une translocation entre le chromosome X et le chromosome 5 du caryotype ancestral des bovins.

3.1. Comparaisons des caryotypes de la gazelle dorcas et de la gazelle gazella

La comparaison du caryotype en bandes GTG de la gazelle dorcas *Gazella dorcas* avec le caryotype de la gazelle gazella *Gazella gazella* (Figure 34) (Vassart *et al.*, 1995) a été réalisée. La gazelle gazella est une espèce Sahélo-Saharienne très proche, sur le plan phylogénique, de la gazelle dorcas (Kumamoto et Bogart, 1984). Le nombre de chromosomes diploïde de la gazelle dorcas est de 31 chromosomes, alors qu'il est de 34 chromosomes chez la gazelle gazella (Vassart *et al.*, 1995).

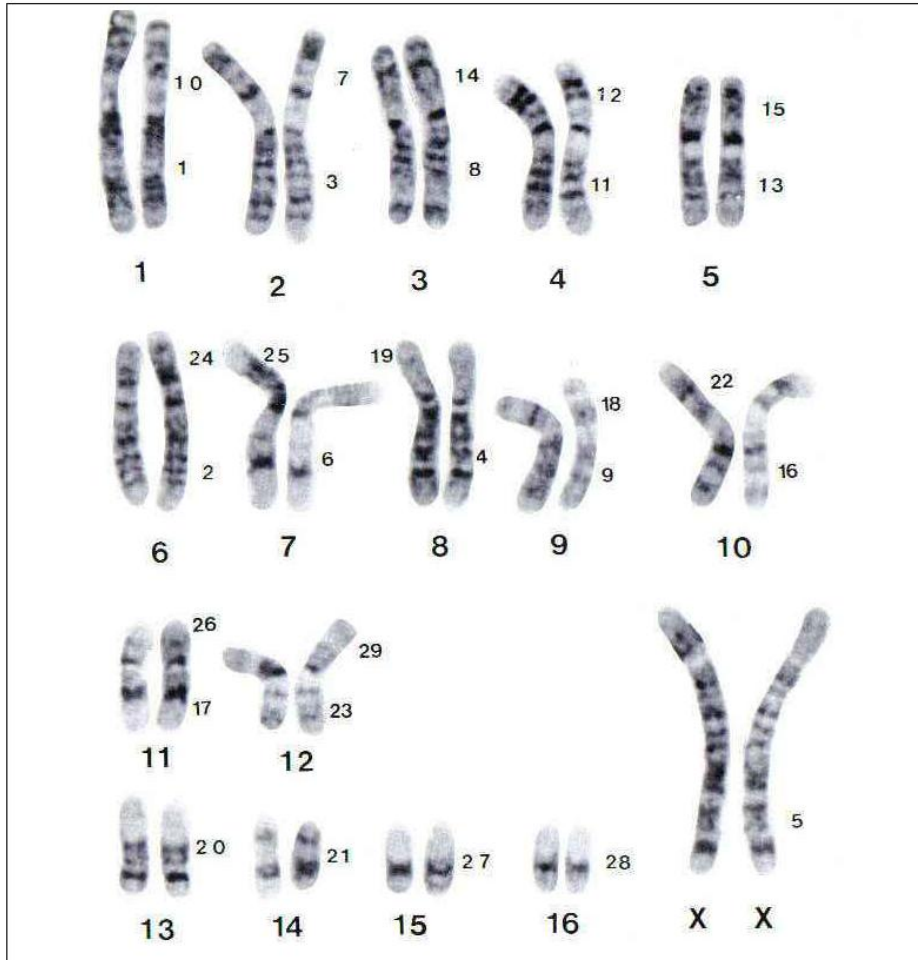


Figure 34 : Caryotype de la gazelle *Gazella gazella* en bandes GTG (Vassart *et al.*, 1995).

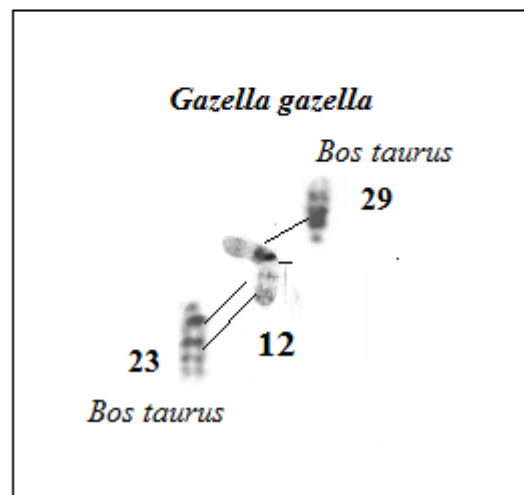
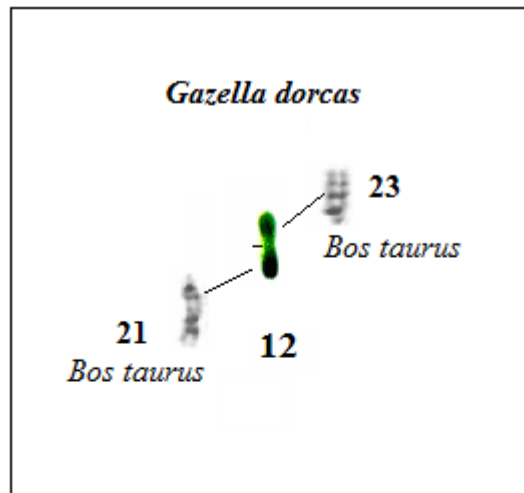


Figure 35 : Comparaison du chromosome 12 en bandes GTG de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* et de la gazelle gazella *Gazella gazella* avec les chromosomes homologues du bœuf (ISCNDA, 1989).

Les caryotypes de la gazelle dorcas et de la gazelle gazella ont été comparés dans le cadre d'une étude phylogénique (Vassart *et al.*, 1995) où les chromosomes ont été classés selon leur homologie avec le caryotype standard du bœuf (ISCNDA, 1989). Ces caryotypes montrent des homologies pour les 12 premières paires chromosomiques chez les deux espèces et ne diffèrent que par deux réarrangements chromosomiques. En effet, les chromosomes 13 et 14 de la gazelle dorcas sont métacentriques alors que ceux de la gazelle gazella sont acrocentriques. De plus, les bras chromosomiques du chromosome 12 de la gazelle dorcas sont homologues aux chromosomes 21 et 23 du bœuf. Tandis que chez la gazelle gazella, les bras du chromosome 12 sont homologues des chromosomes 29 et 23 du bœuf (Figure 35). (Vassart *et al.*, 1995).

De nombreuses études ont montré que la gazelle dorcas et la gazelle gazella sont deux espèces très proches mais leur morphologie externe est différente (Effron *et al.*, 1976).

3.2. Comparaisons des caryotypes de la gazelle dorcas et de la gazelle leptocère

Les chromosomes en bandes GTG obtenus dans cette étude ont été comparés aux chromosomes de la gazelle leptocère *Gazella leptoceros* (Vassart *et al.*, 1995) (Figure 36). Il s'agit d'une autre espèce locale menacée de disparition classée en danger d'extinction (UICN, 2007). D'un point de vue phylogénique, ces deux espèces sont éloignées (Vassart *et al.*, 1995). Comme ces deux espèces sont présentes en Algérie et étudiées dans notre Laboratoire, nous avons trouvé intéressant de comparer leurs caryotypes en bandes GTG. Cette comparaison a montré beaucoup de différences entre les deux espèces. En effet, le caryotype de la gazelle dorcas comporte 14 paires de chromosomes alors que celui de la gazelle leptocère possède 15 paires chromosomiques (Effron *et al.*, 1976).

Des homologies ont été aussi observées pour le bras long du chromosome 2, le bras long du chromosome que nous classons en 3 dans cette présente étude et qui correspond au chromosome 7 du caryotype déjà proposé (Vassart *et al.*, 1995). Cependant, le chromosome Y1 de la gazelle leptocère est légèrement plus grand que celui de la gazelle dorcas. Le chromosome sexuel X de la gazelle dorcas est acrocentrique alors qu'il est submétacentrique chez la gazelle leptocère. Le chromosome 13 est métacentrique chez la gazelle dorcas alors qu'il est télocentrique chez la gazelle leptocère. Le chromosome 14 de la gazelle dorcas est métacentrique alors que celui de la gazelle leptocère est acrocentrique. Ces résultats ont également montré la conservation du chromosome Y2 chez les deux gazelles.

Les chromosomes des gazelles présentent beaucoup de ressemblances avec les chromosomes du bœuf (Gallagher et Womack, 1992). Des études comparatives entre les différentes espèces de bovidés suggèrent que l'évolution chromosomique des gazelles s'est produite essentiellement par des fusions centriques à partir d'un caryotype ancestral comportant 58 chromosomes tous acrocentriques, comme celui de la chèvre domestique ou celui du bœuf (Wurster et Benirschke, 1968).

Ainsi, le chromosome 13 de la gazelle dorcas, aurait pu résulter d'une fusion Robertsonienne impliquant deux chromosomes acrocentriques. De même le chromosome 14 de la gazelle dorcas aurait pu subir une inversion péricentrique au cours de l'évolution donnant naissance à un chromosome acrocentrique chez la gazelle leptocère (Figure 37). Puisque, la gazelle leptocère a divergé après la gazelle dorcas (Rebholz et Harley, 1999).

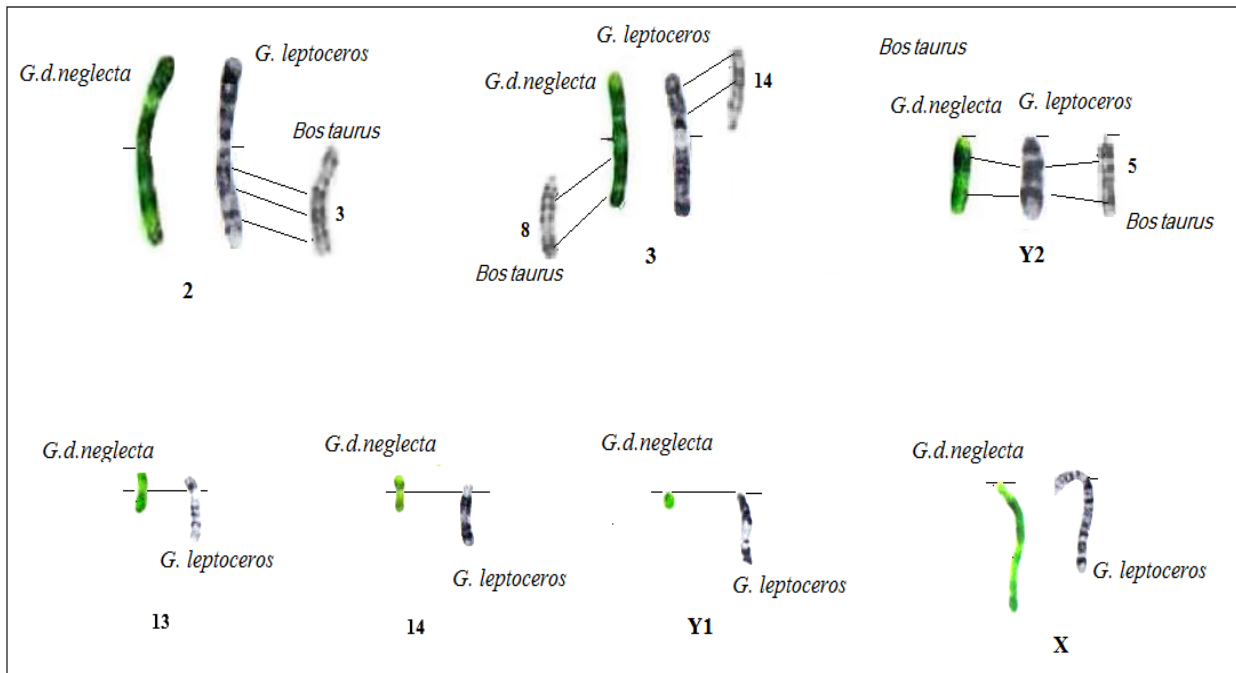
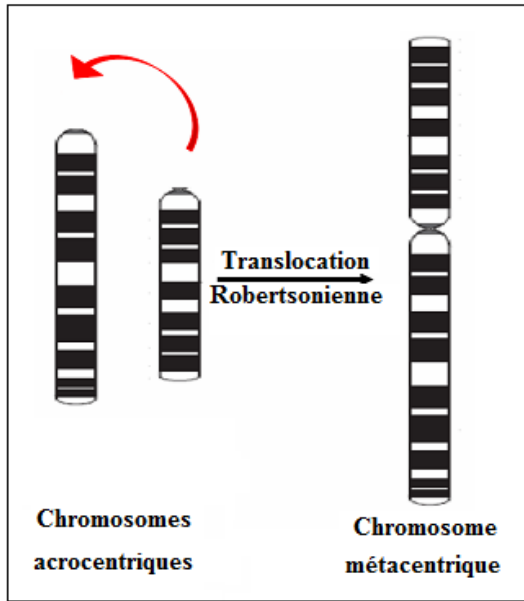
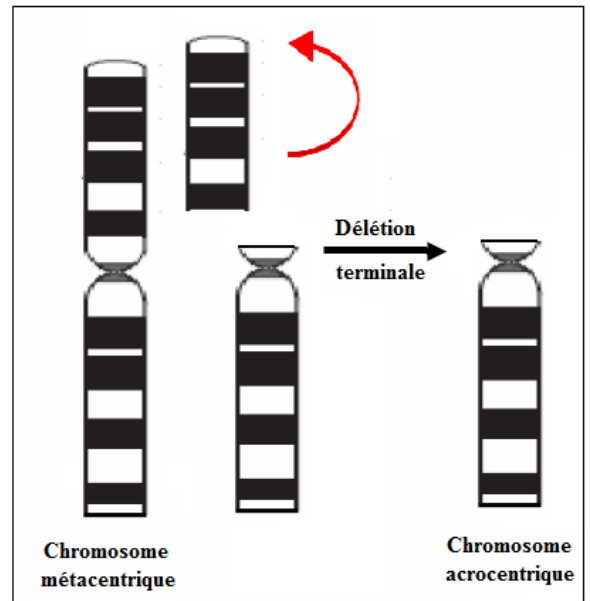


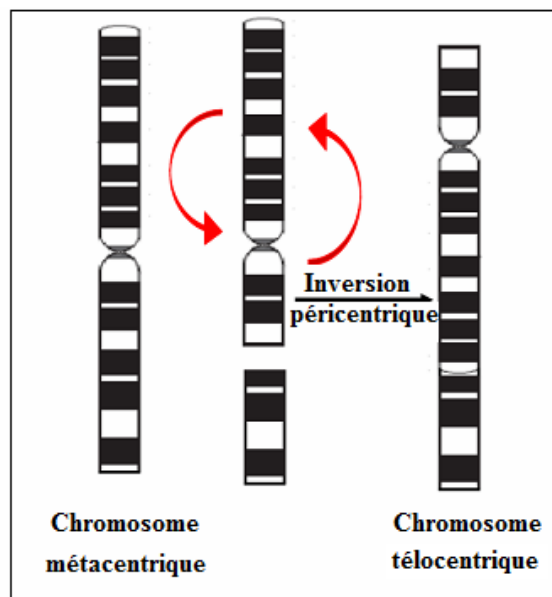
Figure 36 : Similitudes et différences des chromosomes en bandes GTG de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* (à gauche) avec les chromosomes de la gazelle leptocère *Gazella leptoceros* (à droite). Des homologies ont été établies avec le caryotype standard du bœuf (Vassart *et al.*, 1995).



(A)



(B)



(C)

Figure 37: Eventuels réarrangements chromosomiques à l'origine de la formation des chromosomes métacentriques (A), des chromosomes acrocentriques (B) et des chromosomes télacentriques (C) qui se seraient produits durant l'évolution des gazelles.

*CONCLUSIONS ET
PERSPECTIVES*

Conclusions et Perspectives

Cette étude consacrée à l'établissement du caryotype de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta*, nous a permis d'apporter des informations fondamentales pour le génome de cette espèce menacée. En effet, une culture de lymphocytes a été réalisée à partir d'animaux adultes grâce à une collaboration avec le Parc Zoologique de Ben Aknoun.

Les lymphocytes ont été synchronisés à l'aide de la thymidine, en excès, avec succès. Ainsi, le caryotype en bandes GTG a été établi. Le caryotype en bandes dynamiques RBG a été proposé, pour la première fois, chez la gazelle *Gazella dorcas neglecta*. En effet, les bandes RBG n'ont jamais été décrites chez les gazelles dorcas, ni chez les autres gazelles, à ce jour.

Nous avons estimé le nombre diploïde de chromosomes à 31 chromosomes chez le mâle et à 30 chromosomes chez la femelle. Aussi, nous avons décrit avec précision les chromosomes de la gazelle *Gazella dorcas neglecta* et nous avons proposé un classement des chromosomes, pour la première fois, selon la nomenclature standard du bœuf (ISCNDA, 1989).

Des cartographies chromosomiques comparées des paires d'autosomes et des chromosomes sexuels ont été réalisées entre la gazelle dorcas locale *Gazella dorcas neglecta*, la gazelle dorcas du Parc Zoologique de Vincennes, la gazelle gazelle *Gazella gazella* et la gazelle leptocère *Gazella leptoceros*. Des similitudes entre la morphologie et les motifs des bandes ont été mises en évidence entre les différents caryotypes de ces espèces. Les différences morphologiques observées entre les chromosomes de ces espèces seraient dues à des remaniements chromosomiques ayant eu lieu durant la divergence de ces gazelles à partir de caryotypes ancestraux.

Pour poursuivre notre étude, nous proposons de confirmer nos résultats par l'étude d'autres animaux. Des biopsies sur différents individus du centre d'élevage d'El Bayadh sont à envisager pour mettre en place une base de données cellulaires. Nous pourrions par la suite proposer le caryotype définitif de la gazelle dorcas *Gazella dorcas neglecta* en bandes RBG. Une description plus précise des chromosomes pourra être apportée en réalisant d'autres types de marquages chromosomiques, comme les bandes CBG. L'évolution chromosomique chez les gazelles se serait réalisée essentiellement par des fusions centriques à partir d'un caryotype ancestral. La particularité des gazelles est de posséder un autosome acrocentrique Y1 issu de remaniements chromosomiques. On pourrait donc utiliser des sondes moléculaires spécifiques de ce chromosome pour comprendre le mécanisme de ces remaniements.

Pour détecter toutes les régions chromosomiques conservées entre les bovidés, des sondes de bras chromosomiques ou de chromosomes entiers de la chèvre ou du bœuf peuvent être hybridées sur les métaphases de la gazelle dorcas (peinture chromosomique).

Afin de contribuer à la préservation de cette espèce menacée d'extinction, il serait important de détecter les animaux hybrides qui pourraient être à l'origine de la baisse de la fertilité de la gazelle *Gazella dorcas neglecta*. Aussi, un projet global intégrant d'autres études (reproduction, écologie etc...) à l'analyse génomique serait essentiel pour la sauvegarde de cette espèce.

*RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES*

1. Abaigar T., Belbachir-Bazi A. et Cano M. (2009). Proposition d'aménagement et de gestion d'un centre d'élevage de gazelles en captivité. Projet de Coopération Internationale hispano-algérienne (AECI-MESRS). Rapport scientifique technique. Almeria (Espagne) – Bejaia (Algerie).
2. Alados C.L. (1987). A cladistic approach to the taxonomy of the dorcas gazelles. *Isr.J.Zool.* 34: 33-49.
3. Alados C.L. et Escós J. (1991). Phenotypic and genetic characters affecting lifetime reproductive success in female Cuvier's, Dama and Dorcas gazelles. *Journal of Zoology.* 223:307-321.
4. Allard M.W., Miyamoto M.M., Jarecki L., Kraus F. et Tennant M.R. (1992) DNA systematics and evolution of the artiodactyls family Bovidae. *Proc Natl Acad Sci USA.* 89: 3972–3976.
5. Arias A.J., Keehan M., Fisher P., Coppieters W. et Spelman R. (2009). A high density linkage map of the bovine genome. *BMC Genetics.* 10:18.
6. Bell S. et Wolff S. (1966). Effects of FUdR and thymidine on incorporation of deoxycytidine into DNA of *Vicia faba*. *Exp.Cell.Res.*42: 408.
7. Benirschke K. et Kumamoto A.T. (1988). Challenges of Artiodactyl Cytogenetics. *Chromosoma.* 2(45):1468-1478.
8. Blaine G. (1913). On the relationship of *Gazella Isabella* to *Gazella dorcas* with a description of new species. *Annals and Magazine of Natural History.* 11: 291-296.
9. Bloom S. E. et Goodpasture C. (1976). An improved technique for selective silver staining of nucleolar organizer regions in human chromosomes. *Hum. Genet.* 34: 199-206.
10. Bouet G. (1933). Contribution à l'étude de la répartition des grands mammifères de l'Afrique Française (Bovidés-Tragulidés). 4-39. *Inp Jouvet et Cie.* 232pp.
11. Boyum A. (1968). Separation of leucocytes from blood and bone marrow. *Scand.J. Clin. Lab. Invest.* 21(Sppl.97): 31.
12. Buckland R.A. et Evans H.J. (1978). Cytogenetic aspects of phylogeny in the Bovidae. G-banding. *Cytogenet Cell Genet.* 32: 64-71.
13. Buitkamp J., Kollers S., Durstewitz G., Fries R., Welzel K., Schafer K., Kellermann A. et Lehrach H. (2000). Construction and characterization of a gridded cattle BAC library. *Anim. Genet.* 31: 347–351.
14. Buntjer J.B., Hoff I.A. et Lenstra J.A. (1997). Artiodactyl interspersed DNA repeats in cetacean genomes. *Journal of Molecular Evolution.* 45: 66-69.
15. Cabrera A. (1928). A new gazelle from North Africa. *Journal of Mammalogy.* 9: 239-243.
16. Cai L., Taylor J.F., Wing R.A., Gallagher D.S., Woo S.S. et Davis S.K. (1995). Construction and characterization of a bovine bacterial artificial chromosome library. *Genomics.* 29: 413–425.

17. Carlisle D.B. et Ghobrial L.I. (1968). Food and water requirements of dorcas gazelle in the Sudan. *Mammalia*. 32: 560–576.
18. Caspersson T., Zech L. et Johansson C. (1970). Analysis of human metaphase chromosome set by aid of DNA binding fluorescent agents. *Exp. Cell Res.* 62: 490.
19. CMS. (2006). Technical Series Publication N° 10, Antilopes Sahélo Sahariennes (Statuts et Perspectives) Edité par: Institut royal des Sciences naturelles de Belgique avec la collaboration de SCF – SSIG.
20. Cokrum E.L. (1989). Clé de détermination des mammifères de la Tunisie. Sous press. 326-335pp.
21. Comings D.E. (1973). Biochemical mechanisms of chromosome banding and color banding with acridine orange. In: Caspersson T, Zech L (eds) Nobel Symposium, vol 23: Chromosome identification techniques and application in biology and medicine. *Academic Press, New York*. 293-299 pp.
22. Comings D. E., Avelino E., Okada T.A. et Wyandt H. E. (1973). The mechanism of C- and G-banding of chromosomes. *Exp. Cell Res.* 77: 469-493
23. Comings DE. (1978). Mechanisms of chromosome banding and implications for chromosome structure. *Ann Rev Genet.* 12: 25–46.
24. Corbet G. (1978). The Mammals of the Palaearctic Region: A Taxonomic Review. British Museum (Natural History) and Cornell Univ. Press, London and Ithaca, New York.
25. Corbet G.B. et Hill J.E. (1986). A World list of Mammalian Species. London, British Museum (Natural History).
26. Corbet G. et Hill J.E. (1991). A World List of Mammalian Species. Oxford Univ. Press, Oxford.
27. Couturier J., Dutrillaux B. et Lejeune J. (1973). Etude de fluorescences spécifiques des bandes R et des bandes Q des chromosomes humains: C. R. *Acad. Sci. Paris.* 2767: 339-342.
28. De Smet K. (1989). Distribution and habitat choice of the larger mammals in Algeria with special reference to nature protection. PhD thesis. State Univ. Gent, 357 pp.
29. Dekeyse P. (1955). Les mammifères de l’Afrique noire française. *Inst. Franc. Afr. noire. Dakar.* 382-398pp.
30. Di Berardino D. et Iannuzzi L. (1982). Detailed description of R-banded bovine chromosomes. *J. Hered.* 73: 434-438.
31. Di Berardino D., Lioi M.B, Iannuzzi L. (1985). Identification of nucleolus organizer chromosomes in cattle (*Bos taurus*) by sequential silver staining + RBA banding. *Caryologia.* 38:95-102.
32. Di Berardino D., Lioi MB., Miranda C. *et al.* (1987). R-banding pattern of the prometaphase chromosomes of the domestic sheep, *Ovis aries L.* *Genet Sel Evol.* 21: 1-10.

33. Di Meo G.P., Iannuzzi L., Ferrara L. et Rubino R. (1991). Identification of nucleolus organizer chromosomes in goat (*Capra hircus*). *Caryologia*. 44: 309-316.
34. Di Meo G.P., Perucatti A., Incarnato D et al.(2002). Comparative mapping of twenty-eight bovine loci in sheep (*Ovis aries*, 2n=54) and river buffalo (*Bubalus bubalis*, 2n=50) by FISH. *Cytogenet Genome Res.* 98:262–264.
35. Di Meo G.P., Perucatti A., Gautier M., Hayes H., Incarnato D., Eggen A. et Iannuzzi L. (2003). Chromosome localization of the 31 type I Texas bovine markers in sheep and goat chromosomes by comparative FISH-mapping and R-banding, *Anim. Genet.* 34pp. 294–296.
36. Di Meo G.P., Perucatti A., Floriot S., Incarnato D., Rullo R., Caputi Jambrenghi A., Ferretti L., Vonghia G., Cribiu E., Eggen A. et Iannuzzi L. (2005a). Chromosome evolution and improved cytogenetic maps of the Y chromosome in cattle, zebu, river buffalo, sheep and goat. *Chromosome Research*. 13: 349–355.
37. Di Meo G.P., Perucatti A., Uboldi C., Roperto S., Incarnato D., Roperto F., Williams J., Eggen A., Ferretti L. et Iannuzzi L. (2005b). Comparative mapping of the fragile histidine triad (FHIT) gene in cattle, river buffalo, sheep and goat by FISH and assignment to BTA22 by RH-mapping: a comparison with half-sibA3, *Anim. Genet.* 36pp. 363–364.
38. Di Meo G.P., Gallagher D., Perucatti A., Wu X., Incarnato D., Mohammadi G., Taylor J.F. et Iannuzzi L. (2006a). Mapping of 11 genes by FISH to BTA2, BBU2q, OAR2q and CHI2, and comparison with half-sibA2q, *Anim. Genet.* 37pp. 299–300.
39. Di Meo G. P., Perucatti A., Chaves R., Adegas F., De Lorenzi L., Molteni L., De Giovanni A., Incarnato D., Guedes-Pinto H., Eggen A. et Iannuzzi L. (2006b). Cattle rob(1;29) originating from complex chromosome rearrangements as revealed by both banding and FISH-mapping techniques. *Chromosome Research* .14: 649–655.
40. Douarin R., Messier P.E. et Richer C.L. (1989). DNA denaturation for ultrastructural banding and the mechanism underlying the fluorochrome photolysis Giemsa technique studied with anti-5-bromodeoxyuridine antibodies. *Chromosoma*. 98: 174-180.
41. Dragesco-Joffe A. (1993). *La Vie Sauvage au Sahara*. Lausanne, Delachaux et Niestlé. 240 p.
42. Dupuy A. (1967). Répartition actuelle des espèces menacées de l'Algérie. *Soc. Sci. Nat. et Physiques .Maroc*. 47: 355-384.
43. Dutrillaux B., Grouchy J., Finaz C. et Lejeune J. (1971). Mise en évidence de la structure fine des chromosomes humains par digestion enzymatique (pronase en particulier). *C.R. Acad. Sci. (Paris)* 278 : 587-588.
44. Dutrillaux B. et Lejeune J. (1971). Sur une nouvelle technique du caryotype humain. *C.R. Acad. Sci.* 272 : 2638-2640.
45. Dutrillaux, B. (1973). Nouveau système de marquage chromosomique: les bandes T. *Chromosoma*. 41: 395-402.
46. Dutrillaux B. et Covic M. (1974). Etude de facteurs influençant la dénaturation thermique ménagée des chromosomes. *Exp. Cell Res.* 85 :143 153.

47. Dutrillaux B. et Couturier J. (1981). La pratique de l'analyse chromosomique. Masson Ed, Paris.
48. Efron M., Bogart M.H., Kumamoto A.T. et Benirschke K. (1976). Chromosome studies in the mammalian subfamily Antilopinae. *Genetica*. 46:419-444.
49. Eggen A., Gautier M., Billaut A., Petit E., Hayes H., Laurent P., Urban C., Pfister-Genskow M., Eilertsen K. et Bishop M.D. (2001). Construction and characterization of a bovine BAC library with four genome-equivalent coverage. *Genet. Sel. Evol.* 33 :543-548.
50. Egolina N. A. (1972). Differential spiralization along mammalian mitotic chromosomes I. BUdR revealed differentiation in Chinese hamster chromosomes. *Chromosoma* (Berl.). 38: 341-365.
51. Evans H.J., Buckland R.A. et Sumner A.T. (1973). Chromosome homology of heterochromatin in goat, sheep and ox studied by banding techniques. *Chromosoma*. 42: 383-402.
52. Ferguson W.W. (1981). The systematic position of *Gazella dorcas* (Artiodactyla: Bovidae) in Israel and Sinai. *Mammalia*. 45: 453-457.
53. Gallagher D. S. et Womack J. E. (1992). Chromosome Conservation in the Bovidae. *Journal of Heredity*. 83:287-298.
54. Gallagher D. S., Davis S. K., De Donato M., Burzlaff J.D., Womack J.E., Taylor J.F. et Kumamoto A.T. (1999). A molecular cytogenetic analysis of the tribe Bovini (Artiodactyla: Bovidae: Bovinae) with an emphasis on sex chromosome morphology and NOR Distribution. *Chromosome Research*. 7: 481-492.
55. Gatesy J., Amato G., Vrba E., Schaller, G. et DeSalle R. (1997). A clastidic analysis of mitochondrial ribosomal DNA from Bovidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 7: 303-319.
56. Gautier M., Hayes H. et Eggen A. (2003). A comprehensive radiation hybrid map of bovine chromosome 26 (BTA26): comparative organization between HSA10q and BTA26 and BTA28. *Mammalian Genome*. 14:711-721.
57. Gellin J. et Chevalet C. (1994). Stratégie d'établissement des cartes géniques. Exemple du porc. *Genet. Sel. Evol.* 26: 35-51.
58. Georgiadis N., Kat P., Oketch H. et Patton J. (1990). Allozyme divergence within the Bovidae. *Evolution*. 44: 2135-2149.
59. Goldammer T., Brunner R.M., Rebl A., Hua Wu C., Nomura K., Hadfield T., Maddox J.F. et Cockett N.E. (2009). Cytogenetic anchoring of radiation hybrid and virtual maps of sheep chromosome X and comparison of X chromosomes in sheep, cattle, and human. *Chromosome Research*. 124.
60. Gray J.E. (1846). On two new species of antelopes in the British Museum collection. *Annals and Magazine of Natural History*. 11: 214-215.

61. Grettenberger J.F. et Newby J.E. (1986). Antelopes. Global survey and regional action plans. eds R. EAST. 14-22 pp.
62. Grosclaude F., Mahe M. F., Brignon., De Stasio G. et Jeunet R. (1987). A mendelian polymorphism underlying quantitative variations of goat alpha S1 casein. *Genet. Sel. Evol.* 19: 399-412.
63. Groves C.P. et Harrison D.L. (1967). The taxonomy of the gazelles (genus *Gazella*) of Arabia. *Journal of Zoology.* 152: 381–387.
64. Groves C.P. (1969). On the smaller gazelles of the genus *Gazella* de Blainville. *Zeitschrift für Säugetierkunde.* 34: 38 60.
65. Groves C.P. (1981). Notes on the Gazelles. The Dorcas gazelles of north Africa. *Anali del Museo Civico di Storia Naturale di Genova.* 83:455-471.
66. Groves C.P. (1983). Notes on the gazelles. The Arabian gazelles collected by Hemprich and Ehrenberg, *Z. Säugetierk.* 48: 371–381.
67. Groves C.P. (1988). Conservation and Biology of Desert Antelopes. eds. Christopher Helm, London. 193-198 pp.
68. Grzimek B. (1968). Grzimek's Tierleben, Enzyklopedie des Tierreiches. Kindler Verlag, Zurich.
69. Gustavsson I. et Rockborn G. (1964). Chromosome abnormality in 3 cases of lymphatic leukemia in cattle. *Nature.* 203- 990.
70. Gustavsson L., Hageltorn M. et Zech L. (1976). Identification of the 1/29 translocation in the Swedish Red and White (SRB) cattle breed by utilization of new staining techniques. *Hereditas.* 82: 260-262.
71. Gustavsson I. (1980). Banding techniques in chromosome analysis of domestic animals. *Adv Vet Sci Comp Med.* 24: 245-89.
72. Haltenorth T. et Diller H. (1988). A Field Guide to the Mammals of Africa Including Madagascar. Collins, London.
73. Hayes H., Petit E. et Dutrillaux B. (1991). Comparisons of RBG-banded karyotypes of cattle, sheep, and goats. *Cytogenet Cell Genet.* 57: 51-55.
74. Hayes H. (1993). Analyse caryotypique et cartographie génique comparées chez les trois principaux bovidés domestiques, le boeuf (*Bos taurus* L.), le mouton (*Ovis aries* L.) et la chèvre (*Capra hircus* L.). Thèse de Doctorat. Université Paris. 187p.
75. Hayes H., Elduque C., Gautier M., Schibler L. et Crihiu E. (2003). Mapping of 195 genes in cattle and updated comparative map with man, mouse, rat and pig. *Cytogenet. Genome Res.* 102: 16–24.
76. Honacki J., Kinman K. et Koepl J. (1982). Mammal Species of the World, a Taxonomic and Geographic Reference, The Association of Systematics Collections, Lawrence, KS.

77. Hsu T.C. (1952). Mammalian chromosomes in vitro.-The karyotype of man. *J.Hered.* 43: 167-72.
78. Iannuzzi L., Di Berardino D., Gustavsson I., Ferrara L. et Di Meo G.P. (1989). Centromeric loss in translocations of centric fusion type in cattle and water buffalo. *Hereditas.* 106 : 73-81.
79. Iannuzzi L. (1990). An improved characterization of cattle chromosomes by means of high-resolution G- and R-band comparison. *J Hered.* 81: 80-83.
80. Iannuzzi L., Di Meo G.P., Perucatti A. et Ferrara L. (1990). A comparison of G- and R-banding patterns in cattle and river buffalo prometaphase chromosomes. *Caryologia.* 43:283-290.
81. Iannuzzi L. et Di Meo G.P. (1996). Chromosomal evolution in bovids: a comparison of cattle, sheep and goat G- and R-banded chromosomes and cytogenetic divergences among cattle, goat and river buffalo sex chromosomes. *Chromosome Res.* 3: 291-299.
82. Iannuzzi L., Di Meo G.P., Perucatti A. et al. (2000a). Comparative FISH-mapping of bovid X chromosomes reveals homologies and divercences between the subfamilies Bovinae and Caprinae. *Cytogenetics and Cell Genetics.* 89: 171-6.
83. Iannuzzi L., Di Meo G.P., Perucatti A. et al. (2001a). Comparative FISH-mapping in river buffalo and sheep chromosomes: assignment of forty autosomal type I loci from sixteen human chromosomes. *Cytogenetics and Cell Genetics.* 94, 43-8.
84. Iannuzzi L., Di Meo G.P., Perucatti A., Schibler L., Incarnato D et Cribiu E.P. (2001). Comparative FISH-mapping in river buffalo and sheep chromosomes: assignment of forty autosomal type I loci from sixteen human chromosomes. *Cytogenet Cell Genet.* 94: 43-48.
85. Iannuzzi L., Perucatti A., Di Meo G.P., Schibler L., Incarnato D. et Cribiu E.P. (2003). Chromosomal localization of sixty autosomal loci in sheep (*Ovis aries*, $2n = 54$) by fluorescence in situ hybridization and R-banding, *Cytogenet. Genome Res.* 103pp. 135-138.
86. Iannuzzi L. (2008). Chromosome Evolution in Bovids as revealed by comparative banding and FISH-mapping techniques. 18th, international colloquium of animal cytogenetics and gene mapping bucharest, romania.
87. ISCNDA. (1989). International System for Cytogenetic Nomenclature of Domestic Animals (eds. Bernardino D., Hayes H., Fries R. et Long S.). *Cytogenel. Cell. Genet.* 53: 65-79.
88. IUCN Red List of Threatened Species 2006.
89. Jeanin A. (1945). Les bêtes de chasse de l'Afrique Française. *Ed. Payot. Paris. Biblio. Géog.* 232pp.
90. Kacem S.B.H., Muller H.P. et Wiesner H. (1994). Gestion de la faune sauvage et des parcs nationaux en Tunisie. Réintroduction, gestion et aménagement. Eschborn.
91. Kaftanovskaya H.M., Serov O.L. (1994). High resolution GTG-banded chromosomes of cattle, sheep and goat: a comparative study. *J. Hered.* 85: 395-400.

92. Kingswood SC., Kumamoto AT., Sudman PD., Fletcher KC. et Greenbaum IF. (1994). Meiosis in chromosomally heteromorphic goitered gazelle, *Gazella subgutturosa*. *Chromosome Res.* 2:37-46.
93. Kingdon J. (1997). *The Kingdon Field Guide to African Mammals*. Academic Press, Harcourt Brace and Co., New York, NY, USA.
94. Kohl F.F. (1886). Ueber neue and seltene Antilopen. *Annalen der Hofmuseum in Wien*. 1: 75-86
95. Kowalski K. et Rzebik-Kowalska B. (1991). *Mammals of Algeria*. Wroclaw, Polish Academy of Sciences.
96. Kranz K.R., Xanten W.A. et Lumpkin S. (1983.) Breeding history of the Dorcas gazelles *Gazella dorcas* at the National Zoological Park, 1961-1981. *Int Zoo Yearbook*. 23: 195-203.
97. Kreitman M. (2000). Methods to detect selection in population with application to the human. *Annu. Rev. Hum. Genet.* 1: 539-559.
98. Ladjali K. (1994). Caryotype de la poule domestique *Gallus domesticus* et incidence des anomalies chromosomiques dans les troubles de la reproduction. Thèse de Doctorat. INRA de Jouy en Josas. 179p.
99. Ladjali K., Bordas A., Cribiu E.P. et Tixier-Boichard M. (1995). Contribution de la cytogénétique à l'étude de la fertilité de deux lignées de poules pondeuses sélectionnées sur la consommation alimentaire résiduelle. *Genet. Sel. Evol.* 27: 313-322.
100. Lange J. (1972). Studien an Gazellenschadeln. Ein Beitrag zur Systematik der kleineren Gazellen, *Gazella* (De Blainville, 1816). *Saug. Mitt.* 20(3): 193-249.
101. Lavauden L. (1926). Les gazelles du Sahara central. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique du Nord*. 17:11-27.
102. Le Berre M. (1990). *Faune du Sahara 2, Mammifères*. Lechevalier- R. Bechaud, Paris.
103. Lin T.M., Evans D.C., Chancer E. et Spray G.F. (1977). Bovine pancreatic peptide: action on gastric and pancreatic secretion in dogs. *Amer. J. Physiol.* 232: E311-E315.
104. Linnaeus C. (1758). *Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. Tenth ed. *Laurentii Salvii Stockholm*. 1: 1-824.
105. Liu H., Liu K., Wang J. et Ma R.Z. (2006). A BAC clone-based physical map of ovine major histocompatibility complex, *Genomics*. 88pp. 88–95.
106. Lydekker R. et Blaine G. (1914). *Catalogue of the ungulate mammals in the British Museum*. Artiodactyla. Trustees of the British Museum, London, United Kingdom 3:1–283.
107. Mahé M.F., Grohs C., Taourit S., Schibler L. et Eggen A. (2003). Construction of a BAC contig spanning the proximal region of bovine chromosome 1. *Plant and Animal Genome IX*. USA, San Diego, January 11-15.

108. Mallon D.P et Kingswood S.C. (2001). Antelopes. Part 4: North Africa, the Middle East and Asia. Global Survey and Regional Action Plans. SSC Antelope Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.260 pp.
109. Matthey R. (1973). Cytotaxonomy and vertebrate evolution. Academic Press.
110. Mensher SH., Bunch T.D. et Maciulis A. (1989). High resolution banded karyotype and idiogram of the goat: a sheep-goat G-banded comparison. *J Hered.* 80: 150-155.
111. Montgelard C., Catzefflis F.M. et Douzery E. (1997). Phylogenetic relationships of artiodactyls and cetaceans as deduced from the comparison of cytochrome b and 12S rDNA mitochondrial sequences. *Molecular Biology and Evolution.* 14: 550-559.
112. Moorhead P.S., Nowell P. C., Mellman W. J., Battips D. M. et Hungerford D.A. (1960). Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell Res.* 20: 613.
113. Newby J.E. (1974). The ecological resources of the Ouadi Rimé-Ouadi Achim Faunal Reserve. Arada, UNDP/FA Wildlife Conservation and Management Project CHD/69/004.
114. Olmedo G., Escos J. et Gomendio M. (1985). Reproduction de *Gazella cuvieri* en captivité. *Mammalia.* 49: 501-507.
115. O'regan B.P. (1984). Gazelles and dwarf antelopes. Pp 574-581 in D. Macdonald, editor. The encyclopaedia of mammals. 2. London, Sydney, George Allen and Unwin.
116. Osborn D.J. et Helmy I. (1980). The contemporary land mammals of Egypt (including Sinai). *Fieldiana Zoology .new series* 5: 1-579.
117. Panouse J.P. (1957). Les mammifères du Maroc, Primates, Carnivores, Primpèdes, Artiodactyls. *Trav.Inst.Scient.Zool.*206pp.
118. Paris Conference. (1971). Standardization in human cytogenetics. In: Birth defects: original article series XI, 9, 1975. New York: The National Foundation.
119. Perry P. et Wolf S. (1974). New Giemsa method for differential staining of sister chromatids. *Nature.* 261: 156-158.
120. Perucatti A., Di Meo G.P., Vallinoto M., Kierstein G., Schneider M.P, Incarnato D., Caputi Jambrenghi A., Mohammadi G., Vonghia G., Silva A., Brenig B. et Iannuzzi L. (2006a) FISH-mapping of LEP and SLC26A2 genes in sheep, goat and cattle R-banded chromosomes: comparison between bovine, ovine and caprine chromosome 4 (BTA4/OAR4/CHI4) and human chromosome 7 (half-sibA7), *Cytogenet. Genome Res.* 115pp. 7–9
121. Perucatti A., Floriot S., Di Meo G.P., Soglia D., Rullo R., Maione S., Incarnato D., Eggen A., Sacchi P., Rasero R. et Iannuzzi L. (2006b). Comparative FISH mapping of mucin 1, transmembrane (MUC1) among cattle, river buffalo, sheep and goat chromosomes: comparison between bovine chromosome 3 and human chromosome 1, *Cytogenet. Genome Res.* 112pp. 103–105.

122. Popescu C.P. (1990). Conséquences des anomalies de la structure chromosomique chez les animaux domestiques. *Reprod Nutr Dev. Suppl 1* : 105-116.
123. Read B. et Frueh R.J. (1980). Management and breeding of Speke's gazelle (*Gazella spekei*) at the St. Louis zoo with a note on artificial insemination. *International Zoo Yearbook*. 20:99-104.
124. Reading conference. (1980). Proceedings of the first international conference for the standardization of banded karyotypes of domestic animals. *Hereditas*. 92 :145- 162.
125. Rebhholz W. et Harley E. (1999). Phylogenetic relationships in the bovid subfamily Antilopinae based on mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogeny and Evolution*. 12: 87-94.
126. Riede K. (2001). Global Register of Migratory Species. Weltregister wandernder Tierarten. Münster (Landwirtschaftsverlag). 181p.
127. Rostron J. (1972). A multivariate statistical study of skull measurements of five taxa of gazelles. *Biol. J. Linn. Soc.* 4:1-14.
128. Saunier K., Barraud J.P., Eggen A., Oriol R., Leveziel H., Julien R. et Petit J.M. (2001). Organization of the bovine alpha2-fucosyltransferase gene cluster suggests that the Sec1 gene might have been shaped through a nonautonomous L1-retratransposition event within the same locus. *Mol Biol Evol.* 18 (11) : 2083-2091.
129. Schibler L., Vaiman D., Oustry A., Guinec N., Dangy-Caye A.L., Billault A. et Cribiu E.P. (1998). Construction and extensive characterization of a goat bacterial artificial chromosome library with threefold genome coverage. *Mamm. Genome*. 9: 119–124.
130. Schibler L., Roig A., Mahe M.F., Save J.C., Gautier M., *et al.*, (2004). A first generation bovine BAC based physical map. *Genet. Cell. Evol.* 36: 105-122.
131. Seabright M. (1971). A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet II*: 971-972.
132. Sharon N. et Lis H. (1989). Lectins as cell recognition molecules. *Science*. 46: 227-34.
133. Shnedl W. et Czaker R. (1974). Centromeric heterochromatin and comparison of G-banding in cattle, goat, and sheep chromosomes (Bovidae). *Cytogenet. Cell. Genet.*13: 246-255.
134. Smith T.P., Alexander L.J., Sonstegard T.S., Yoo J., Beattie C.W. et Broom M.F. (1996). Construction and characterization of a large insert bovine YAC library with five-fold genomic coverage. *Mamm. Genome*. 7: 155–156.
135. Spinage C.A. (1986). The natural history of antelopes. Croom Helm, Beckenham.
136. Strazzullo M., Rossetti C., Fusco G., Campanile C., Vecchio D., Campanile G., Perucatti A., Di Meo G.P., Filippini F., Eggen A., Ferrara L. et Desposito M. (2010). Genomic characterization and chromosomal mapping of 5 river buffalo skeletal muscle differentiation master genes. *Cytogenet. Gen. Res.*128 (4):221-7.

137. Sumner A.T., Evans H.J. et Buchland R.A. (1971). A new technique for distinguishing between human chromosomes. *Nat. New. Biol.* 232:31–32.
138. Sumner A.T. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin *Exp Cell Res.* 75: 304–306.
139. Tjio JH. et Levan A. (1956). The chromosome number of man. *Hereditas.* 42: 1-6.
140. Todd N.B. (1975). Chromosomal mechanisms in the evolution of artiodactyls. *Paleobiology.* 1:175-188.
141. Vassart M., Greth A., Durand V. et Cribiu E.P. (1993). Chromosomal polymorphism in Sand Gazelle *Gazella subgutturosa marica.* *J. Hered.* 84: 478–481.
142. Vassart M., Séguéla A. et Hayes H. (1995). Chromosomal Evolution in Gazelles. *The Journal of Heredity.* 86(3): 216-227.
143. Viegas-Pequignot E. et Dutrillaux B. (1978). Une méthode simple pour obtenir des prophases et des prométaphases. *Annales Genet.* 21: 122-125.
144. Vaiman D., Schibler L., Bourgeois F., Oustry A., Amiguest Y. et Cribiu E.P. (1996). A Genetic Linkage Map of the Male Goat Genome. *Genetics.* 144: 279-305.
145. Wurster D.H. et Benirschke K. (1968). Chromosome studies in the superfamily Bovoidae *Chromosoma.* 25:152-171.
146. Wurster D.H. (1972). Sex chromosome translocations and karyotypes in bovid tribes. *Cytogenetics.* 11: 197-207.
147. Yom-Tov Y., Mendelssohn H. et Groves C. (1995). *Gazella dorcas.* *Mammalian Species.* 491: 1-6.
148. Zakharov A.F. et Egolina N.A. (1968). Asynchrony of DNA replication and mitotic spiralization along heterochromatic portions of Chinese hamster chromosomes. *Chromosoma (Berl).* 23: 365-385.
149. Zhu B., Smith J.A., Tracey S.M., Konfortov B.A., Welzel K., Schalkwyk L.C., Lehrach H., Kollers S., Masabanda J., Buitkamp J., Fries R., Williams J.L. et Miller J.R. (1999). A genome coverage bovine BAC library: production, characterization, and distribution, *Mamm. Genome.* 10: 706–709.

ANNEXES

Annexe 1 : Composition du Milieu RPMI 1640 + 20 mM HEPES - L.Glutamine

Acides aminés	Formules
L-Asparagine Anhydre	C4H8N2O3
L-Histidine	C6H9N3O2
L-Lysine Monohydrochloride	C6H14N2O2.HCL
L-Serine	C3H7NO3
L-Valine	C5H11NO2
L-Arginine	C6H14N4O2
L- Acide Glutamique	C5H9NO4
L-Leucine	C6H13NO2
L-Proline	C5H9NO2
L-Tyrosine Disodium Dihydrate	C9H11N03+2Na+2H2O
Glycine	C2H5NO2
L-Cystine Dihydrochloride	C6H12N2O4S2.2HCL
L-Isoleucine	C6H13NO2
L-Phenylalanine	C9H11NO2
L-Tryptophan	C11H12N2O2
L-Acide Aspartique	C4H7NO4
L-Hydroxy-L-Proline	C5H9NO3
L-Methionine	C5H11NO2S
L-Threonine	C4H9NO3
Vitamines	Formules
Sodium Chloride	NaCl
Sodium Bicarbonate	NaHCO3
Potassium Chloride	KCL
Calcium Nitrate Tetrahydrate	Ca(NO3)2 x.4H2O
Magnesium Sulfate Anhydre	MgSO4
Sodium Phosphate Dibasique Anhydre	Na2HPO4
Autres composants	Formules
D-Ca Pantothenate	C18H32CaN2O10
P-Acide Aminobenzoic (PABA)	C7H7NO2
Vitamine B12	C63H88CoN14O14P
D-Biotine	C10H16N2O3S
Nicotinamide	C6H6N2O
Thiamine Hydrochloride	C12H17CLN4OS;HCL
Myo-Inositol	C6H12O6
Riboflavine	C17H20N4O6
Acide Folique	C19H19N7O6
Pyridoxine Hydrochloride	C8H11NO3;HCL
Choline Chloride	C5H14CLNO
Rouge de Phenol sels de Sodium	C19 H13 NaO5S
L-Glutathione	C10H17N3O6S
Hepes	C8H18N2O4S
D-Glucose Anhydre	C6H12O6

Abstract

The Dorcas gazelle *Gazella dorcas* is species of desert and semi-desert areas. It is threatened with extinction and listed as vulnerable in the red list established in 2006 by the International Union for Conservation of Nature (IUCN).

Several reasons are at the origin of this extinction's threat. The most important are hunting and poaching, installation of heavy infrastructure and long drought periods influence.

In order to preserve this endangered species, we performed the first cytogenetic study to begin the description of its genome. Thus, chromosomal mapping compared were established between the Dorcas Gazelle *Gazella dorcas neglecta* and other antelope species such as horned gazelle *Gazella leptoceros*. Indeed, similarities were found between the morphology and pattern of G bands only for chromosome 3. The chromosomes are markedly different in these two species. The morphological differences are certainly the result of chromosomal rearrangements that occurred during evolution. Thus, homologies are described in this study between the karyotype of the Dorcas gazelle and the karyotype considered ancestral Bovidae.

We propose, for the first time in Algeria, the GTG and RBG bands karyotype of the Dorcas gazelle *Gazella dorcas neglecta* obtained from lymphocytes culture. These cells were synchronized with a thymidine block during the S phase in order to increase the yield of metaphase and early metaphase cells, which provide high resolution chromosomes. Diploid chromosome numbers is established at $2n=31$ chromosomes in males and $2n=30$ chromosomes in females.

Keywords: Dorcas gazelle, *Gazella dorca neglecta*, endangered species, karyotype, genome, synchronization, high resolution chromosomes, chromosomes, GTG and RBG bands.

ملخص

غزال دوركاس *Gazella dorcas* هو حيوان من المناطق الصحراوية و شبه الصحراوية. هذا الحيوان مهدد بالانقراض. هو يصنف ضمن القائمة الحمراء للاتحاد الدولي لصيانة الطبيعة منذ عام 2006.

هناك عدة أسباب وراء خطر الانقراض أهمها الصيد، تركيب البنية التحتية البترولية الثقيلة و كذلك تأثيرات فترات الجفاف الطويلة.

من اجل الحفاظ على هذا النوع نقترح إجراء دراسة الخلايا الوراثية. بهذا نقترح للمرة الأولى في الجزائر، الطابع النووي بالأشرطة المورفولوجية GTG و الدينامية GBR المتحصل عليها بعد استنبات الكريات الدموية المستأصلة من ذكر و أنثى الغزال. قمنا بمزامنة الدورة الخلوية و هذا ما مكنا الحصول على صبغيات عالية الدقة. يتكون الطابع النووي من 31 صبغي عند ذكر الدوركاس و من 30 صبغي عند أنثى الدوركاس.

مقارنة صبغيات هذا الغزال مع الطابع النووي لأنواع الطباء الأخرى مثل غزال ريم، سمح لنا بالكشف عن تشابه في الشكل و في تصميم الأشرطة بالنسبة للثنائيات الثلاثة الأولى فقط. الاختلافات الشكلية تبدو ناتجة عن مستجدات صبغية حدثت خلال تطور الطباء. كذلك قمنا بإبراز التشابه المورفولوجي الموجود بين الطابع النووي لغزال الدوركاس و الطابع النووي السلفي لمجموعة الطباء.

الكلمات الرئيسية: غزال دوركاس، *Gazella dorcas*، استنبات الخلايا، الأنواع المهددة بالانقراض، الجينوم، المزامنة، الصبغيات، الأشرطة GTG و GBR.

