

N° d'ordre : 60/2010-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<sup>elle</sup> LEBDIOUI Rima**

Sujet

### **Description des Chromosomes de la Gazelle Leptocère *Gazella leptoceros*: Espèce menacée de disparition**

Soutenu publiquement le 13/07/10 devant le jury composé de

<b>M. Bouhadad R.</b>	Professeur à l'USTHB	Président
<b>M<sup>me</sup> Ladjali-Mohammed K.</b>	Maître de Conférences à l'USTHB	Directrice de Mémoire
<b>M. Sellami M.</b>	Professeur à l'INA	Examineur
<b>M. Amirouche R.</b>	Maître de Conférences à l'USTHB	Examineur
<b>M. Belhamra M.</b>	Maître de Conférences à l'Université de Biskra	Examineur
<b>M<sup>elle</sup> Fellous A.</b>	Ingénieur à l'ANN	Invitée

## REMERCIEMENTS

*Le travail présenté ici a été effectué au sein de l'Équipe de Génétique du Développement (LBCM, FSB, USTHB). Il a été dirigé par le Docteur Ladjali-Mohammedi Kafila à qui je tiens à exprimer toute mon admiration et ma gratitude pour m'avoir accueillie dans son laboratoire, pour avoir guidé adroitement et calmement mes recherches. Sa disponibilité, sa rigueur scientifique et son intuition m'ont beaucoup aidée. Ces presque quatre années passées sous sa direction ont été très formatrices, tant au niveau scientifique que personnel. Je la prie de recueillir ici l'expression de mes sincères remerciements.*

*Je tiens à remercier Monsieur le Professeur Bouhadad Rachid pour avoir accepté de présider ce Jury.*

*Merci à Monsieur le Professeur Selami Mahdi en tant qu'examineur de ce travail pour ses judicieuses remarques à propos du mémoire.*

*J'adresse mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à Monsieur le Docteur Belhamra Mohamed pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour tout le soutien et les encouragements apportés à notre équipe et pour avoir suivi mon travail régulièrement.*

*Merci à Monsieur le Docteur Amirouche Rachid, qui a gentiment accepté d'examiner ce mémoire.*

*Je remercie vivement M<sup>lle</sup> Fellous Amina pour sa coopération. Sa participation au jury me fait grand plaisir.*

*Merci à Monsieur le Directeur Achoui Omar et à son équipe. Ils nous ont chaleureusement ouvert les portes du Centre Cynégétique de Zéralda, merci de nous avoir fourni le matériel biologique en nous épargnant toutes les démarches administratives.*

*À ce titre je souhaite exprimer ma reconnaissance au Docteur Ladjouz Tarik qui a gentiment effectué le prélèvement de la gazelle du centre cynégétique de Zéralda. Jeune docteur mais très professionnel et toujours très disponible.*

*Merci à Galleze Assia pour son aide, sa simplicité et sa bonne humeur et à Mahiddine Leïla pour sa gentillesse, son humour, ses conseils précieux et son bon sens. Elles m'ont apportée une aide inestimable durant ces années.*

*Enfin, je remercie mes parents, pour m'avoir convaincue de persévérer dans les études. Merci d'avoir été fiers de moi depuis toujours, de m'avoir guidée sans jamais rien m'imposer. Merci à Mina et Amir qui, de près comme de loin m'ont aidée et encouragée aux moments opportuns.*

## Résumé

La Gazelle leptocère *Gazella leptoceros* appelée Rhim est une espèce Sahélo-Saharienne menacée de disparition. Cette espèce est typiquement associée à l'habitat des dunes de sable, les étendues dunaires de l'Erg occidental et de l'Erg oriental. La présence de cette gazelle a été constatée dans quatre pays d'Afrique du Nord comme l'Égypte, la Libye, la Tunisie et l'Algérie.

La Gazelle leptocère est incluse dans un programme de reproduction en captivité des espèces de faune Sahélo-Saharienne menacées de disparition en Algérie, proposé par l'Agence Algérienne pour la Conservation de la Nature (ANN). Elle est considérée comme une espèce hautement protégée en Algérie. Par ailleurs, cette espèce est protégée par la Convention de Bonn (Annexe I, résolution 3, 2, 4) et la Convention de Washington (CITES/Annexe III).

Dans le but d'entamer la description du génome de la Gazelle leptocère, une étude cytogénétique a été entreprise afin de décrire les chromosomes avec précision. Ainsi, une comparaison génétique avec d'autres espèces d'antilopes comme la gazelle dorcas et la gazelle de Cuvier a été établie.

Nous proposons ainsi, pour la première fois en Algérie, un caryotype à haute résolution de la gazelle leptocère *loderi* en bandes morphologiques GTG obtenu après la réalisation d'une culture de lymphocytes issus d'une jeune femelle. Des synchronisations du cycle cellulaire avec l'incorporation du BrdU, analogue structural de la thymidine, lors de la réplication de l'ADN ont été réalisées et nous ont permis d'obtenir des chromosomes allongés en prométaphase.

La comparaison individuelle des paires chromosomiques autosomes et des chromosomes sexuels XX avec les chromosomes de la gazelle de Cuvier, a révélé la présence de similitudes. Les caryotypes de ces deux espèces sont ressemblants.

En revanche, la comparaison avec le caryotype de la gazelle dorcas a révélé la présence de similitudes entre la morphologie et le motif des bandes G pour le chromosome 3 uniquement. Les chromosomes sont nettement différents chez ces deux espèces qui semblent avoir divergé après des réarrangements chromosomiques qui se sont produits au cours de l'évolution. Aussi, des homologies sont décrites dans cette étude entre le caryotype de la gazelle leptocère *loderi* et le caryotype considéré comme ancestral des bovidés.

**Mots clés :** Gazelle leptocère, *gazella leptoceros loderi*, espèce menacée d'extinction, lymphocytes, synchronisation cellulaire, caryotype, chromosomes à haute résolution, bandes GTG, génome.

# *SOMMAIRE*

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
I. INTRODUCTION.....	2
1. PHYLOGÉNIE ET TAXONOMIE DES GAZELLES.....	2
1.1. CLASSIFICATION DE LA GAZELLE LEPTOCERE.....	2
1.2. Taxonomie des Bovidés.....	2
1.3. TAXONOMIE DES GAZELLES.....	2
1.4. PHYLOGÉNIE DES GAZELLES.....	5
2. DESCRIPTION DE LA GAZELLE LEPTOCERE.....	10
2.1. CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET BIOLOGIQUES.....	10
2.2. RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE.....	10
a- Habitat.....	10
b- Taille de la population.....	14
2.3. CAUSES DE DECLIN ET CONSERVATION DE L'ESPECE.....	14
a- Les menaces.....	14
b- Instruments juridiques et protection de l'espèce.....	14
c- Gestion de l'espèce.....	15
d- Conservation et gestion génétique.....	16
3. GENETIQUE DES GAZELLES.....	17
3.1. LA CYTOGENETIQUE.....	17
a- Techniques de marquages.....	17
b- Les bandes chromosomiques.....	18
3.2. ANALYSE DU CARYOTYPE ET POLYMORPHISME.....	21
a- Caryotype de la gazelle leptocère.....	22
b- Étude du polymorphisme génétique et intérêt pour la préservation.....	23
c- Polymorphismes et Spéciation : Effet des translocations sur la fertilité.....	23
d- Étude de la méiose chez la gazelle <i>G. subgutturosa</i> .....	25
3.3. ANALYSE GÉNÉTIQUE COMPARÉE.....	28
a- Évolution chromosomique des gazelles.....	28
b- Cartographie génique.....	29
II. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	33
1. MATÉRIEL BIOLOGIQUE.....	33
2. MISE EN CULTURE DES FIBROBLASTES.....	33
3. MISE EN CULTURE DES LYMPHOCYTES.....	37
4. PRÉPARATIONS CHROMOSOMIQUES.....	40
4.1. SYNCHRONISATION DES FIBROBLASTES.....	40
4.2. SYNCHRONISATION DES LYMPHOCYTES.....	40
4.3. RÉCOLTE DES CELLULES.....	42
4.4. MARQUAGES CHROMOSOMIQUES.....	43
a- Préparation des lames.....	43
b- Coloration conventionnelle au Giemsa.....	43
c- Technique de marquage mettant en évidence des bandes structurales GTG.....	44
d- Technique de marquage mettant en évidence des bandes dynamiques RBG.....	44
e- Technique de marquage mettant en évidence les bandes CBG.....	45
4.5. ÉTABLISSEMENT DU CARYOTYPE.....	46

III. RÉSULTATS.....	47
1. MATÉRIEL BIOLOGIQUE.....	47
2. CULTURES DE LYMPHOCYTES.....	47
3. MARQUAGES CHROMOSOMIQUES ET DESCRIPTION DES CHROMOSOMES DE LA GAZELLE LEPTOCÈRE.....	50
3.1. SYNCHRONISATION DE LA CULTURE CELLULAIRE.....	50
3.2. ETABLISSEMENT DU CARYOTYPE EN BANDES GTG DE LA GAZELLE <i>G. LEPTOCEROS LODERI</i> .....	50
IV. DISCUSSIONS.....	55
1. CULTURES CELLULAIRES.....	55
2. DESCRIPTION DES CHROMOSOMES DE LA GAZELLE LEPTOCÈRE ET COMPARAISON AVEC LE CARYOTYPE QUI SERAIT ANCESTRAL.....	57
3. CARTOGRAPHIE COMPAREE.....	60
3.1. COMPARAISON DES CARYOTYPES DE LA GAZELLE LEPTOCÈRE ET DE LA GAZELLE DE CUVIER.....	60
3.2. COMPARAISON DES CARYOTYPES DE LA GAZELLE LEPTOCÈRE ET DE LA GAZELLE DORCAS.....	63
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	67
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	70

# 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  
dNTP: désoxyribonucléotide triphosphate  
dTTP: désoxythymidine triphosphate  
dUDP: désoxyuridine diphosphate  
EDTA: éthylène diamine tétraacétate  
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])  
HSA: Homo Sapiens  
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:** Gazelle leptocère *G. leptoceros loderi* femelle (Centre Cynégétique de Zéralda).
- Figure 2:** Arbre phylogénétique construit à partir des comparaisons des séquences flanquantes du microsatellite INRA040.
- Figure 3:** Arbre phylogénétique des Antilopinés basé sur l'étude de l'ADN mitochondrial
- Figure 4:** (A) Gazelle leptocère mâle du Zoo de Brno (Tchéquie). (B) Dessin d'un mâle. (C) Gazelle leptocère femelle du Zoo de Ouargla (Algérie).
- Figure 5:** Différence des cornes entre la Gazelle leptocère femelle (A), mâle (B) et la gazelle de Cuvier (C).
- Figure 6:** (A) Différence dans la morphologie des cornes entre 4 espèces de gazelles. (B) Dessin de cornes de la gazelle leptocère et de la gazelle de Cuvier.
- Figure 7 :** Carte géographique indiquant l'aire de répartition de la gazelle *G. leptoceros loderi* en Algérie.
- Figure 8:** Caryotype en bandes GTG de la gazelle leptocère *G. leptoceros*.
- Figure 9:** Schémas des types de remaniements les plus fréquents.
- Figure 10:** Caryotype de la gazelle *G. subgutturosa* mâle.
- Figure 11:** Micrographie d'un noyau méiotique issu d'une gazelle subgutturosa mâle homozygote pour la translocation 14/15.
- Figure 12:** Arbre phylogénétique basé sur des données chromosomiques des Gazelles.
- Figure 13:** Carte physique comparée de la région du chromosome 7 bovin contenant le QTL de fertilité avec la région homologue du chromosome 5 humain (HSA5).
- Figure 14:** Jeune gazelle leptocère femelle (Ryma) du Centre Cynégétique de Zéralda.
- Figure 15 :**(A) Gazelle leptocère du Centre Cynégétique de Zéralda juste avant le prélèvement. (B) Différentes étapes de prélèvement de sang de la veine jugulaire.
- Figure 16:** Étapes de mise en culture des lymphocytes de la gazelle leptocère loderi sous une hotte à flux laminaire.
- Figure 17:** Mécanisme du blocage de la synthèse de l'ADN par de la thymidine lors de la synchronisation des cultures cellulaires.
- Figure 18:** Tête de la gazelle leptocère mâle de profil et de face, Parc Zoologique de Ben Aknoun (Alger).

**Figure 19:** Culot de lymphocytes obtenu après 72h de culture à 37°C.

**Figure 20:** (A) Métaphases avec des chromosomes non colorés (grossissement 10X). (B) Métaphase avec des chromosomes colorés (grossissement 100X).

**Figure 21:** (A) Caryotype en bandes GTG de la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi* femelle issue du Centre Cynégétique de Zeralda. (B) Classement des chromosomes selon leur taille relative.

**Figure 22 :** (A) Caryotype standard en bandes GTG du bœuf *Bos taurus*. (B) Caryotype standard en bandes RBG de la chèvre *Capra hircus*.

**Figure 23:** Comparaison des chromosomes en bandes morphologiques GTG de la gazelle *G. leptoceros loderi* du Centre Cynégétique de Zeralda (à gauche) avec ceux de la gazelle leptocère proposés par Vassart *et al.* (1995).

**Figure 24 :** Comparaison du chromosome X de la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi* avec celui du bœuf *bos taurus* (à gauche). Comparaison du chromosome X de la gazelle leptocère avec le chromosome 5 du bœuf (à droite).

**Figure 25:** Comparaison des chromosomes de la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi* (au centre) avec ceux du bœuf *bos taurus*

**Figure 26:** Comparaison des chromosomes en bandes GTG de la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi* du Centre Cynégétique de Zeralda (à gauche) avec ceux de la gazelle de Cuvier proposés par Vassart *et al.* (1995) (à droite).

**Figure 27:** Comparaison des chromosomes en bandes GTG de la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi* (à gauche) avec ceux de la gazelle dorcas proposés par Vassart *et al.* (1995) et du bœuf.

**Figure 28:** Comparaison du chromosome X de la gazelle *G. leptoceros loderi* avec celui de la gazelle *G. dorcas*.

**Figure 29 :** Métaphase partielle bovine sur laquelle s'est hybridée une sonde issue du chromosome 14 humain. Des homologies sont observées entre le chromosome 14 de l'Homme et les chromosomes 10 et 21 du bœuf.

# Liste des Tableaux

**Tableau 1:** Les différentes espèces de gazelles avec leur situation géographique.

**Tableau 2:** Liste des différentes espèces de gazelles avec leur localisation géographique ainsi que leur statut de protection.

**Tableau 3:** Techniques de marquage des chromosomes.

**Tableau 4:** Mesure des chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi* (cm). Métaphases photographiées avec un objectif (G X100). La photo a été agrandie et traitée avec le logiciel Adobe Photoshop 8.0.

Les milieux arides sont des milieux fragiles, où les populations animales et végétales sont susceptibles de variations brutales, en extension et en nombre. Le rythme de développement des populations animales désertiques est étroitement dépendant des précipitations. Des périodes de pullulation peuvent précéder localement des périodes de raréfaction extrême ou d'extinction. La rupture des équilibres naturels par le développement socioéconomique, la mutation des milieux naturels en de vastes domaines pastoraux, la pression cynégétique, la désertification lente et constante, ont modifié profondément les biotopes des espèces animales sauvages (Muzzolini, 2000). Tous ces facteurs sont déterminants dans l'extinction et la raréfaction des grands ongulés d'Algérie. Ainsi, au cours des cent dernières années, la zone aride Nord-Africaine a vu disparaître un nombre d'espèces animales important comme l'autruche, l'oryx, la gazelle leptocère et d'autres espèces devenir excessivement rares comme l'addax ou la gazelle dama (Le Berre, 1989, 1990). Les oiseaux comme l'outarde houbara ont également vu leurs populations diminuer (Le Cuziat *et al.*, 2005).

La Gazelle leptocère *Gazella leptoceros* est incluse dans un programme de reproduction en captivité des espèces de faune Sahélo-Saharienne menacées de disparition en Algérie, proposé par l'Agence Nationale pour la Conservation de la Nature (ANN). Les espèces considérées comme antilopes Sahélo-Sahariennes en Algérie sont l'oryx dammah (*Oryx dammah*), l'addax (*Addax nasomaculatus*), les gazelles dama (*Gazella dama*), les gazelles de Cuvier (*G. cuvieri*), les gazelles leptocères (*G. leptoceros*) et les gazelles dorcas (*G. dorcas*). Toutes ces espèces sont protégées par la législation Algérienne depuis 1983 (décret n° 83-509 du 20 Août 1983 fixant la liste des espèces non domestiques protégées).

Le but de cette étude est de commencer à décrire le génome de la gazelle leptocère. Bien que le caryotype de cette espèce ait déjà été établi dans le cadre d'une étude phylogénétique, aucune étude n'a été consacrée à la description précise et individuelle des chromosomes de cette espèce. Une étude cytogénétique de la gazelle leptocère a été entreprise afin de déceler d'éventuelles anomalies chromosomiques et d'établir une comparaison avec les chromosomes d'autres espèces d'antilopes comme la gazelle dorcas et la gazelle de Cuvier. Des comparaisons avec le caryotype considéré comme ancestral des bovidés seront aussi effectuées.

Dans une première partie consacrée à un rappel bibliographique, nous décrivons la gazelle leptocère dans son contexte phylogénétique. Nous rappellerons ensuite les données générales de la cytogénétique ainsi que les travaux sur les caryotypes et la génomique des différentes espèces de gazelles.

Dans une deuxième partie nous expliquerons la démarche expérimentale entreprise pour établir un caryotype à partir de cultures de lymphocytes prélevés à partir du sang d'une jeune femelle du Centre Cynégétique de Zéralda.

Enfin, dans une dernière partie nous présenterons les résultats de cette étude qui nous a permis d'établir une comparaison entre le caryotype de l'espèce locale *G. leptoceros loderi* et celui précédemment décrit dans la littérature où aucune précision concernant la sous-espèce étudiée n'a été donnée. Une comparaison des chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi* est effectuée avec les chromosomes d'autres espèces proches comme la gazelle de Cuvier ou la gazelle dorcas.

# *INTRODUCTION*

# I. INTRODUCTION

## 1. PHYLOGÉNIE ET TAXONOMIE DES GAZELLES

### 1.1. CLASSIFICATION DE LA GAZELLE LEPTOCÈRE

La gazelle leptocère *Gazella leptoceros* (Cuvier, 1842), aussi appelée gazelle des sables, vit dans les régions quasi désertiques de l'Afrique (Figure 1). C'est une espèce typiquement Saharienne qui comprend deux sous-espèces, *Gazella leptoceros leptoceros* du désert occidental de la basse Égypte et de Libye Nord-Orientale et *Gazella leptoceros loderi*, du Sahara Occidental et moyen. Ces deux formes paraissent géographiquement isolées et écologiquement distinctes. La gazelle leptocère appartient à la tribu des Antilopini, sous-famille des Antilopinae, famille des Bovidae qui comprend une vingtaine d'espèces, réparties dans les genres *Gazella*, *Antilope*, *Procapra*, *Antidorcas*, *Litocranius* et *Ammodorcas* (O'Reagan, 1984; Corbet et Hill, 1986; Groves, 1988).

### 1.2. TAXONOMIE DES BOVIDÉS

La famille des Bovidae (Mammalia, Artiodactyla) est l'une des plus diversifiées au sein des grands mammifères avec près de 140 espèces actuellement reconnues (Wilson et Reeder 1993). Il s'agit d'une famille de mammifères ruminants et herbivores qui comprend une dizaine de sous-familles, dont en particulier les bovinés (bovins), les caprinés (qui englobent les ovins) et les antilopes (Gray, 1821). Les ruminants sont caractérisés par la présence d'un estomac à quatre poches adapté à la rumination, des sabots à deux doigts, une denture marquée par l'absence d'incisives sur le maxillaire supérieur et l'absence de canines. Le caractère principal de cette famille est la présence de cornes, constituées d'un pivot osseux non ramifié et d'un étui de kératine permanent chez tous les mâles et parfois chez les femelles. Leur habitat naturel est très varié et s'étend depuis les régions arctiques jusqu'aux zones tropicales et, en particulier, dans les régions de prairies et de savane. On les trouve, à l'origine, dans le vieux monde (Eurasie, Afrique) et en Amérique du Nord. La plupart des études basées sur la morphologie s'accordent pour définir une douzaine de tribus à l'intérieur de la famille des Bovidés, mais les relations de parenté entre ces divers ensembles restent énigmatiques. La classification des bovidés est encore en pleine évolution. Une phylogénie des Bovidés basée sur l'étude de 40 loci par électrophorèse des protéines de 27 espèces représentant 10 tribus a été proposée (Georgiadis *et al.*, 1990). La divergence dans la famille est importante. La systématique est assez confuse, ceci est dû à la convergence morphologique, à la radiation rapide (diversification intense et rapide de nombreux groupes systématiques à partir d'un ancêtre commun) des tribus et à la douteuse monophylie (individus partageant une même innovation évolutive à partir d'un ancêtre commun exclusif) du groupe (Gatesy *et al.*, 1992). Une autre étude phylogénétique basée sur la comparaison de séquences d'ADN mitochondrial de 15 espèces a révélé que les Bovidés sont monophylétiques (Allard *et al.*, 1992) et comprennent deux clades (regroupement d'individus selon des parentés phylogénétiques). Le premier clade comprend les tribus Boselaphini, Bovini et Tragelaphini et le second comprend le groupe des Antilopini/Néotragini.

### 1.3. TAXONOMIE DES GAZELLES

Les gazelles appartiennent à la sous-famille des antilopinés (Antilopinae) de la famille des bovidés. Elles forment le genre *Gazella*.



**Figure 1 :** Gazelle leptocère *gazella leptoceros loderi* femelle (photo prise le 02/03/09 au Centre Cynégétique de Zéralda).

**Tableau I** : Les différentes espèces de gazelles avec leur situation géographique.

<b>Espèce</b>	<b>Nom commun</b>	<b>Localisation</b>
<i>Gazella arabica</i> (Lichtenstein, 1827)	gazelle d'Arabie	Proche-Orient
<i>Gazella bennettii</i> (Sykes, 1831)	gazelle de Bennett, gazelle de l'Inde	Asie
<i>Gazella bilkis</i> (Groves et Lay, 1985)	gazelle du Yémen, chinkara	Proche-Orient
<i>Gazella cuvieri</i> (Ogilby, 1841)	gazelle de Cuvier	Afrique du Nord
<i>Gazella dama</i> (anc. <i>Nager dama</i> ) (Pallas, 1766)	gazelle dama	Afrique
<i>Gazella dorcas</i> (Linnaeus, 1758)	gazelle dorcas	Afrique, Proche-Orient
<i>Gazella gazella</i> (Pallas, 1766)	gazelle de montagne	Proche-Orient
<i>Gazella granti</i> (Brooke, 1872)	gazelle de Grant	Afrique
<i>Gazella leptoceros</i> (F. Cuvier, 1842)	gazelle leptocère, gazelle à cornes fines	Afrique
<i>Gazella rufifrons</i> (Gray, 1846)	gazelle à front roux	Afrique
<i>Gazella rufina</i> (Thomas, 1894)	-	Afrique du Nord
<i>Gazella saudiya</i> (Carruthers et Schwarz, 1935)	gazelle saoudienne	Proche-Orient
<i>Gazella soemmerringi</i> (Cretzschmar, 1828)	gazelle de Soemmerring	Afrique
<i>Gazella spekei</i> (Blyth, 1863)	gazelle de Speke	Afrique de l'Est
<i>Gazella subgutturosa</i> (Güldenstaedt, 1780)	gazelle à goitre	péninsule Arabique, Asie centrale
<i>Gazella thomsonii</i> (Günther, 1884)	gazelle de Thomson	Afrique de l'Est

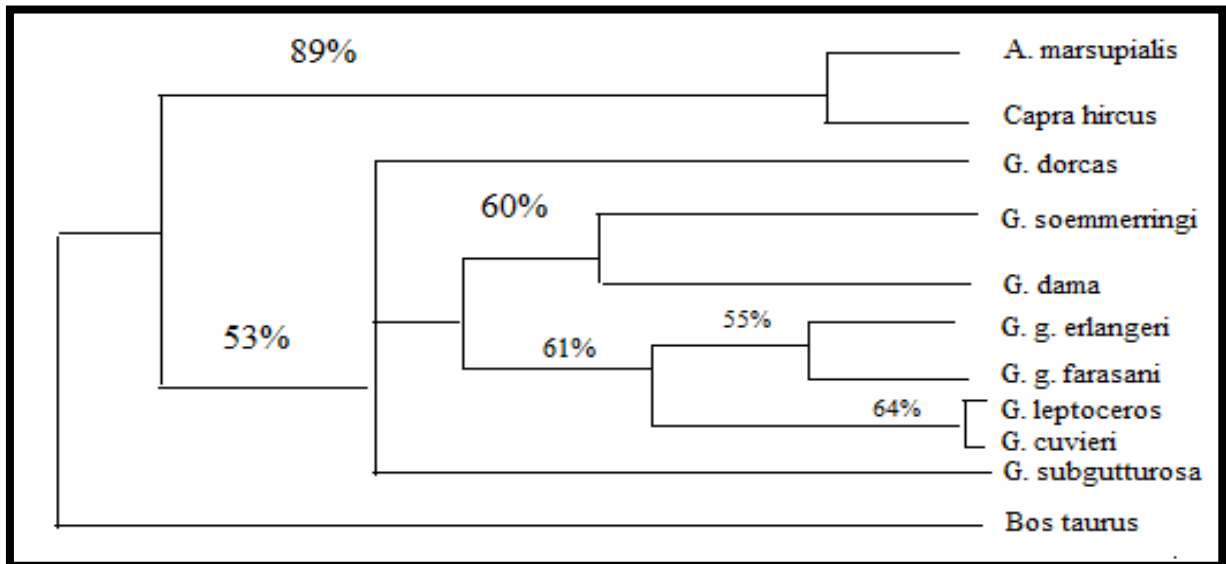
La sous-famille des Antilopinés est subdivisée en deux tribus, la Neotragini et l'Antilopini (gazelles). Au sein de la tribu Antilopini, *Gazella* est le plus ancien et le plus important genre. Ce dernier comprend 3 sous genres (*Nanger*, *Gazella*, et *Trachelocele*) (Walther *et al.*, 1983). La gazelle *G. subgutturosa* est la seule espèce du sous genre *Trachelocele*. Le genre *Nanger* comporte 3 espèces (*G. granti*, *G. dama*, et *G. soemmerringii*). Le reste des espèces appartient au sous genre *Gazella*. La classification des espèces au sein du genre *Gazella* est problématique puisqu'il existe une grande variation géographique pour les caractères morphologiques. La plus récente version taxonomique indique que la tribu des Antilopini comporte 19 espèces, parmi lesquelles 14 appartiennent au genre *Gazella* (Corbet et Hill, 1991) (Tableau I). Les 14 espèces du genre gazelle sont réparties en 5 groupes (Groves, 1969, 1985, 1988). La classification de ce genre est l'une des plus confuse parmi 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 gazelle *G. leptoceros* est soit incluse dans le sous-genre *Gazella* (Groves, 1969; O'Regan, 1984), soit considérée comme formant avec la gazelle asiatique, *G. subgutturosa*, le sous-genre *Trachelocele*. Les gazelles *G. leptoceros* et *G. subgutturosa* font partie du groupe II appelé Gazelles de dunes (Groves, 1988). Il existe de grandes variations morphologiques au sein de certaines espèces de gazelles. L'origine de beaucoup d'espèces serait récente (Gentry, 1966). Un nombre important d'espèces seraient des semi-espèces en voie de formation et donc pas encore bien caractérisées par rapport aux autres espèces proches. La taxonomie actuelle est fondée essentiellement sur des caractères morphologiques tels que la forme ou la taille des cornes et du crâne, ainsi que la couleur du pelage. D'où la nécessité de pouvoir utiliser des critères génétiques afin de caractériser plus précisément les relations entre les différentes espèces et sous-espèces. Les marqueurs moléculaires permettent de déterminer le statut taxonomique et phylogénétique de ces espèces (Benirschke, 1977).

#### 1.4. PHYLOGÉNIE DES GAZELLES

La sous famille des Antilopinés est, d'un point de vue phylogénétique, la moins comprise des sous familles des Bovidae. Certaines espèces d'antilopes ont été incluses dans cette famille par défaut et non pas selon des critères taxonomiques.

La diversité génétique des populations ou des espèces proches entre elles a été évaluée par électrophorèse des protéines. Les variations électrophorétiques de 19 loci de 10 espèces d'Artiodactyles ont montré que la reconstitution phylogénétique est en accord avec la systématique, sauf pour l'antilopcapre qui est plus proche des Cervidés que des Bovidés (Baccus *et al.*, 1983). À part les travaux de Georgiadis sur la phylogénie des Bovidés, pour lesquels des spécimens de gazelles Thomson, de Grant et de Speke ont été étudiées (Georgiadis *et al.*, 1990), la seule espèce de gazelle dont l'électrophorèse des protéines a été étudiée est la gazelle de Speke (Templeton *et al.*, 1987).

Une étude a été réalisée sur les espèces du genre *Gazella*, le springbok *Antidorcas marsupialis* et l'antilope cervicapra en utilisant des techniques d'électrophorèse des protéines ainsi que des analyses cytogénétiques et de microsatellites (Vassart *et al.*, 1993). La variabilité génétique de 8 taxons de gazelles a été évaluée par électrophorèse en analysant 16 loci (*G. subgutturosa* (n=30), *G. dorcas* (n=25), *G. g. gazella* (n=16), *G. g. erlangeri* (n=15), *G. thomsoni* (n=8), *G. g. cora* (n=7), et *G. g. farasani* (n=5) et *G. rufifrons* (n=1)). Parmi les 8 taxons de gazelles, 8 loci s'avèrent polymorphes. L'hétérozygotie moyenne (présence de deux allèles différents pour un même gène) varie de 0 à 8.5%.



**Figure 2: Arbre phylogénétique construit à partir des comparaisons de séquences flanquantes du microsatellite INRA040 (Vassart *et al.*, 1995).**

Les distances génétiques ont été calculées selon la méthode du Neighbor Joining, utilisant toutes les différences (transitions, transversions, insertions-deletions). La méthode de Distance (Clustering) Neighbor Joining utilise la méthode heuristique (méthode phylogénétique utilisant des algorithmes pour parcourir l'ensemble des espèces d'un arbre, mise en forme des règles de la recherche et de la découverte) qui est très rapide.

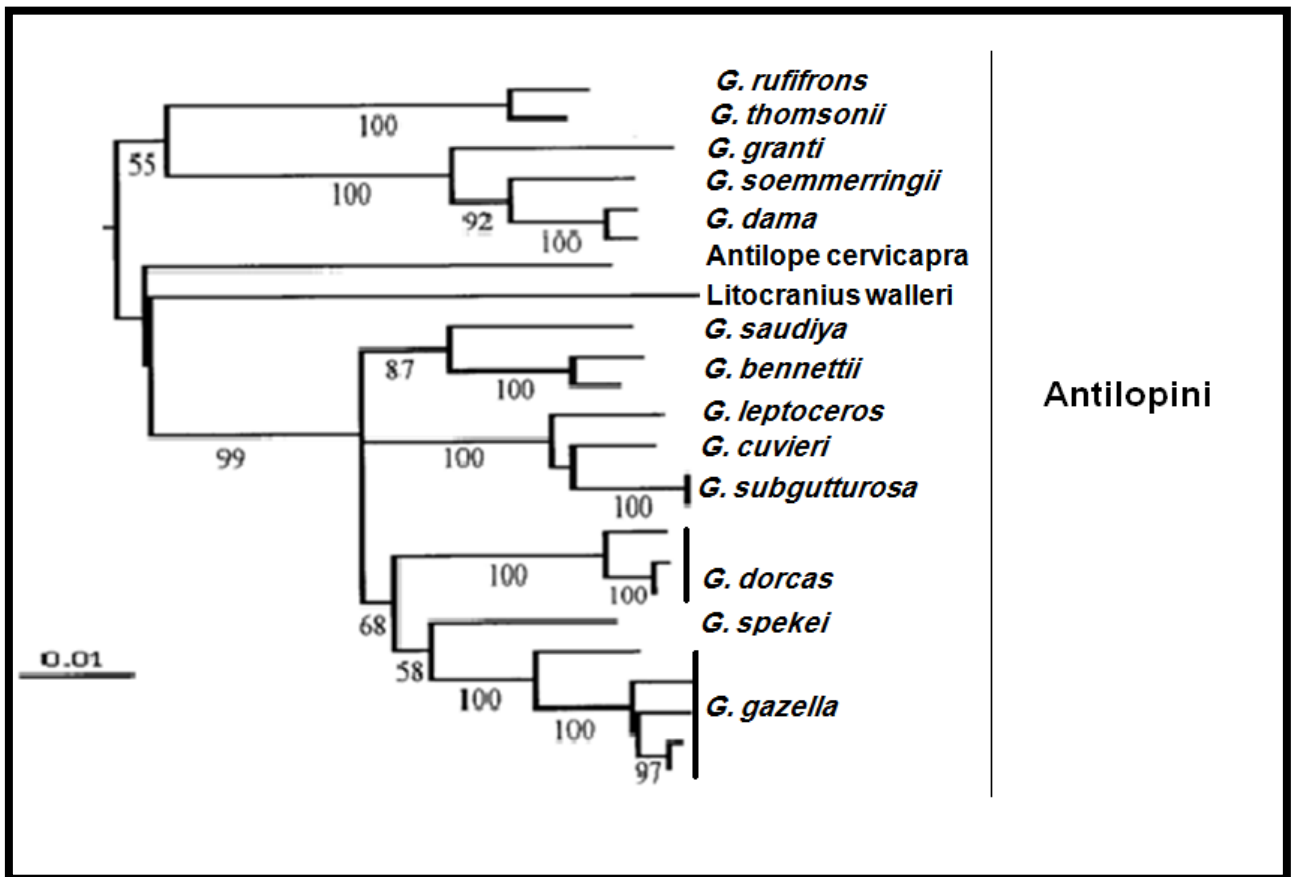
Cet arbre montre la proximité de l'*Antidorcas marsupialis* et de *Capra hircus* ainsi que *G. leptoceros* et *G. cuvieri*. Il indique également que *G. dama* est proche *G. soemmerringii* (même sous-genre *Nanger*). *G.g.erlangeri* et *G.g.farasanis* sont regroupés (même espèce).

Le nombre moyen d'allèles par locus est de 1 à 1.31 et le taux de locus polymorphes est de 0 à 18.7% (Vassart *et al.*, 1995). Le taux de polymorphisme, l'hétérozygotie et le nombre moyen d'allèles sont comparés à ceux d'autres artiodactyles (Vassart *et al.*, 1991).

L'hétérozygotie moyenne pour 184 espèces de mammifères est de 4.1% (Nevo *et al.*, 1984), valeur proche de celles calculées pour les gazelles de cette étude dont l'échantillon est supérieur à 10 individus. Sur les 8 loci polymorphes, seulement 4 présentent une variabilité significative (Estérase (ES14), Enzyme malique (MOD), Nucléoside phosphorylase (NP) et Transferrine (TRF)). Les distances de Rogers (distance génétique) varient de 0.012 à 0.304. La Superoxyde dismutase (SOD) montre une différence allélique fixée entre *G. thomsoni*, *G. dorcas*, *G. rufifrons* d'une part, et les autres taxons d'autre part. Ces 3 taxons ont pour ES14 un allèle majoritaire qui n'existe pas chez les autres espèces. *G. thomsoni* et *G. dorcas* ont de même un allèle majoritaire pour MOD et TRF non retrouvé chez les autres espèces. Ce rapprochement est étonnant, d'autant plus qu'il n'est confirmé par aucune autre analyse morphologique ou cytogénétique (Vassart *et al.*, 1995).

Ces travaux ont montré la proximité génétique des différentes sous-espèces de la gazelle *G. gazella* (*G. g. gazella*, *G. g. erlangeri*, *G. g. cora*, et *G. g. farasani*) qui ont des caryotypes identiques. Les distances génétiques entre elles, déduites des résultats d'électrophorèse de protéines sont faibles. Ces résultats confirment leur appartenance à une même espèce (Vassart *et al.*, 1995). Ces études ont également montré l'importance du polymorphisme chromosomique chez les gazelles. Le polymorphisme du chromosome Y chez *G. g. gazella*, et le polymorphisme Robertsonien (variation du nombre de chromosomes entre individus d'une même espèce par un phénomène de fusion /fission) chez *G. subgutturosa marica* ou *G. dama*.

Des amorces déjà identifiées chez le bœuf *Bos taurus* pour amplifier certains microsatellites (séquence d'ADN contenant une répétition d'un motif de quelques paires de bases, et sont une source de polymorphisme facilement utilisable en cartographie) ont été utilisées chez les gazelles. L'analyse des séquences flanquantes du microsatellite INRA040 est intéressante pour les constructions phylogénétiques (Vassart *et al.*, 1995). Ce microsatellite est flanqué de 2 séquences S1 et S3, et au milieu se trouve une séquence S2 qui est constante d'une espèce de gazelle à une autre. La séquence S1 contient 7 sites variables sur 36, et S3 contient 1 site variable sur 6. Ces séquences ont été comparées aux séquences homologues du bœuf *Bos taurus*, de la chèvre *Capra hircus* et de l'antilope *Antidorcas marsupialis*. Ensuite un arbre phylogénétique a pu être proposé (Figure 2). Les séquences de *G. cuvieri* et de *G. leptoceros* sont les mêmes, et leurs caryotypes en bande GTG sont identiques (Kumamoto et Bogart, 1984). Cependant, elles sont considérées sans aucun doute comme des espèces distinctes car leur morphologie externe est différente ainsi que leur biotope. Dans une autre étude, la phylogénie moléculaire des Antilopinae a été déterminée en utilisant 2 gènes mitochondriaux, le cytochrome *b* et le cytochrome *c* oxydase III (Rebholz et Harley, 1999). Sur 1083 pb, 403 pb sont variables parmi lesquelles 329 apportent une information phylogénétique (Figure 3). Il y a peu de différences entre les études phylogénétiques et les conclusions des analyses morphologiques suggérées par Groves (Groves, 1985, 1988). Alors cinq groupes du genre *Gazella* sont déterminés. Le groupe 1 comprend *G. dama*, *G. granti* et *G. soemmerringii*. Le 2<sup>ème</sup> groupe comprend *G. rufifrons* (incluant *G. thomsonii*), le 3<sup>ème</sup> groupe, *G. subgutturosa*, *G. leptoceros* et *G. cuvieri*, le 4<sup>ème</sup> groupe, *G. saudiya* et *G. bennettii* et enfin le groupe 5, *G. dorcas*, *G. gazella*, et *G. spekei*. Ces résultats montrent également que le sous genre *Trachelocele* (comportant uniquement *G. subgutturosa*) n'est pas valable. La gazelle *G. subgutturosa* semble être très proche de *G. cuvieri* et *G. leptoceros*, et appartiendrait donc au sous genre *Gazella*.

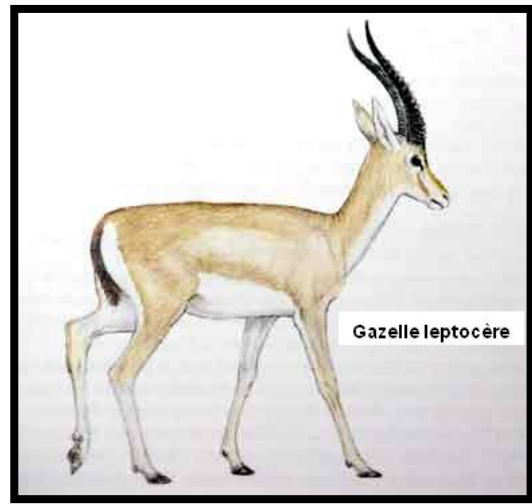


**Figure 3 : Arbre phylogénétique des Antilopinés basé sur l'analyse de l'ADN mitochondrial (Rebholz et Harley, 1999). Le genre *Gazella* est subdivisé en 5 groupes :**

**1-** Les gazelles *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*.



**A**



**B**



**C**

**Figure 4 :** **A :** Gazelle leptocère mâle du Zoo de Brno (Tchéquie). **B :** Dessin d'un mâle (Kingdom). **C :** Gazelle leptocère femelle du Zoo de Ouargla (Algérie).

## 2. DESCRIPTION DE LA GAZELLE LEPTOCERE

### 2.1. CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET BIOLOGIQUES

La gazelle leptocère est une gazelle de taille moyenne avec un dos beige jaunâtre pâle séparé du ventre blanc par une bande légèrement plus sombre sur les flancs. La face et le cou sont de la même couleur que le dos. Les marques faciales sont peu précises. Les oreilles sont longues et étroites (Figure 4). Les cornes sont longues, fines, lyrées, faiblement incurvées (en forme de S), droites, divergentes et presque rectilignes chez les deux sexes (Groves, 1988). Les cornes comportent 20 à 25 anneaux bien marqués, le quart supérieur est lisse (Figures 5 et 6). Elles sont manifestement plus larges et plus longues chez les mâles, jusqu'à 35 à 40 cm. Les sabots externes sont plus larges que les internes (Kingdon, 1997), l'élargissement de leur surface facilite la marche dans le sable (Le Berre, 1990). La tache de la croupe est blanche et peu soulignée. La queue est courte, terminée par une touffe de poils noirs. La gazelle des sables est peu connue par rapport aux autres espèces de gazelles.

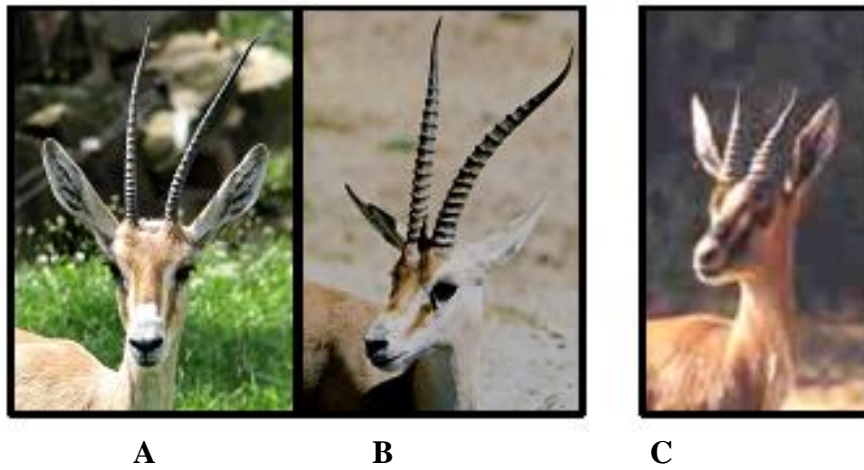
La Gazelle leptocère se déplace en petites troupes de 3 à 4 individus, en général un mâle adulte, quelques femelles et des jeunes. On peut la rencontrer aussi en couple, en solitaire ou en groupes de jeunes mâles. La gestation dure environ 165 jours. Il y a souvent deux jeunes par portée (Le Berre, 1990). La période de rut se situerait en automne et s'étend du mois de Septembre jusqu'au mois de Novembre (Abaigar *et al.*, 2009).

### 2.2. RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE

La gazelle leptocère *G. leptoceros* est une espèce à répartition restreinte. C'est une antilope typiquement Saharienne, vivant principalement dans les grands ergs occidental et oriental, aux environs de la Hamada de Tinghert et encore probablement dans les systèmes dunaires des massifs du Hoggar et du Tassili. La gazelle *G. leptoceros loderi* est liée aux déserts de sable, et caractéristique du Sahara Central (Dragesco-Joffé, 1993). Sa présence au Maroc n'est qu'accidentelle. Le centre de gravité de sa distribution se trouve par contre dans le Grand Erg Occidental à l'Est d'une ligne Saoura - Wadi Messaoud (Setzer, 1957; Dupuy, 1967, de Smet, 1989). On la retrouve également dans le Grand Erg Oriental, au niveau de la zone sableuse qui s'étend de la Hamada de Tinghert en Algérie au Fezzan en Libye. La gazelle leptocère peuple aussi les petits ergs du pourtour des massifs Centro-Sahariens du Hoggar et du Tassili des Ajjers, en particulier l'erg Ahmer (Figure 7) (Kowalski et Rzebik-Kowalska, 1991; Dragesco-Joffé, 1993; Kacem *et al.*, 1994; Khattabi et Mallon, 1997). Il s'agit d'une région où sa présence est connue de très longue date et à laquelle on l'a crue limitée (Sclater et Thomas, 1898; Trouessart, 1905; Lavauden, 1926; Joleaud, 1929). Sa distribution dans les ergs entourant les massifs du Hoggar et du Tassili pourrait s'étendre jusqu'au Mali dans le Tanezrouft (de Smet, 1989) et au voisinage de l'Adrar des Iforas (Pavy, 1996). Dans les ergs du Sahara méridional et du Sahara oriental, les données sont très peu nombreuses, à cause de la rareté de l'espèce ou en raison des difficultés d'observation.

#### a- Habitat

Les gazelles se déplacent fréquemment entre les dépressions désertiques à la recherche de nourriture. Lors de sécheresses longues et sévères, l'espèce est amenée à faire des mouvements plus importants (Heim de Balsac, 1928), l'entraînant loin de son habitat préféré. Ces migrations ont un caractère transfrontalier entre l'Algérie et la Tunisie et entre l'Algérie et le Mali.



**Figure 5** : Différence des cornes entre la Gazelle leptocère femelle (A), mâle (B) et la gazelle de Cuvier (C).

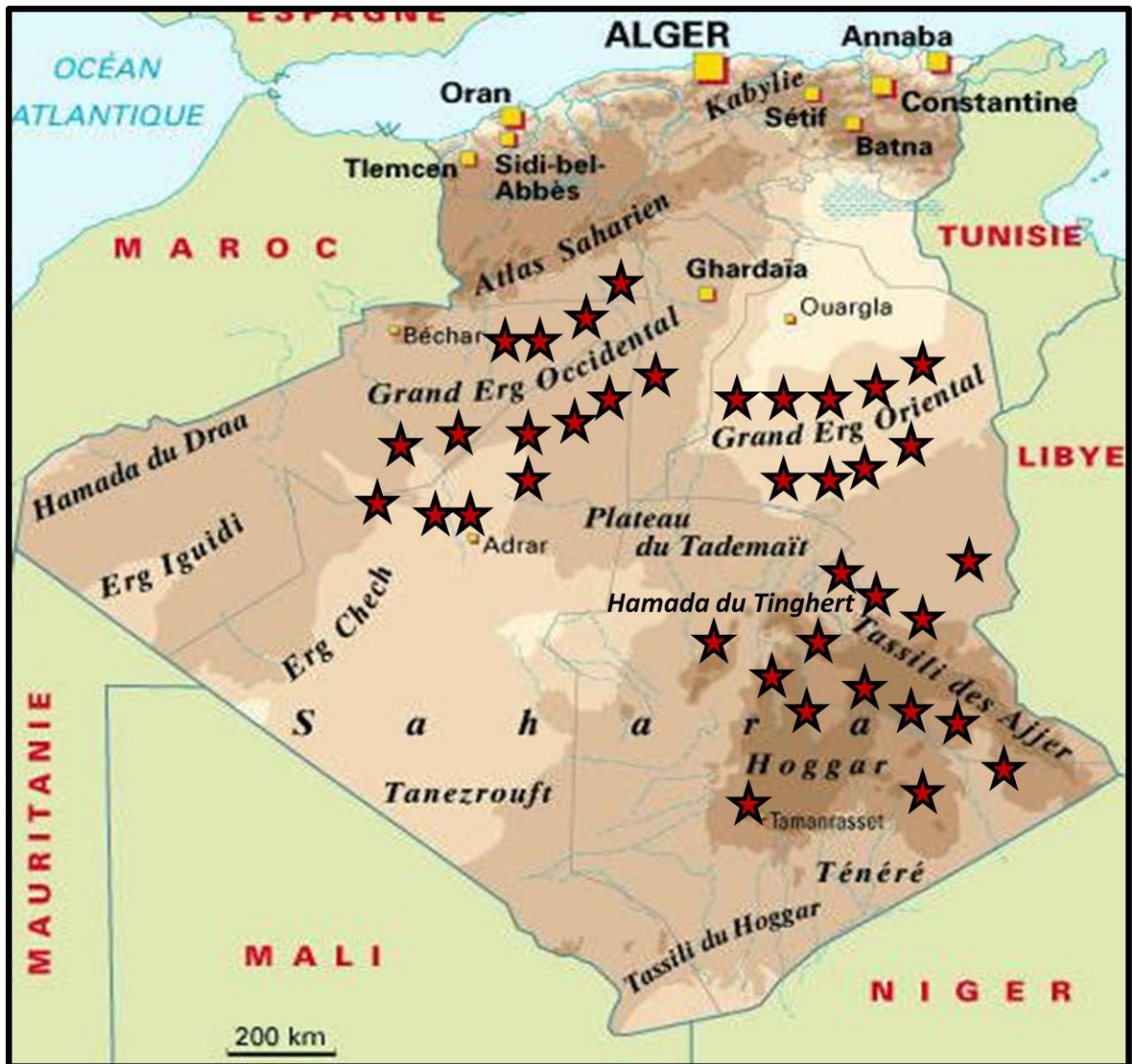


A



B

**Figure 6**: (A) Différence dans la morphologie des cornes entre 4 espèces de gazelles. De gauche à droite : La gazelle dama *Gazella dama*, la gazelle leptocère *Gazella leptoceros*, la gazelle de Cuvier *Gazella cuvieri* et la gazelle dorcas *Gazella dorcas*. (Groves, 1988 ; Kingdon, 1997 ; Mallon et Kingswood, 2001 ; Yom-Tov *et al.*, 1995). (B) Dessin des cornes de la gazelle leptocère (à droite) et de la gazelle de Cuvier (à gauche) (Pease, 1896).



**Figure 7 : Carte géographique indiquant l'aire de répartition de la gazelle *G. leptoceros loderi* en Algérie (selon Dragesco-Joffé, 1993).**

Le centre de gravité de la distribution de cette antilope se trouve dans le Grand Erg Occidental, le Grand Erg Oriental, la zone sableuse qui s'étend de la Hamada de Tinghert en Algérie, au Fezzan en Libye et dans les plus petits ergs des massifs Centro-Sahariens du Hoggar et du Tassili des Ajjer, en particulier l'erg Ahmer.

★★★ Présence de la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi*.

**Tableau II :** Liste des différentes espèces de gazelles avec leur localisation géographique ainsi que leur statut de protection. (1) Évaluation du risque d'extinction par l'Union mondiale pour la nature (UICN), publiée sur la liste rouge des espèces menacées (2007).

<b>Espèce</b>	<b>Nom commun</b>	<b>Localisation</b>	<b>Risque d'extinction (1)</b>
<i>Gazella arabica</i> (Lichtenstein, 1827)	gazelle d'Arabie	Proche-Orient	éteinte
<i>Gazella bennettii</i> (Sykes, 1831)	gazelle de Bennett, gazelle de l'Inde	Asie	préoccupation mineure
<i>Gazella bilkis</i> (Groves et Lay, 1985)	gazelle du Yémen, chinkara	Proche-Orient	éteinte
<i>Gazella cuvieri</i> (Ogilby, 1841)	gazelle de Cuvier	Afrique du Nord	en danger
<i>Gazella dama</i> (anc. <i>Nager dama</i> ) (Pallas, 1766)	gazelle dama	Afrique	en danger critique
<i>Gazella dorcas</i> (Linnaeus, 1758)	gazelle dorcas	Afrique, Proche-Orient	vulnérable
<i>Gazella gazella</i> (Pallas, 1766)	gazelle de montagne	Proche-Orient	vulnérable
<i>Gazella granti</i> (Brooke, 1872)	gazelle de Grant	Afrique	faible risque
<i>Gazella leptoceros</i> (F. Cuvier, 1842)	gazelle leptocère, gazelle à cornes fines	Afrique	en danger
<i>Gazella rufifrons</i> (Gray, 1846)	gazelle à front roux	Afrique	vulnérable
<i>Gazella rufina</i> (Thomas, 1894)	-	Afrique du Nord	éteinte
<i>Gazella saudiya</i> (Carruthers et Schwarz, 1935)	gazelle saoudienne	Proche-Orient	éteinte à l'état sauvage
<i>Gazella soemmerringi</i> (Cretzschmar, 1828)	gazelle de Soemmerring	Afrique	vulnérable
<i>Gazella spekei</i> (Blyth, 1863)	gazelle de Speke	Afrique de l'Est	en danger
<i>Gazella subgutturosa</i> (Güldenstaedt, 1780)	gazelle à goitre	péninsule Arabique, Asie centrale	vulnérable
<i>Gazella thomsonii</i> (Günther, 1884)	gazelle de Thomson	Afrique de l'Est	faible risque

## **b- Taille de la population**

Les estimations d'effectifs de la gazelle *G. leptoceros loderi* sont très difficiles à établir. Il semble néanmoins qu'elle était beaucoup plus abondante dans les Grands Ergs Algéro-Tunisiens à la fin du siècle dernier. Des effectifs importants ont été rencontrés par de nombreux naturalistes (Sclater et Thomas, 1898; Lavauden, 1926; Heim de Balsac, 1928, 1936). Alors que Le Houérou (1986) a noté en avoir vu un seul spécimen au cours de vingt-cinq ans de prospections destinées aux cartes de végétations de l'Afrique du Nord. Selon une enquête menée par la Direction Générale des Forêts sur l'identification des aires de répartition des antilopes Sahélo Sahariennes en Algérie, les populations de gazelles leptocères sont présentes dans 11 wilayas et 15 communes (de l'Atlas Tellien Est et versant sud de la wilaya de Tébessa et 3 wilayas du semi aride et 7 wilayas du climat aride).

### 2.3. CAUSES DE DÉCLIN ET CONSERVATION DE L'ESPÈCE

L'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) a évalué le niveau de risque auquel sont soumises les espèces vivantes et a dressé une liste rouge de toutes les espèces menacées. Depuis 1990, la gazelle *G. leptoceros* est considérée comme menacée, c'est-à-dire, que cette espèce est en danger d'extinction et a peu de chance de survie si les causes de son déclin persistent. D'après les critères de Mace et Lande (1991) qui précisent la probabilité d'extinction sur une période donnée, *G. leptoceros* présente 20% de probabilité d'extinction dans les 20 prochaines années ou en 10 générations (Tableau II).

#### **a- Les menaces**

La population des gazelles *G. leptoceros loderi* endémique de l'Afrique du Nord est menacée de disparition (Le Houérou, 1986; Karem *et al.*, 1993). Au Maroc cette gazelle a complètement disparu. Les écosystèmes sahéliens et désertiques ont régressé à la suite de l'augmentation du cheptel d'animaux domestiques et du développement socio-économique et après l'accroissement de la pression démographique. La chasse et l'instabilité due aux guerres et révoltes tribales, ainsi que la propagation des armes à feu continuent à menacer sérieusement ces animaux. Aussi, le dérangement causé par la recherche minière et pétrolière et la promotion des infrastructures diverses ont aggravé la dégradation de leurs habitats. Ainsi, le déclin de *G. leptoceros loderi* et la quasi-extinction de *G. leptoceros leptoceros* doivent être attribués en particulier à une chasse incontrôlée (Saleh, 1987, 1997; Kacem *et al.*, 1994). La chasse traditionnelle a pu également avoir un impact considérable sur les populations locales (Sclater et Thomas, 1898). La chasse moderne avec des armes à feu et des véhicules motorisés menant des courses poursuites effrénées conduisent inéluctablement à la mort par épuisement de l'animal (Newby, 1990). Cette chasse constitue la principale menace, susceptible de conduire l'espèce à l'extinction. Ce déclin est également dû à la régression de la végétation naturelle des milieux dunaires.

#### **b- Instruments juridiques et protection de l'espèce**

Dans le but d'atténuer ce processus de déperdition des ressources naturelles, l'Algérie a promulgué ses premières lois sur la Chasse et la Protection de l'Environnement en 1982-1983. Celles-ci ont été suivies par plusieurs décrets et arrêtés complémentaires établissant les listes des espèces de faune et de flore sauvages protégées, ainsi que par la mise en place de nouvelles aires protégées.

En 2003, une nouvelle loi de Protection de l'Environnement a été promulguée et a été renforcée par une loi sur la Chasse en 2004 (Loi N° 04-07 du 14 août 2004 Article 54-55-56-

57 et 58). L'espèce *Gazella leptoceros loderi* est également protégée par l'ordonnance N° 06-05 du 15 juillet 2006, relative à la protection et à la préservation de certaines espèces animales menacées de disparition. Elle est considérée comme espèce hautement protégée en Algérie. Sur le plan International, cette espèce est protégée par la Convention de Bonn (Annexe I, résolution 3, 2, 4) et la Convention de Washington (CITES/ Annexe III). La Convention sur les Espèces Migratrices de la Faune Sauvage (CEM) vise à combattre la diminution de la biodiversité en milieux arides et la désertification, et promouvoir l'utilisation rationnelle des ressources naturelles au Sahel et au Sahara. Le projet, soutenu par le Fonds Français pour l'Environnement Mondial (FFEM), est une première phase de mise en application du Plan d'Action de la 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). Il concerne actuellement 7 pays (Tunisie, Niger et Mali, Maroc, Mauritanie, Sénégal et Tchad). Il répond à un besoin pressant de juguler la perte de la biodiversité qui se traduit par la diminution rapide et inquiétante de six grandes espèces patrimoniales d'antilopes du pourtour saharien, dont cinq très menacées et éteintes à l'état sauvage ou en danger critique d'extinction (l'oryx algazelle, l'addax, la gazelle dama, la gazelle leptocère, la gazelle de Cuvier). La sixième espèce, la gazelle dorcas, est actuellement en déclin important (classée vulnérable selon l'UICN).

### **c- Gestion de l'espèce**

La Direction Générale des Forêts (DGF) et l'Agence Nationale pour la Conservation de la Nature (ANN) sont deux structures relevant du Ministère de l'Agriculture qui sont impliquées dans la gestion et la préservation de ces espèces et de leurs habitats.

La Direction Générale des Forêts est un organisme central gouvernemental, représenté à l'échelle régionale par les Conservations des forêts et les Parcs Nationaux. La DGF est en charge de la gestion administrative des aires protégées et de la faune cynégétique. L'Agence Nationale pour la Conservation de la Nature est un organisme administratif à caractère technique et scientifique, qui se charge de la connaissance, le suivi et la gestion de la faune et la flore sauvage, particulièrement les espèces menacées. Pour la réalisation de ces objectifs, l'agence dispose de 6 unités décentralisées appelées, Unité de Conservation et de Développement (UCD) qui permet l'application du programme d'action de l'ANN sur le terrain. Une station d'élevage en semi captivité de la Gazelle leptocère et de la Gazelle dorcas a été mise en place. Cette station de reproduction est située à El Bayadh dans la commune de Brezina. D'une superficie de 8 ha, l'enclos est entièrement clôturé. L'approvisionnement en eau est assuré par une canalisation provenant d'un puits avoisinant. Les voies d'accès au site sont à proximité du gazoduc Algérie-Espagne et sont, de ce fait, soumises à une autorisation officielle. Les spécimens proviennent essentiellement de la région. Ils sont soit offerts par la population locale, soit issus de captures lors de missions effectuées sur le terrain. Actuellement, la station de Brezina compte 5 gazelles leptocères. Il est également question d'un projet de création d'un Centre National de reproduction en semi captivité des antilopes Sahélo-Sahariennes à El Menea dans la wilaya de Ghardaïa.

L'élevage en captivité est considéré comme un moyen de conservation *ex situ* des espèces. L'objectif est d'obtenir des populations génétiquement viables dans des centres d'élevages afin de préparer une réintroduction de ces espèces dans le milieu naturel. L'élevage en captivité est un dernier recours si la conservation dans le milieu naturel est impossible (Abaigar *et al.*, 2009).

#### d- Conservation et gestion génétique

La gestion génétique a comme objectif la préservation d'un maximum de variabilité génétique. Il est donc nécessaire d'éviter l'augmentation de la consanguinité et d'agrandir la taille de la population.

L'élevage en captivité a permis de collecter de nombreuses informations sur les gazelles de Cuvier (Olmedo *et al.*, 1985), des gazelles dorcas (Kranz *et al.*, 1983) et des gazelles Speke (Read et Frueh, 1980). Chez cette dernière, des inséminations ont été effectuées avec succès. 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 de gazelles (Alados et Escos, 1991). L'objectif était d'accroître les effectifs afin d'éviter les risques d'extinction. Des parents consanguins sont choisis pour sélectionner des complexes géniques viables dans un complexe consanguin. Donc les parents représentant les meilleurs fondateurs. Les descendants sont donc consanguins mais avec des ancêtres les plus variables possibles pour essayer de limiter les conséquences négatives de la consanguinité. L'influence de la consanguinité sur la longévité, la fécondité, la survie des jeunes, la prolificité et le poids à la naissance a été étudiée chez les gazelles dama, dorcas et cuvier de la collection (Alados et Escos, 1991). Une consanguinité élevée diminue la longévité des gazelles dama et de cuvier, mais pas celle des dorcas. Par contre, ils n'ont pas observé une réelle diminution de la fécondité et de la survie des jeunes chez la dorcas, contrairement aux deux autres espèces où l'effet est plus prononcé. La " purge" des allèles délétères d'animaux consanguins a été expérimentée chez la Gazelle de Speke *G. spekei* (Templeton et Read, 1984). Dans un premier temps, les résultats du programme ont été considérés comme satisfaisants. En effet, une dépression de la consanguinité a été réduite sur trois générations, en choisissant comme géniteurs des animaux consanguins mais en pleine possession de leurs capacités reproductrices. Les auteurs ont conclu en soulignant que toute dépression consanguine peut être gérée pour permettre la survie, au long terme des populations consanguines. L'utilisation de cette méthode a donc été recommandée. Ultérieurement, plusieurs auteurs ont remis en question la pertinence des résultats. Les méthodes d'analyse statistique utilisées auraient pu créer des biais faussant les estimations. De ce fait, le réexamen du bilan du programme a produit plusieurs constats divergents. Une diminution de la dépression de la consanguinité s'est bien produite, mais seulement pour la première génération. Cette dépression concernait essentiellement des portées consanguines nées de parents non consanguins. La viabilité accrue de ces portées n'est pas due à la purge opérée, mais sans doute à l'amélioration des conditions d'élevage dans les établissements concernés. En conséquence, il vaudrait mieux s'en tenir à la pratique, plus prudente, de sélectionner des couples reproducteurs dans une population pour maximiser la variation génétique.

Pour assurer une gestion génétique des gazelles de Brezina, un projet a été mis en place afin d'identifier chaque individu (prélèvement de sang et de poils) pour chacune des espèces présentes, et d'établir une fiche d'identification. Il est également question d'établir des relations de parentés entre les individus et de contrôler la reproduction. Donc, à tout moment, un croisement entre les mâles et les femelles, devrait donner naissance à des individus les moins consanguins possibles.

Parmi les espèces de gazelles présentes autour ou dans l'Erg Occidental, la gazelle leptocère est considérée comme la plus menacée avec un risque de disparition totale à l'avenir. Il s'agit également de l'espèce la moins étudiée sur le plan biologique et écologique. Sa présence dans la station de Brezina pourrait incontestablement constituer un moyen pour améliorer les connaissances scientifiques sur l'espèce.

### 3. GÉNÉTIQUE DES GAZELLES

#### 3.1. LA CYTOGÉNÉTIQUE

La cytogénétique permet une analyse individuelle des chromosomes. L'identification de ces derniers est assurée par l'emploi de techniques diverses afin de produire des bandes dont les principales sont les bandes Q, G et R. Il s'agit d'une discipline récente dont le début date de 1956 avec la détermination du nombre exact de chromosomes chez l'homme  $2n=46$  (Tjio et Levan, 1956). Ce dénombrement a été rendu possible par l'introduction d'un choc hypotonique parmi les différentes étapes de préparation (Hsu, 1952). Ce traitement est décisif puisqu'il conduit à un gonflement cellulaire et permet d'obtenir un étalement des chromosomes. La découverte de la première anomalie chromosomique chez les bovins a eu un rôle considérable. Elle a montré, en effet, qu'il existe des anomalies chromosomiques chez les animaux de ferme et qu'elles ont un impact négatif sur l'élevage puisqu'elles sont souvent liées à des troubles de la reproduction (Gustavsson et Rockborn, 1964). L'introduction des techniques de marquage en bandes des chromosomes a grandement amélioré la résolution de l'analyse cytogénétique (Caspersson *et al.*, 1970). Ainsi, tous les chromosomes d'une cellule d'une espèce donnée peuvent être identifiés et classés selon leur taille, la position de leur centromère et leur motif de bandes spécifique pour constituer un caryotype qui est caractéristique de chaque espèce.

Les chromosomes sont constitués d'une molécule d'ADN associée à de nombreuses molécules comme les histones, les protéines basiques, les protéines non histone acides et de l'ARN. Ce complexe ADN-Protéines-ARN est appelé chromatine car il fixe les colorants. Les histones ont un rôle essentiel et elles interviennent dans la compaction de la molécule d'ADN. Cette dernière associée aux protéines et à l'ARN passe par différents degrés de condensation selon le stade du cycle cellulaire. C'est seulement au degré de compaction maximal, atteint durant la mitose, que les chromosomes sont visibles (Caspersson *et al.*, 1970).

Toutes les techniques cytogénétiques visent à obtenir un maximum de cellules bloquées à un stade favorable pour observer les chromosomes. Il est nécessaire d'avoir des cellules en phase de multiplication active, soit spontanément (cas des villosités choriales ou de certaines cellules tumorales) soit par une culture préalable (fibroblastes, tout type cellulaire capable de se diviser) parfois associée à une stimulation (lymphocytes sanguins). La durée la culture cellulaire est variable et dépend du type cellulaire et de la quantité du matériel biologique disponible au départ. L'accumulation des stades favorables se réalise par l'adjonction de la colchicine. Cette dernière inhibe la formation du fuseau achromatique, ce qui empêche la progression de la mitose vers l'anaphase. Les cellules sont ensuite mises en milieu hypotonique, afin de les faire gonfler, puis fixées et enfin étalées sur les lames. Quelques heures plus tard, les méthodes de marquage peuvent être utilisées (Caspersson *et al.*, 1970).

#### a- Techniques de marquages

- Marquage de l'hétérochromatine

Certaines régions des chromosomes restent condensées et se colorent fortement pendant l'interphase, il s'agit de l'hétérochromatine. C'est une région qui comporte peu ou pas de gènes actifs, elle est principalement constituée de séquences répétées et se réplique tardivement durant la phase de synthèse (S). L'hétérochromatine bien que variable, comporte des caractères suffisamment constants pour être définie. Elle est mise en évidence par les différentes techniques de marquage. La plus répandue est celle des bandes C qui colore les régions juxta-centromériques de tous les chromosomes (Summer, 1972). Ainsi, la coloration

des organisateurs nucléolaires (bras acrocentriques chez l'Homme) met en évidence l'hétérochromatine (Bloom et Goodpasture, 1976).

- Marquage de l'euchromatine

Le plus couramment utilisé est le Giemsa qui est une association de trois colorants qui donnent une coloration rose violacée de la chromatine en lumière visible. Lorsque l'on colore des préparations chromosomiques avec du Giemsa, les chromosomes prennent un aspect rose violacé à peu près homogène sur toute leur longueur. On ne peut donc les distinguer les uns des autres que par leur taille et leur morphologie. Cependant, ces critères sont insuffisants pour assurer la reconnaissance et la détection des anomalies chromosomiques. Pour reconnaître précisément chaque paire chromosomique, on utilise donc des techniques de marquage particulières qui permettent l'apparition des bandes. C'est la succession de bandes sombres et claires le long du chromosome qui en permet l'identification précise, selon le même principe qu'un code à barres.

L'euchromatine est révélée par les méthodes de marquages chromosomiques donnant des bandes appelées Q, G et R et correspondent à l'ADN transcrit.

La 1<sup>ère</sup> technique de bandes décrite est celle des bandes Q (Caspersson *et al.*, 1970). La moutarde de Quinacrine émet une fluorescence hétérogène lorsqu'elle est excitée par les rayons ultra-violets. C'est aussi le cas du 4',6-diamino-2-phényl-indole (DAPI) ou de l'Iodure de Propidium (Caspersson *et al.*, 1970).

Ces colorants fluorescents sont essentiellement employés en cytogénétique moléculaire (hybridation *in situ* de sondes d'ADN sur une préparation chromosomique) pour la localisation de gènes et de marqueurs moléculaires (Hayes *et al.*, 2003 ; Ladjali-Mohammedi *et al.*, 2001)

La technique des bandes R comme « reverse » fait intervenir un traitement thermique qui dénature les segments les plus sensibles (Dutrillaux et Lejeune, 1971). Le marquage obtenu peut être mis en évidence après une coloration au Giemsa, ou par l'acridine orange qui nécessite alors une observation à la lumière ultraviolette.

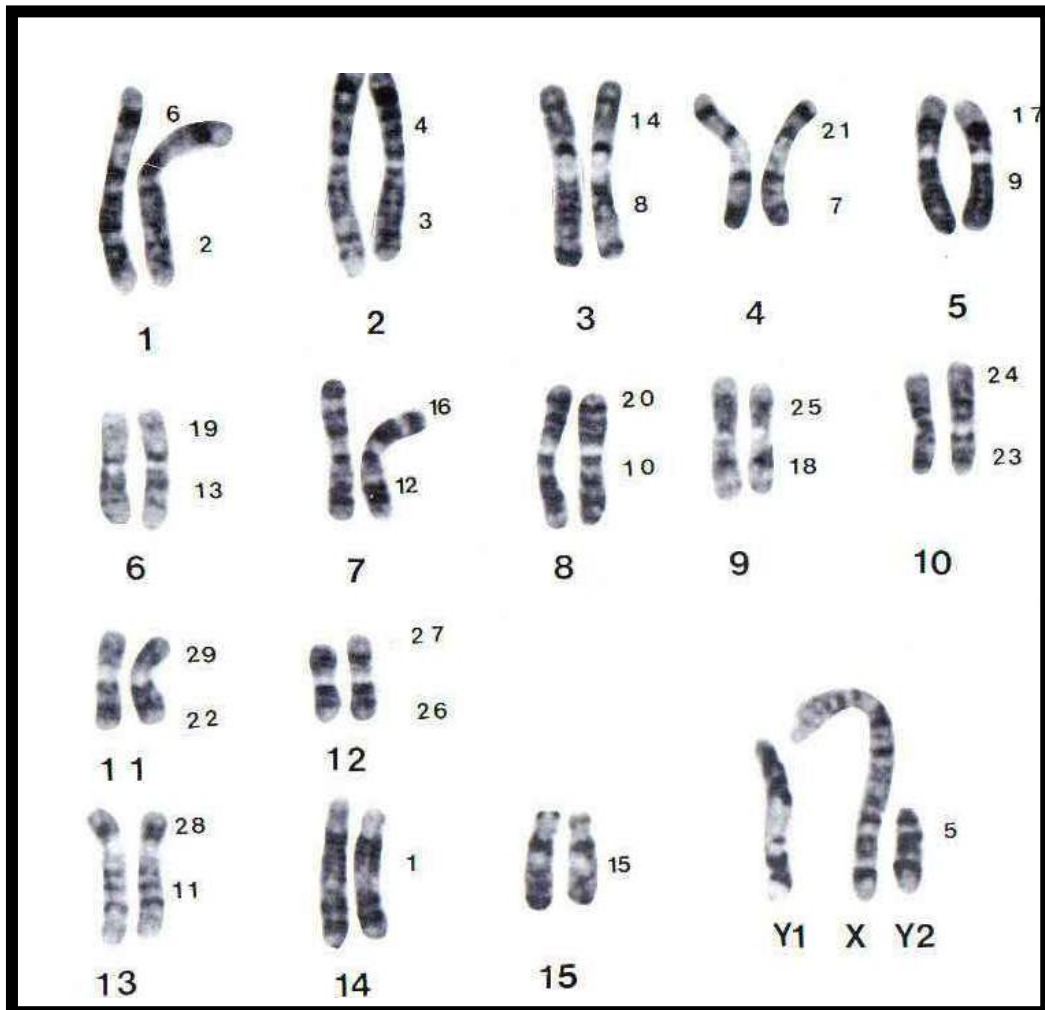
D'autres méthodes ont été décrites mettant en évidence les bandes G de « Giemsa ». Ces bandes sont obtenues après une digestion par des enzymes protéolytiques comme la trypsine (Dutrillaux *et al.*, 1971).

### **b- Les bandes chromosomiques**

L'euchromatine est donc la partie la plus intéressante pour l'identification des chromosomes. L'euchromatine de toutes les espèces étudiées se subdivise en deux fractions à peu près égales, les bandes G et les bandes R (Tableau III). Chaque fraction possède des propriétés biochimiques et fonctionnelles opposées (Holmquist *et al.*, 1982 ; Holmquist, 1989; Bickmore et Summer, 1989). En plus des bandes G, Q et R dites structurales, parce qu'elles dépendent uniquement de la nature intrinsèque du chromosome, on peut obtenir des bandes dynamiques R et G. La révélation de ce type de bandes nécessite l'incorporation du 5-bromo-2'-déoxyuridine (BrdU) dans l'ADN durant la phase S du cycle cellulaire. La substitution de la thymidine par le BrdU modifie les propriétés de coloration de la chromatine.

**Tableau III:** Techniques de marquage des chromosomes (Comings, 1978; Ladjali, 1994).

Marquages	Principe	Auteurs
<b>Bandes G</b> (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; Stock et <i>al.</i> , 1987; Carlenius et <i>al.</i> , 1981; Schmid et <i>al.</i> , 1989.
<b>Bandes R</b> (Reverse)	Coloration de l'euchromatine riche en GC (réplication précoce, forte densité en gènes) par dénaturation thermique.	Schweizer, 1976; Carlenius et <i>al.</i> , 1981; Schmid et <i>al.</i> , 1987; Ponce de leon et <i>al.</i> , 1992.
<b>Bandes Q</b>	Coloration de l'euchromatine riche en AT par la Quinacrine ou DAPI.	Bloom et Goodpasture, 1976; Fritschi et Stranzinger, 1985.
<b>Bandes C</b> (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; Carlenius et <i>al.</i> , 1981; Pollock et Fehheimer, 1981.
<b>Bandes NOR</b>	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 et <i>al.</i> , 1987.
<b>Bandes T</b>	Coloration des régions télomériques	Dutrillaux, 1973.



**Figure 8 :** Caryotype en bandes GTG de la gazelle leptocère *G. leptoceros* où les chromosomes n'ont pas été classés (Vassart *et al.*, 1995).

Les chromosomes métacentriques sont placés ensemble, et c'est pareil pour les chromosomes submetacentriques et acrocentriques. Les chiffres à droite des chromosomes indiquent la correspondance avec les chromosomes du caryotype standard du bœuf domestique (*Bos taurus*) (Di Bernardino *et al.*, 1989). Par exemple, le bras long du chromosome 1 est l'homologue du chromosome 2 du bœuf.

Le dessin des bandes Q ou G est l'opposé des bandes R. (Bandes Q<sup>+</sup> fluorescentes = G<sup>+</sup> foncées = R<sup>-</sup> pâles/ Q<sup>-</sup> sombres = G<sup>-</sup> pâles = R<sup>+</sup> foncées). Par convention les bandes Q, G et R désignent des bandes positives. Dans tous les cas on obtient une succession de bandes dont les motifs sont superposables, là où l'on obtient une bande sombre avec l'une des techniques, on observe une bande claire avec l'autre.

L'euchromatine se répartit en deux fractions, l'une se répliquant durant la première moitié de la phase S (réplication précoce) et l'autre se réplique durant la deuxième moitié de la phase S (réplication tardive). Après un traitement particulier les deux types de marquage G et R peuvent être mis en évidence selon le moment où l'incorporation du BrdU s'est produite (Dutrillaux, 1975). Chaque bande correspond à un segment dont la réplication est initiée et terminée de manière synchrone et à un moment différent selon le type de bande G ou R (Holmquist, 1989).

L'emploi des bandes a permis de décrire de nombreux polymorphismes et sites fragiles (sensibles aux mutations) transmis de façon héréditaire (Yunis et Prakash, 1982). Les techniques de bandes aident à connaître la composition des segments chromosomiques (euchromatine, hétérochromatine), et donnent une idée de l'activité des gènes (réplication précoce ou tardive). Elles permettent aussi de réaliser une analyse plus fine des remaniements chromosomiques comme les délétions, les inversions et les translocations.

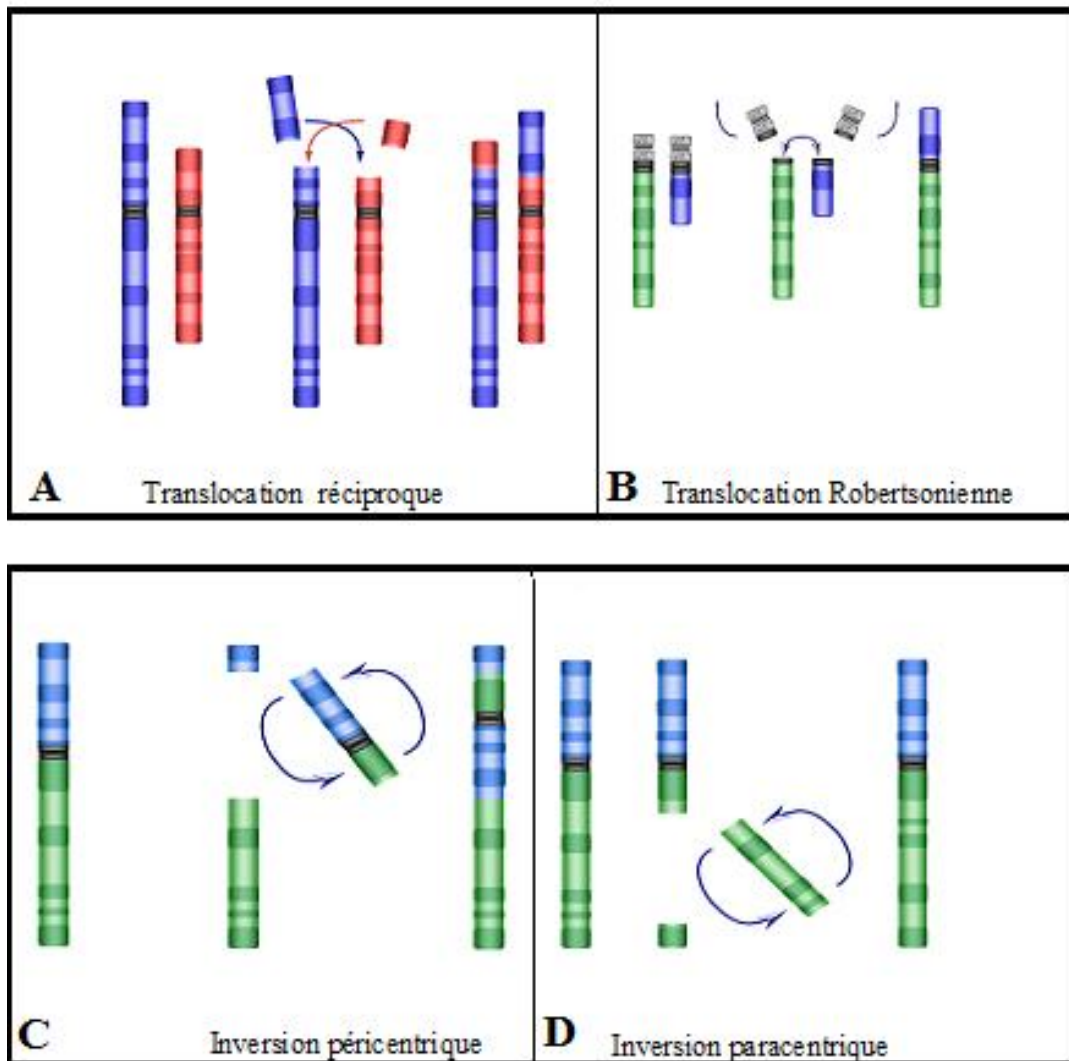
### 3.2. ANALYSE DU CARYOTYPE ET POLYMORPHISME

#### a- Caryotype de la gazelle leptocère

Les chromosomes de la gazelle *G. leptoceros* ont été décrits pour la première fois en 1976 (Efron *et al.*, 1976). Le caryotype en bandes GTG a été réalisé à partir de cultures de lymphocytes et de fibroblastes prélevés sur des individus du Parc Zoologique de San Diego. Le caryotype de la gazelle leptocère est constitué de 16 paires d'autosomes. La formule gonosomique est de type XY. Chez le mâle on retrouve 33 chromosomes et 32 chez la femelle (Figure 8). Le caryotype du mâle est composé d'un chromosome sexuel X qui est métacentrique, d'un chromosome sexuel acrocentrique Y1 et d'un autosome acrocentrique Y2. Ce chromosome est issu de remaniements inter-chromosomiques de types translocations. Les techniques de marquage en bandes C révèlent de manière sélective l'hétérochromatine constitutive. Il s'agit de fraction de chromatine qui ne se décondense pas durant l'interphase. Le caryotype en bande C de la gazelle leptocère montre qu'il y a très peu d'hétérochromatine au niveau des centromères des chromosomes métacentriques, alors que le bras court du chromosome X est riche en hétérochromatine (Efron *et al.*, 1976).

Une étude plus récente a été consacrée à l'établissement du caryotype de différentes gazelles (Vassart *et al.*, 1995). Aucune description précise des chromosomes de la gazelle leptocère n'a été réalisée à ce jour. Les caryotypes ont été établis dans le cadre d'une étude phylogénétique afin de reconstituer l'histoire évolutive du groupe des gazelles (Vassart *et al.*, 1995). Les chromosomes ont été classés en fonction de leur homologie avec le caryotype standard du bœuf (Di Bernardino *et al.*, 1989). Par exemple, la partie distale du bras q du chromosome X de *G. leptoceros* est homologue au chromosome 5 du bœuf.

Il n'existe pas de consensus International (standard) pour classer les chromosomes des espèces de gazelles sauvages. Alors, la numérotation diffère d'un travail à un autre.



**Figure 9 : Schémas des différents types de remaniements chromosomiques les plus fréquents.** Les remaniements inter-chromosomiques les plus fréquents sont les translocations. Elles sont réciproques lorsqu'elles aboutissent à un échange entre les segments (A). Elles sont Robertsoniennes lorsqu'elles conduisent à la fusion de 2 chromosomes acrocentriques (B). Les remaniements intra-chromosomiques les plus fréquents sont les inversions. Elles sont péricentriques lorsqu'elles résultent de cassures situées de part et d'autres du centromère (C). Elles sont paracentriques lorsqu'elles ne touchent qu'un seul bras (D).

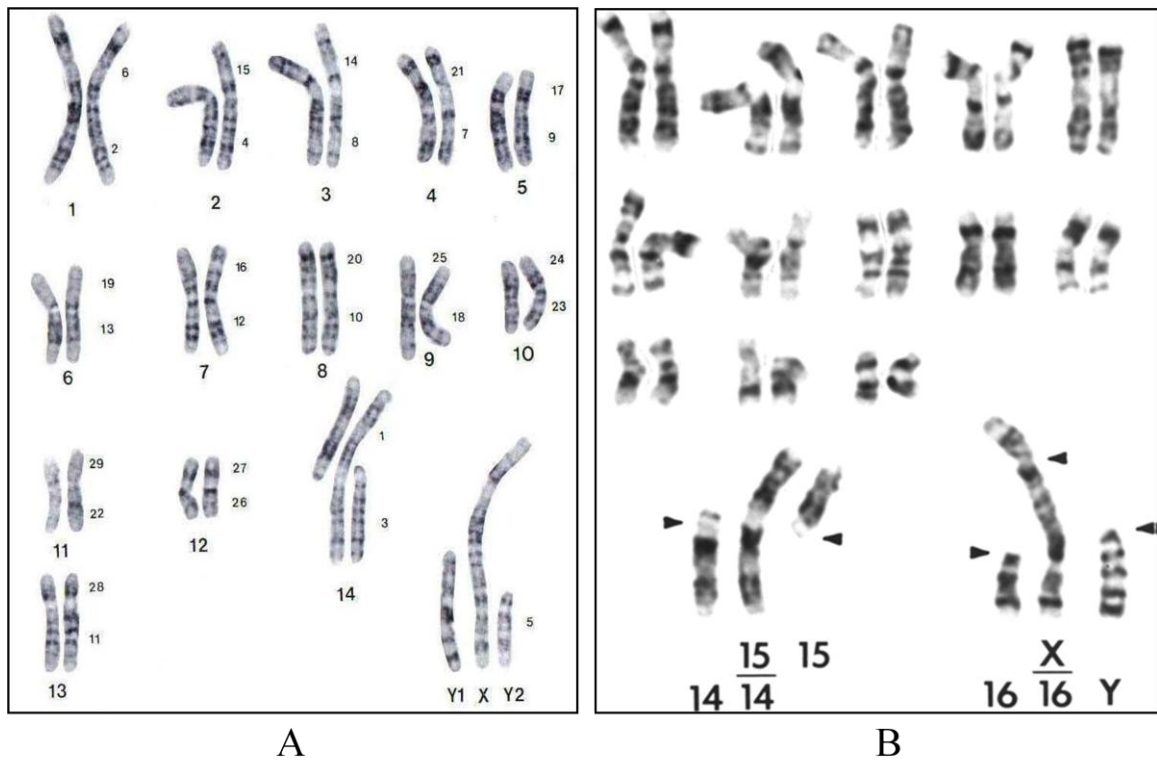
## **b- Étude du polymorphisme génétique et intérêt pour la préservation**

Dans les populations naturelles, certains remaniements chromosomiques se maintiennent à des fréquences élevées et, par conséquent, peuvent être considérés comme des polymorphismes. C'est le cas des fusions centriques chez les gazelles ou les inversions paracentriques chez *Drosophila melanogaster*, les passereaux et les pigeons (Popescu, 1989). Chez les animaux d'élevage certaines translocations (Robertsoniennes impliquant les chromosomes 1 et 29 (1/29) chez les bovins, translocations Massey 5/26, 8/11 et 7/25) dans des races ovines peuvent être considérées comme un polymorphisme chromosomique (Figure 9).

Des caractéristiques génétiques d'individus de populations captives dont l'origine était incertaine ont été étudiées dans le cadre d'un projet de réintroduction de la gazelle des Sables *G. subgutturosa*, en Arabie Saoudite (Vassart *et al.*, 1991). Le but de tout programme de réintroduction est de réintroduire l'espèce ou la sous-espèce la plus proche de celle initialement présente. Il s'agissait de vérifier l'appartenance des animaux de la ferme du Roi Khaled à la sous-espèce *G. subgutturosa marica*. Les premières analyses cytogénétiques ont révélées un polymorphisme de type Robertsonien résultant de la fusion des deux dernières paires de chromosomes acrocentriques. Ceci combiné à la translocation X autosome, commune chez les gazelles, donnait 6 caryotypes différents chez ces animaux avec des nombres de chromosomes variant de 31 à 33 pour les mâles et de 30 à 32 pour les femelles. Or les gazelles des Sables de Perse de la sous-espèce *G. s. subgutturosa* étaient décrites avec 31 et 30 chromosomes (Shi, 1987). Les animaux de la ferme pouvaient donc être des hybrides entre ces 2 sous-espèces et donc ne pas correspondre exactement à la sous-espèce anciennement présente en Arabie Saoudite. Un tel polymorphisme chromosomique avait également été décrit chez des gazelles des Sables originaire de Jordanie (Kingswood et Kumamoto, 1988). La question qui peut être posée est : est ce que ce polymorphisme existait dans la nature ? Un caryotype a été réalisé sur des animaux capturés, ils étaient également porteurs de la translocation. Il s'agissait alors d'un polymorphisme naturel et les animaux ont été réintroduits dans la réserve.

## **c- Polymorphismes et Spéciation : Effet des translocations sur la fertilité**

Chez les gazelles, l'hétérozygotie chromosomique résultant de simples ou de multiples réarrangements pourrait jouer un rôle important dans la spéciation, c'est-à-dire dans la formation des espèces, car elle contribuerait à la création d'une barrière de reproduction entre les populations (Mayr, 1963). Si une espèce se subdivise en 2 espèces géographiques. Alors chacune de ces espèces sera caractérisée par une série de réarrangements chromosomiques. Les hybrides entre ces deux formes géographiques présenteront une diminution de la fertilité (Mayr, 1970). De nombreux exemples de spéciation chromosomique sont en relation avec une baisse de la fertilité à cause d'une production de gamètes déséquilibrées chez l'hétérozygote (Sites et Mortiz, 1987). Différentes études ont démontré que les réarrangements chromosomiques réduisent la fertilité des individus hétérozygotes (Dyrendahl et Gustavsson, 1979; Forejt *et al.*, 1981; Gabriel-Robez *et al.*, 1986; Setterfield *et al.*, 1988). Cependant cet effet négatif varie entre les individus appartenant à des espèces différentes ou à la même espèce (Long, 1988). Cet effet est atténué si les phénomènes de recombinaison n'engendrent pas des problèmes éventuels au cours de la méiose, ou si les gamètes déséquilibrées sont éliminées (Reed *et al.*, 1992). L'étude de la méiose est donc nécessaire pour déterminer l'influence des réarrangements chromosomiques sur la reproduction et, par conséquent, leur rôle dans la spéciation.



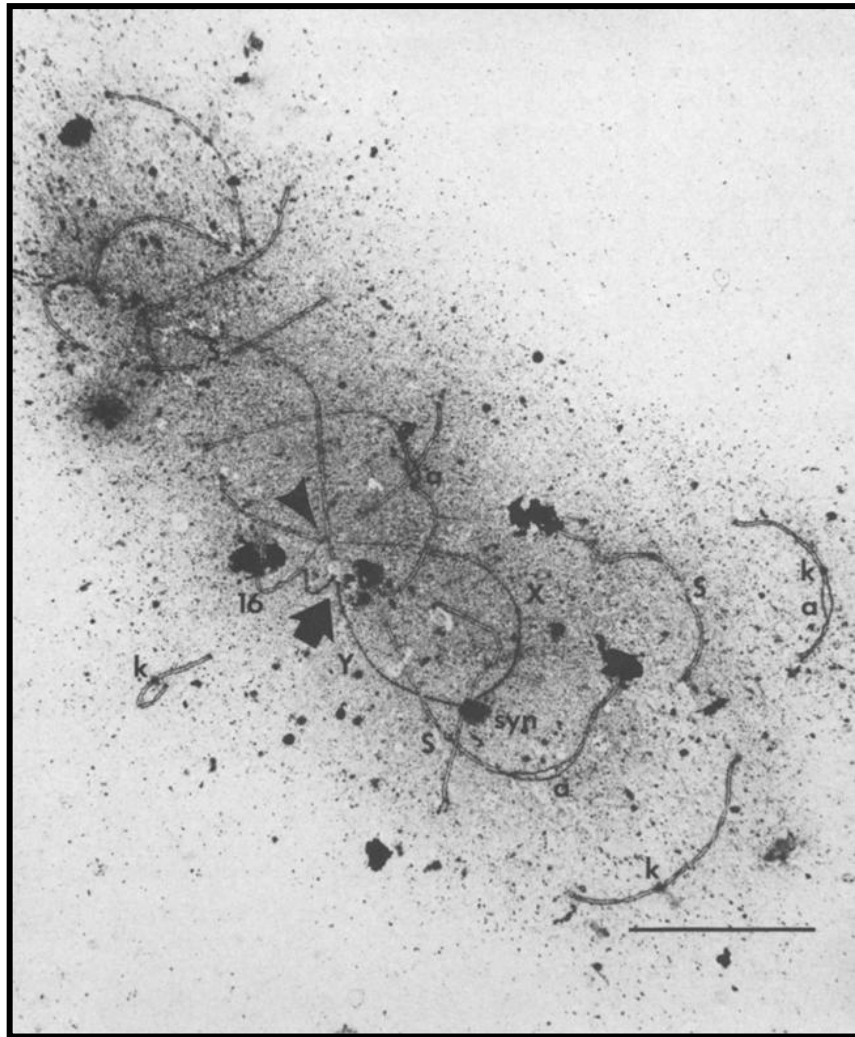
**Figure 10 :** (A) Caryotype de la gazelle *G. subgutturosa* mâle  $2n=32$  (Vassart *et al.*, 1995). Ce caryotype d'un individu normal comporte 27 autosomes métacentriques, 3 chromosomes acrocentriques, et 2 gonosomes X et Y. Le chromosome Y2 est un autosome. Le chromosome acrocentrique Y1 est un chromosome sexuel. (B) Caryotype en bande GTG de la gazelle *G. subgutturosa*  $2n=32$  (Kingswood et Kumamoto, 1988). L'individu est hétérozygote pour la translocation Robertsonienne 14/15 et la translocation d'un autosome sur le chromosome sexuel X. les chromosomes acrocentriques 14 et 15 sont superposés à leur homologue qui est métacentrique pour montrer l'homologie du profil de bandes entre les bras chromosomiques. Les flèches indiquent la position du centromère.

Chez la gazelle *G. subgutturosa*, le nombre de chromosomes est de  $2n = 30$  à  $32$  chez les femelles et de  $2n = 31$  à  $33$  chez les mâles (Wurster, 1972; Effron *et al.*, 1976; Benirschke et Kumamoto, 1987; Kingswood et Kumamoto, 1988; Vassart *et al.*, 1993) (Figure 10). Le nombre diploïde de chromosomes diffère entre les 2 sexes à cause d'une translocation du chromosome 16 sur le chromosome X par rapport à un caryotype considéré comme ancestral (bovin). La translocation Robertsonienne impliquant les deux dernières paires de chromosomes acrocentriques 14 et 15 est à l'origine de la variation du nombre de chromosomes au sein des individus du même sexe. Chez *G. s. subgutturosa*, cette translocation est fixée. Cette fusion est polymorphe chez *G. s. marica* (Kingswood et Kumamoto, 1988). Ces gazelles constituent un modèle d'étude de la division méiotique (individus hétérozygotes et individus homozygotes) pour la translocation Robertsonienne.

#### **d- Étude de la Méiose chez la gazelle *G. subgutturosa***

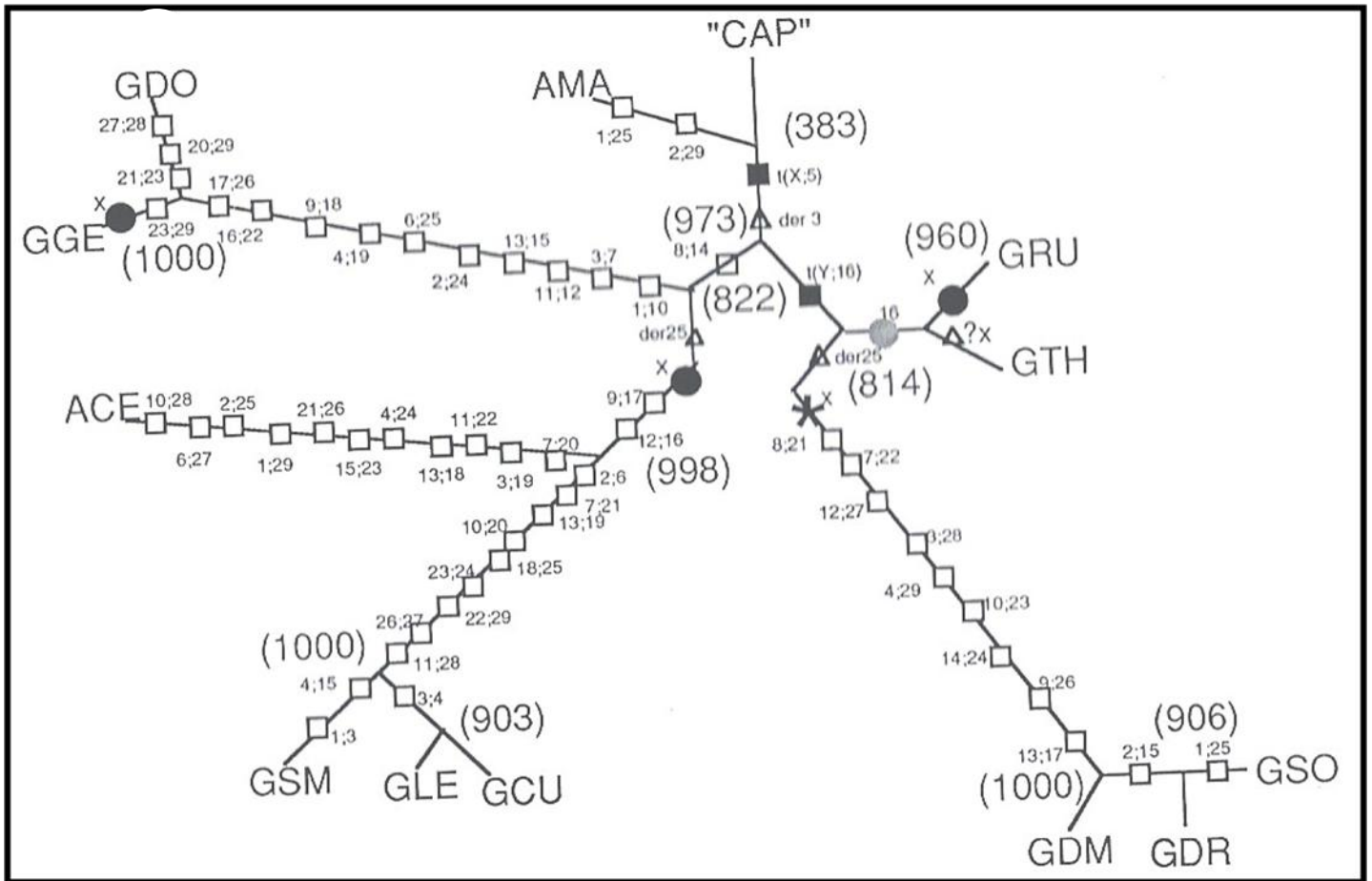
L'étude de la méiose chez les gazelles est intéressante par la présence de translocations entre les chromosomes sexuels et les autosomes ainsi que par l'existence d'un polymorphisme Robertsonien chez de nombreuses espèces. En effet, les mâles possèdent un chromosome Y2 qui est acrocentrique, issu de cette translocation. Ce chromosome Y2 est un autosome et le chromosome Y1 est le chromosome sexuel (Figure 10). Une analyse des individus hétérozygotes pour la translocation Robertsonienne impliquant les deux dernières paires de chromosomes acrocentriques a été réalisée (Kingswood *et al.*, 1994). Comme toutes les gazelles, ces individus sont porteurs d'une translocation de l'autosome 5 sur le chromosome sexuel X. Aucune de ces deux translocations ne perturbe le bon déroulement de la méiose (Figure 11). Ceci pourrait être dû à des associations entre les portions non appariées du trivalent formé par l'autosome, le chromosome X et le chromosome Y plutôt qu'entre celles-ci et le trivalent Robertsonien. La translocation du chromosome 5 sur le X chez les gazelles pourrait ainsi favoriser les translocations Robertsoniennes à l'état hétérozygote. En effet, dans l'espèce humaine, ces translocations ont plus d'effets négatifs sur la gamétogenèse du mâle que sur celle de la femelle. Cela est dû aux associations entre les portions non appariées du trivalent Robertsonien et le bivalent sexuel. L'autre explication serait que plus les bras courts des chromosomes acrocentriques du trivalent Robertsonien sont petits, mieux ils s'apparient entre eux (appariement hétérologue) et donc moins ils s'apparient avec le chromosome X, et moins ils affectent la fertilité. C'est pourquoi chez la souris (bras courts petits), il y a moins d'effet sur la fertilité contrairement à l'homme (bras courts grands) où l'atteinte de la fertilité est importante (de Boer et de Jong, 1989).

La fixation d'une fusion centrique dans une population naturelle engendre peu de problèmes à la méiose. Par contre une forte barrière reproductrice isole deux populations ayant fixées des fusions centriques homologues pour un seul bras. A la méiose de l'hybride entre ces deux formes, les chromosomes des multivalents complexes qui se forment ne peuvent ségréger, et entraîne la formation de gamètes déséquilibrées. Cela entraîne la stérilité des hybrides ainsi formés (Baker et Bickham, 1986). Cette étude a été réalisée sur des individus hétérozygotes pour la translocation Robertsonienne entre les deux dernières paires de chromosomes acrocentriques (Kingswood *et al.*, 1994).



**Figure 11 : Micrographie d'un noyau méiotique issu d'une gazelle subgutturosa mâle homozygote pour la translocation 14/15.**

On observe 14 bivalents (paire de chromosomes homologues, tels qu'ils sont observés en métaphase de la première division méiotique) d'autosomes, et un trivalent comportant un autosome, le chromosome X et le chromosome Y. Les flèches indiquent l'association de la portion terminale du chromosome 16 non appariée avec le chromosome Y. Peu avant le début du stade pachytène, les chromosomes homologues s'accrochent l'un à l'autre et forment un complexe synaptonémal (complexe protéique permettant l'association des chromosomes homologues entre eux lors de la prophase de la première division méiotique). Ce complexe est à l'origine des chiasmas et est nécessaire à la survenue d'un crossing over et de la recombinaison qui en résulte (Watson *et al.*, 1987). Des chiasmas sont observés dans la plupart des bivalents et des trivalents et sont restreints à la partie autosomique des trivalents autosome-X-Y. L'analyse des métaphases II (spermatocytes secondaires) n'a révélé aucune non disjonction chez les individus homozygotes ou hétérozygotes pour la translocation Robertsonienne.



**Figure 12 : Arbre phylogénétique basé sur des données chromosomiques des Gazelles (Vassart *et al.*, 1995).** GMD : *Gazella dama mhorh*, GDR : *Gazella dama ruficollis*, GSO : *Gazella soemmerrigi*, GCU : *Gazella cuvieri*, GLE : *Gazella leptoceros*, GGE : *Gazella gazella erlangeri*, GSM : *Gazella subgutturosa marica*, 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 nœud). 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 marica* qui possède la translocation par fusion centrique des chromosomes 1 et 3.

### 3.3. ANALYSE GÉNÉTIQUE COMPARÉE

#### a- Évolution chromosomique des gazelles

L'évolution chromosomique chez les bovidés est due essentiellement à des translocations Robertsoniennes avec très peu de remaniements intra-chromosomiques (Gallagher et Womack, 1992; Gallagher *et al.*, 1994, 1998).

Après la comparaison des caryotypes en bandes GTG de différentes espèces et sous espèces (*Antidorcas marsupialis*, *Antilope cervicapra*, *G. dorcas*, *G. gazella*, *G. subgutturosa*, *G. leptoceros*, *G. cuvieri*, *G. dama mhorr*, *G. dama rufficolis*, *G. soemmeringi*, *G. rufifrons* et *G. thomsoni*) (Vassart *et al.*, 1995), il semble que les chromosomes 9 et 14 chez les antilopinés soient identiques à ceux de la chèvre, et différents de ceux de la vache (Buckland et Evans, 1978). Pour construire l'arbre phylogénétique chromosomique des gazelles, 3 espèces groupes externes ont été choisies (*Capra hircus*, *Antidorcas marsupialis* et *Antilope cervicapra*). Il était reconnu que le caryotype de la vache ou de la chèvre devait être similaire à celui du caryotype ancestral des Bovidés (Wurster et Benirschke, 1968). Cette déduction résultait du principe « commun égal ancestral » c'est-à-dire qu'un caryotype très fréquent dans un groupe devait être proche du caryotype ancestral de ce groupe. Cependant il semble qu'il existe d'autres réarrangements chromosomiques qui sont importants chez les gazelles. Par exemple, les translocations autosome-gonosome sont très rares chez les mammifères sauf chez les Antilopinae. Les translocations chromosomes sexuels / autosomes sont déterminantes pour ces regroupements. Toutes les gazelles, y compris l'Antilope, ont une translocation du chromosome 5 sur le chromosome X. La translocation du chromosome 16 sur le chromosome Y permet de séparer trois différents groupes d'espèces. D'une part, les espèces *G. dorcas*, *G. gazella*, *G. subgutturosa*, *G. leptoceros*, *G. cuvieri* qui ne comportent pas la translocation du chromosome 16 sur le chromosome Y. D'autre part, *G. rufifrons* et *G. thomsoni* qui comportent cette translocation 16/Y avec une addition de l'hétérochromatine sur le chromosome 16. À ce dernier groupe sont ajoutés les grandes gazelles du sous-genre *Nanger* (*G. dama mhorr*, *G. dama rufficolis*, *G. soemmeringi*) qui ont la translocation 16/Y sans addition d'hétérochromatine sur le chromosome 16. Les gazelles *G. rufifrons* et *G. thomsoni* apparaissent très similaires, sans contenir d'autosomes métacentriques ( $2n=58$ ) mais avec des chromosomes X légèrement différents. Les gazelles *G. dorcas*, *G. gazella*, *G. subgutturosa*, *G. leptoceros*, *G. cuvieri* ont un chromosome X très similaire au chromosome X ancestral de la chèvre. Chez la gazelle *G. dorcas*, le chromosome X est acrocentrique, alors que chez les autres espèces le chromosome X est métacentrique avec un bras court hétérochromatique.

Le chromosome 3 chez toutes les espèces de gazelles apparaît remanié par rapport au chromosome 3 ancestral de la chèvre ou du springbok.

Les comparaisons des caryotypes des différentes espèces de gazelles montrent que les principaux remaniements chromosomiques entre les espèces sont de type fusion centrique. Le caryotype ancestral, proche de celui de la chèvre, ne comprend que des autosomes acrocentriques. Ces fusions centriques sont des amorphies (caractères dérivés), et les synamorphies (caractères dérivés partagés) permettent de regrouper les espèces.

Toutes ces données permettent de proposer un arbre phylogénétique qui est en accord avec la systématique traditionnelle avec les différentes synamorphies pour regrouper les espèces entre elles (Figure 12). La reconstitution d'un caryotype ancestral est basée sur le principe de parcimonie. Si 2 espèces possèdent un même chromosome, il est plus probable que celui-ci ait été transmis tel quel, à l'une et à l'autre espèce, par un ancêtre commun, plutôt qu'il ait subi indépendamment 2 fois le même remaniement à partir d'un chromosome ancestral (Dutrillaux et Couturier, 1981).

#### b- Cartographie génique

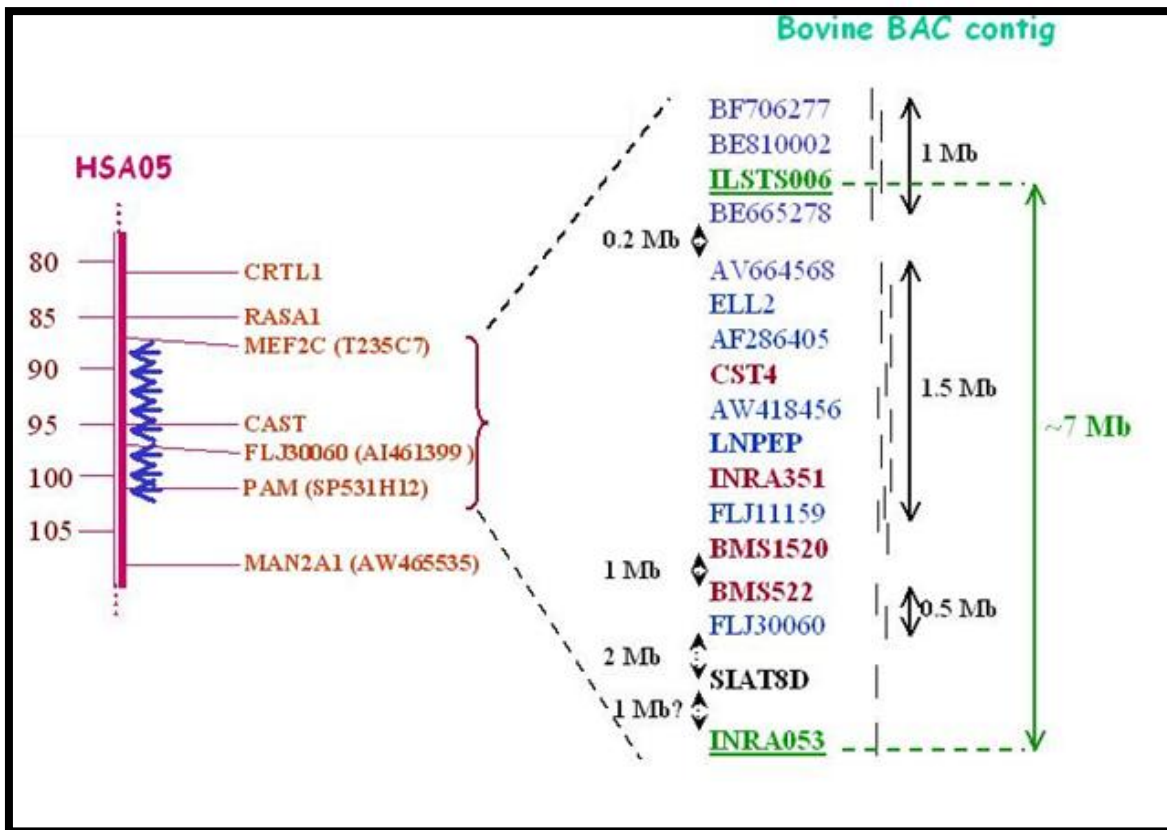
Actuellement, il n'existe pas de données génomiques sur les gazelles, cependant de nombreuses études ont été réalisées sur des espèces proches comme les caprins et les bovins.

- Cartographie comparée

La cartographie comparée entre les espèces dont les génomes ont été séquencés (Homme, souris et rat) et les espèces aux génomes non séquencés, à ce jour, est essentielle pour la recherche de gènes impliqués dans le déterminisme de certains caractères. L'exemple du génome bovin illustre les progrès accomplis en moins de 10 ans. En 1995, la carte bovine contenait 314 gènes localisés et la comparaison des génomes humains et bovins se faisait d'une manière très globale à partir des résultats de la peinture chromosomique hétérologue. La peinture chromosomique consiste à hybrider une sonde issue d'un bras chromosomique ou d'un chromosome entier d'une espèce sur les métaphases d'une autre espèce. Ainsi, 53 segments chromosomiques conservés entre les génomes humains et bovins ont été détectés. En 2003, la carte bovine s'est considérablement enrichie avec plus de 2500 gènes localisés grâce à l'intégration des données de FISH (fluorescent *in situ* hybridization) et de panels d'hybrides somatiques et d'irradiation. Une carte comparée fine avec les génomes de l'Homme, de la Souris, du Rat et du Porc a été construite (Hayes *et al.*, 2003).

La comparaison inter-espèces a mis en évidence l'existence de segments chromosomiques conservés entre les génomes. Le nombre, la distribution et la taille de ces segments conservés ont été déterminés par la cartographie comparée de gènes ou de séquences EST ((Expressed Sequence Tag) Fragment de séquence d'un gène, sous forme d'ADNc, permettant éventuellement de l'identifier par comparaison avec des séquences déjà connues). Cette comparaison peut être utilisée au niveau du génome entier (cartes globales comparées entre l'Homme, la chèvre, le porc, le bœuf, le buffle et le cheval), soit à un niveau beaucoup plus fin (cartes fines de chromosomes ou de régions chromosomiques particulières entre l'Homme et le bœuf, le mouton et la chèvre). La localisation des gènes ou des marqueurs moléculaires par la FISH sur les chromosomes caprins (Schibler *et al.*, 1998), a précisé les bordures des groupes de synténie (groupe de liaison conservé entre deux espèces) définis précédemment par la peinture chromosomique hétérologue Homme/Bovin. Deux nouveaux groupes ont été mis en évidence, portant ainsi le nombre de groupes de synténie à 54. De plus, compte tenu de l'ordre des marqueurs à l'intérieur des groupes de synténie, 107 segments conservés (taille moyenne 27 cM) ont été détectés entre l'Homme et la Chèvre. Sur les 103 sites de remaniements détectés, 65 coïncident avec des sites de remaniements chromosomiques associés aux néoplasies chez l'Homme (Schibler *et al.*, 1998).

La collection de BAC ((Bacterial artificial chromosome) clone bactérien contenant un grand fragment d'ADN exogène, d'une longueur de l'ordre de 100 à 200kb, l'ADN exogène est l'ADN génomique de l'espèce d'intérêt, partiellement digéré par des enzymes de restriction) caprins a ensuite été localisée sur les chromosomes bovins (Hayes *et al.*, 2003), ovins, de buffle (Di Meo *et al.*, 2000; Iannuzzi *et al.*, 2001; Di Meo *et al.*, 2008; Strazullo *et al.*, 2010) et porcins (Pinton *et al.*, 2000). La conservation entre les génomes humains, bovins, caprins et porcins est considérable avec une taille moyenne des segments autosomiques conservés estimée à 19 cM. La localisation sur les chromosomes des BAC caprins sur les autosomes de trois autres ruminants (mouton, bœuf et buffle) a également montré que l'organisation des génomes de ces quatre espèces est très semblable. Le mouton et le buffle ne diffèrent du bœuf et de la chèvre que par respectivement la présence de 3 et 5 fusions centriques. Les Bovinés ne diffèrent des Caprinés que par une translocation réciproque 9/14.



**Figure 13:** Carte physique comparée de la région du chromosome 7 bovin contenant le QTL de fertilité avec la région homologue du chromosome 5 humain (HSA5) (Schibler *et al.*, 2004).

Les BAC (Bacterial Artificial Chromosomes) sont des segments d'ADN de 100 000 à 200 000 bases, introduits et multipliés dans des bactéries. Des collections de BAC ont été constituées au début des années 2000, comportant plusieurs centaines de milliers de clones. Une carte physique résulte de l'alignement des BAC les uns par rapport aux autres de façon à recouvrir tout le génome. Cette opération est réalisée en analysant le contenu des BAC en leur assignant des marqueurs connus et en séquençant leurs extrémités.

En revanche, la comparaison entre les chromosomes X de l'Homme, de la chèvre, du mouton, du buffle et du bœuf (Piumi *et al.*, 1998; Iannuzzi *et al.*, 2000) a mis en évidence un remodelage important au sein de ces espèces. Indépendamment de leur morphologie, il apparaît clairement que l'ordre des gènes est conservé entre le bœuf et le buffle et entre le mouton et la chèvre. La comparaison entre les 2 types de chromosomes X démontre qu'au moins 5 segments chromosomiques sont conservés, impliquant au minimum 2 remaniements. La comparaison avec l'Homme indique de nombreux remaniements, se traduisant par la présence de 9 segments conservés au minimum. Il apparaît donc à la lumière de ces observations que si la région X-spécifique est très conservée chez les mammifères (conservation de la synténie), les remaniements intra-chromosomiques semblent être en revanche plus nombreux que pour les autosomes (Gautier *et al.*, 2001, 2002, 2003; Chureau *et al.*, 2002).

- Identification des gènes intervenant sur la variabilité des caractères d'élevage et de production

Les cartes génétiques des espèces d'élevage ont été construites dans la perspective de la recherche de gènes et de marqueurs moléculaires responsables de la variabilité des caractères quantitatifs QTL ((Quantitative Trait Loci) zone chromosomique contenant un ou plusieurs gènes ayant un effet sur un caractère et identifiée par sa co-ségrégation avec un ou plusieurs marqueurs génétiques) c'est à dire de la variabilité qui peut être manipulée par les sélectionneurs. Ne disposant pas, comme dans le secteur végétal, de lignées fixées, leur mise en évidence reposera sur l'élaboration de protocoles générant artificiellement des situations de déséquilibre de liaison entre les marqueurs et les QTL. De nombreuses simulations et estimations ont démontré que l'approche intrafamiliale (analyse de ségrégation) semble la mieux appropriée. Ces travaux nécessiteront des effectifs importants et supposent, bien sûr, que les allèles du QTL soient encore en ségrégation dans les familles analysées.

Les banques de grands fragments, en particulier de BAC, ont permis de construire des contigs (séquence génomique continue et ordonnée générée par l'assemblage des clones d'une librairie génomique, sous forme de plasmides, cosmides, BAC ou YAC, qui se chevauchent) de régions d'intérêt agronomique par la marche sur le chromosome, telles que les régions des caséines, du locus Polled Intersex Syndrome (PIS) chez la chèvre (Vaiman *et al.*, 1999) et du groupe sanguin C chez les Bovins (Saunier *et al.*, 2001; Mahé *et al.*, 2003).

Chez l'Homme, il a été montré que la construction d'une carte physique globale par alignement de YAC (Yeast artificial chromosome) puis de BAC était plus efficace. En raison des investissements matériels nécessaires à ce type d'approche et compte tenu de l'importance économique des Bovins et des Porcins, ce sont les banques de BAC bovines et porcines qui sont utilisées pour établir une première carte physique globale de ces génomes (Saunier *et al.*, 2001).

Afin d'identifier les clones chevauchants pour établir la carte physique bovine, une double digestion des clones avec des marquages en fluorescence et une analyse des profils (séquenceur) a été effectuée. Plus de 101 000 clones ont été intégrés à la carte physique bovine (Schibler *et al.*, 2004). La carte physique produite est actuellement utilisée pour poursuivre les travaux de cartographie fine de gènes d'intérêts (gène *sans corne*, gène responsable de la syndactylie et plusieurs régions contenant des QTL (BTA7, BTA15 et BTA26)). Ces contigs ancrent de façon précise la région d'intérêt sur le génome humain permettant l'inventaire de gènes candidats (certaines pathologies) et l'obtention de nouveaux microsatellites et de SNP (Single Nucleotid Polymorphism) (figure 13).

*MATÉRIEL ET  
MÉTHODES*

## OBJECTIF DU TRAVAIL

La gazelle leptocère *G. leptoceros* est une espèce Sahélo-Saharienne menacée de disparition. Elle figure comme étant en danger dans la liste rouge établie par l'Union International pour la Conservation de la Nature (UICN, 2007). La gazelle *G. leptoceros loderi* est la sous espèce présente en Algérie.

A ce jour, aucune étude génétique n'a été réalisée sur la Gazelle leptocère en Algérie. Le but de ce travail est d'entamer la description du génome de la gazelle *G. leptoceros loderi* par l'établissement de son caryotype, pour la première fois. Une comparaison avec le caryotype de la gazelle, qui a déjà été établi par Vassart, et dont l'origine géographique demeure inconnue, sera ainsi réalisée.

Pour atteindre cet objectif, des cultures de lymphocytes ont été effectuées. Les cellules ont été synchronisées avec de la thymidine en excès. Ensuite, des marquages chromosomiques ont été réalisés en bandes structurales GTG.

Une description précise des chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi* est réalisée pour la première fois selon le standard établi chez le bœuf. Puisque aucun caryotype standard n'a été effectué à ce jour chez les gazelles. Ainsi, des homologues entre le caryotype de la gazelle leptocère et le caryotype standard des bovins sont détectés dans cette étude.

## II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Dans cette étude, nous avons proposé d'établir le caryotype de la gazelle leptocère *gazella leptoceros loderi* qui est une espèce menacée de disparition. Ce travail a été effectué au Laboratoire de Génétique du Développement qui est fonctionnel depuis Avril 2008.

Les techniques qui ont pour but l'établissement d'un caryotype et la mise en évidence d'éventuelles anomalies de nombre ou de structure nécessitent une analyse soignée de chaque chromosome. Le protocole expérimental appliqué à la gazelle leptocère a été adapté à partir de celui de l'Homme (Dutrillaux et Coururier, 1981).

Nous allons commencer par décrire les étapes de la culture cellulaire provenant d'un matériel biologique prélevé du centre cynégétique de Zéralda, suivies par une partie abordant les techniques cytogénétiques appliquées aux chromosomes de la gazelle leptocère.

### 1. MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Le prélèvement devait s'effectuer sur un jeune mâle originaire de la région de Laghouat, appartenant au Parc Zoologique de Ben Aknoun. Cet animal est décédé 2 jours avant les prélèvements et les raisons de son décès sont inconnues. Les vétérinaires n'ont gardé que la tête de l'animal, nous l'avons ramené au laboratoire afin d'effectuer des prélèvements du tissu musculaire en vue de l'extraction d'ADN. Grâce à la collaboration avec le D<sup>f</sup> Belhamra du Centre Cynégétique de Zéralda, nous avons donc disposé d'une gazelle leptocère âgée de 4 ans vivant en captivité dans un petit enclos dans ce Centre (Figure 14). Son origine géographique est inconnue car cet individu a été installé au Centre Cynégétique de Zéralda après une saisie effectuée par les agents de la Gendarmerie Nationale.

Un seul animal a été prélevé pour cette étude à cause de l'extrême rareté de cette espèce. Donc, seule la culture de lymphocytes a été effectuée pour l'étude des chromosomes de la gazelle leptocère loderi. L'anesthésie pouvant avoir des conséquences fatales pour l'animal, il nous a été impossible d'effectuer des biopsies pour la mise en culture des fibroblastes. Nous avons quand même souhaité détailler les deux techniques de culture (fibroblastes et lymphocytes) afin de donner toutes les possibilités de mise en culture des cellules de cette espèce.

### 2. MISE EN CULTURE DES FIBROBLASTES

- **Principe**

Les cultures cellulaires primaires peuvent être réalisées à partir de tissus prélevés directement sur des animaux adultes (biopsies) ou sur des fœtus (issus d'avortements spontanés). Les fibroblastes étant dérivés des cellules mésenchymateuses, ils gardent, au-delà du stade fœtal une grande plasticité fonctionnelle. Dans une culture primaire, la forme irrégulière ou en fuseau des fibroblastes leur permet de proliférer et de résister plus longtemps que les cellules de forme polygonale (épithéliale). Les fibroblastes deviennent ainsi une population cellulaire majoritaire (Hayes, 1993).



**A**



**B**

**Figure 14 :** Jeune gazelle leptocère femelle (Ryma) du Centre Cynégétique de Zéralda. Photo prise le 10/05/10 (A). Photo prise le 02/04/08 (B).

- **Protocole**

Des fragments de tissus musculaires et du derme sont prélevés au niveau de la patte de l'animal et placés dans un flacon stérile contenant du milieu de culture RPMI 1640 supplémenté de 10% du Sérum de Vœux Fœtal (SVF). Sous une hotte à flux laminaire vertical (Polaris 72 N°19311), les fragments sont dilacérés sous agitation magnétique pendant 10 min dans une fiole contenant 10 mL d'une solution de trypsine à 0.05%, préalablement chauffée à 37C. Après décantation, le surnageant est transféré délicatement dans un tube de 15 mL et centrifugé à 2000 rpm pendant 5 min. Le culot est suspendu délicatement dans 4 mL de milieu de culture additionné de 10% de SVF. La suspension est ensemencée dans une boîte de culture de 25 cm<sup>2</sup> et mise dans une étuve à 37C°. Quelques heures après, les cellules sont observées à l'aide d'un microscope inversé (Zeiss Axiovert 40C) pour s'assurer du début d'adhésion des cellules au fond de la boîte. Le lendemain, le milieu de culture devenu jaune est éliminé pour enlever les toxines, les débris organiques et les cellules non adhérentes. Les cellules sont lavées avec du milieu de culture, puis sont incubées dans 4 mL de milieu RPMI enrichi avec 10% de SVF. 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.

- **Solutions nécessaires**

**Milieu de culture cellulaire RPMI-SVF 10%**

Milieu RPMI 1640/+HEPES 20 mM/-L-Glutamine (Gibco Réf: 22409-031 lot: 305511).

SVF (Gibco Réf: 15160-047 lot: 3086587): 10%

L-Glutamine 200 mM (Sigma) : 1%

Pénicilline et Streptomycine (Sigma) : 1%

Fungizone (Sigma): 1%

**Milieu pour lavage des cultures**

Milieu RPMI 1640/ -L-Glutamine avec NaHCO<sub>3</sub> sans HEPES (Eurobio Réf CM1RPM00-0U lot : 651528)

**Solution PBS-** (Dulbecco's phosphate buffered saline) **sans Ca<sup>2+</sup> et sans Mg<sup>2+</sup>**

NaCl (137 mM): 8 g

KCl (5.4 mM): 0.2 g

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub><sup>-</sup> 12H<sub>2</sub>O (8 mM): 2.89 g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1.47 mM): 0.2 g

Eau distillée qsp 1 L.

La solution est autoclavée et le pH est ajusté à 7.2.

**Trypsine à 0.05%**

0.05g de trypsine (Sigma) en poudre sont dissous dans 100 mL de PBS. La solution est filtrée avec un filtre de 0.45µm.



A



B

**Figure 15 :** (A) Gazelle leptomacris du Centre Cynégétique de Zéralda juste avant le prélèvement (photo prise le 12/03/09). (B) Différentes étapes de prélèvement de sang de la veine jugulaire.

### 3. MISE EN CULTURE DES LYMPHOCYTES

- **Principe**

L'accessibilité du matériel biologique est un facteur important pour n'importe quel type d'étude, d'où l'utilisation du sang facile à prélever. Les lymphocytes du sang périphérique sont en général à l'état quiescent (phase G0), c'est à dire au repos contrairement aux cellules de structure épithéliale. En plus de garantir la viabilité des lymphocytes, certaines techniques immunologiques associées à la cytogénétique, permettent la stimulation *in vitro* du cycle cellulaire. Chez les mammifères les lymphocytes B et T sont les seules cellules du sang susceptibles d'être transformées en cellules actives et proliférantes (Sharon et Lis, 1989). Cette transformation de lymphoblastes induite *in vivo* par les antigènes, peut être stimulée *in vitro* par des lectines. Les lectines les plus couramment employées pour la transformation des lymphoblastes sont la phytohémagglutinine (PHA) et la concanavaleine A (Con A). Ces deux agents mitogènes activent préférentiellement les lymphocytes T. Ces derniers peuvent être mis en culture soit à partir du 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 a été utilisé pour réaliser ce travail.

- **Protocole**

Le sang (5 à 10 mL) est prélevé de la veine jugulaire dans un tube stérile contenant de l'héparine de sodium (Figure 15). Les tubes sont agités pour éviter la coagulation et sont immédiatement placés au frais à 4°C. La mise en culture peut être effectuée immédiatement ou pendant la semaine sans affecter le résultat final.

Les cultures sont effectuées dans un tube Falcon de 15 mL contenant 1 mL de sang total, 10 mL de milieu de culture RPMI 1640 supplémenté avec 15% de SVF et 50 µL de concanavaleine A (10 µg/mL), (Figure 16). Les tubes sont ensuite incubés durant 72h dans une étuve à 37°C.

- **Solutions nécessaires**

**Milieu de culture cellulaire RPMI-SVF 15%**

Milieu RPMI 1640 /+HEPES 20 mM (Gibco Réf: 22409-031 lot: 305511)

SVF (Gibco Réf: 15160-047 lot: 3086587): 15%

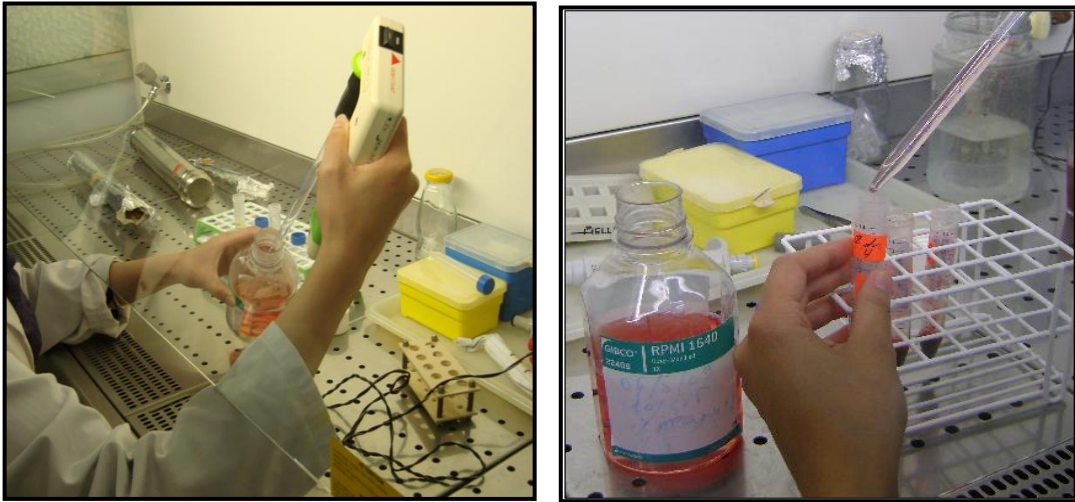
L-Glutamine 200 mM (Sigma): 1%

Pénicilline et Streptomycine (Sigma): 1%

Fungizone (Sigma): 1%

**Concanavaleine A**

5 mg de concanavaleine (Sigma) sont dissous dans 5 mL d'H<sub>2</sub>O. Cette solution est filtrée (0.20 µm) et conservée à -20°C.



**Figure 16** : Étapes de mise en culture des lymphocytes de la gazelle leptocère loderi sous une hotte à flux laminaire.



## 4. PRÉPARATIONS CHROMOSOMIQUES

### 4.1. SYNCHRONISATION DES FIBROBLASTES

- **Principe**

La culture cellulaire permet d'obtenir des cellules à différents stades de divisions allant de la prophase à la métaphase, stades auxquels les chromosomes deviennent de plus en plus compacts et courts, avec pour conséquence une diminution du nombre de bandes révélées par les techniques de marquages chromosomiques. Le blocage réversible en phase de synthèse (S) du cycle cellulaire à l'aide d'agents tels que la thymidine en excès, le méthotrexate, ou le 5'Fluoro-2'déoxyuridine (FdU), permet d'obtenir une culture synchrone et homogène. Le nombre de cellules récoltées en prophase et prométaphase est ainsi optimisé. Les chromosomes obtenus par cette technique sont dits à haute résolution car ils sont allongés et présentent, après des traitements de marquage particuliers, un motif en bandes de très bonne définition. Cette technique exploite la capacité de la thymidine exogène à bloquer le cycle cellulaire au milieu de la phase (S) de synthèse. Les cellules étant asynchrones (à divers stades du cycle cellulaire), elles ne seront pas toutes bloquées en même temps par la thymidine. Un deuxième blocage est alors réalisé pour bloquer les cellules ayant échappé au premier, d'où le terme de double synchronisation (Dutrillaux et Couturier, 1981 ; Ladjali *et al.*, 1995).

- **Protocole**

Jour 1. Les cellules confluentes sont trypsinées et inoculées dans deux boîtes avec 8 mL de milieu de culture et incubées à 37°C. On ajoute 1.2 mL d'une solution stérile de thymidine (concentration finale 3mM) au milieu. Les boîtes sont remises à l'étuve pour que le 1<sup>er</sup> blocage s'effectue durant 17 à 18h.

Jour 2. Les cellules sont lavées 3 fois 10 min avec une solution de BSS<sup>+</sup> à 37°C, puis elles sont à nouveau incubées avec 8 mL de milieu de culture. Pour réaliser le 2<sup>ème</sup> blocage, on ajoute 1.2 mL de thymidine.

Jour 3. Les cellules sont lavées 3 fois 10 min avec une solution de BSS<sup>+</sup> à 37°C, puis elles sont à nouveau incubées avec 8 mL de milieu de culture jusqu'à ce que le nombre de cellules mitotiques (rondes) soit plus important que les cellules déjà divisées (doublets).

### 4.2. SYNCHRONISATION DES LYMPHOCYTES

- **Principe**

La synchronisation des lymphocytes en culture peut être obtenue de la même manière que pour les fibroblastes, par l'action de différents agents qui inhibent la synthèse d'un dNTP nécessaire à la réplication de l'ADN (Figure 17). L'agent utilisé dans ce travail est la thymidine en excès dans le milieu. Si l'inhibition est maintenue pendant 16h à 18h, environ 70% des cellules en division s'accumulent à un stade correspondant à peu près au milieu de la phase S de synthèse de l'ADN. Après la levée du blocage, la synthèse de l'ADN redémarre et les cellules passent de manière assez synchrone par les différentes étapes conduisant à la

mitose, ce qui permet de récolter un nombre important de cellules prométaphase ou en début de métaphase selon le moment de la récolte. Si les techniques de marquage chromosomique sont appliquées sur des chromosomes obtenus à partir de ces cellules, le dessin des bandes révélées est dit à “haute résolution”.

- **Protocole**

### **Jour 1 : Blocage des cellules à la thymidine**

On ajoute 150  $\mu\text{L}$  d'une solution de thymidine stérile (concentration finale : 0,15 mg/mL) dans 10 mL de milieu RPMI-SVF 15%. Les cellules sont incubées à 37°C. Ce blocage dure 17h à 18h.

### **Jour 2: Levée du blocage**

Après une centrifugation pendant 5 min à 1200 rpm, le surnageant est éliminé (milieu de culture contenant la thymidine), les cellules sont lavées 3 fois avec une solution de BSS<sup>+</sup> préalablement chauffée à 37°C. Les cellules sont par la suite incubées à 37°C durant 6h à 7h pour la reprise du cycle cellulaire, dans 10 mL de milieu RPMI-SVF 15% auxquels on ajoute 33  $\mu\text{L}$  de 5-bromo-2'-déoxyuridine (BrdU). Le BrdU est un analogue structural de la thymidine, il est incorporé lors de la réplication de l'ADN.

Après 1h d'incubation, 100  $\mu\text{L}$  de 5-fluoro-2'-déoxyuridine (FdU) sont ajoutés dans la même culture pour augmenter le rendement de l'action du BrdU.

- **Solutions nécessaires**

#### **Solution thymidine 1X (10 mg/mL)**

100 mg de thymidine (Sigma) dans 10 mL de milieu RPMI. La solution est filtrée stérilement avec un filtre 0.20  $\mu\text{m}$ .

#### **Solution BSS<sup>+</sup> (Hank's balanced Salt solution) avec Ca<sup>2+</sup>**

NaCl (137 mM): 8 g

KCl (5.4 mM): 0.4 g

MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (0.81mM): 0.2 g

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub><sup>-</sup>·12H<sub>2</sub>O (0.33 mM): 0.12 g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0.44 mM): 0.06 g

H<sub>2</sub>O qsp 1 L.

La solution est autoclavée, ensuite sont rajoutés stérilement (filtre 0.45  $\mu\text{m}$ ) 6 mL d'une solution de NaHCO<sub>3</sub> à 5.6 % et 2 mL d'une solution de CaCl<sub>2</sub> (1M). Le pH de la solution finale doit être ajusté à 7.2 - 7.7

#### **Solution de BrdU 1X (3 mM)**

30.7 mg de BrdU (Sigma) dans 10 mL de solution de PBS<sup>-</sup>. Solution filtrée (0.22  $\mu\text{m}$ ) et conservée à -20°C.

#### **Solution de FdU 10X (3mM)**

7.5 mg de FdU (Sigma) dans 10 mL de solution de PBS<sup>-</sup>. Solution conservée à -20°C.

### 4.3. RÉCOLTE DES CELLULES

- **Principe**

L'intervalle de temps nécessaire après la levée du blocage pour que les cellules soient en prométaphase varie selon l'origine des cellules. Cet intervalle de temps varie en moyenne de 6 à 8h. Dans notre laboratoire de génétique du développement, les fibroblastes d'oiseaux ont été mis en culture, le pic de division a été estimé par rapport à la durée du demi-cycle chez le poulet ainsi que les espèces étudiées (l'outarde houbara, la perdrix gabra et la caille des blés) qui est de 6-7h (Ladjali, 1994; Mahiddine, 2009; Ouchia, 2009; Kartout, 2010).

- **Protocole**

#### **Traitement à la colchicine**

Après 7h à 8h d'incubation des cultures de lymphocytes, on ajoute 25 µL de colchicine 1X. La suspension cellulaire est alors centrifugée pendant 10 min à 1400 rpm.

#### **Choc hypotonique**

Le culot obtenu après centrifugation est remis en suspension dans 10 mL d'une solution hypotonique (KCl 0.075M) puis incubés à 37°C dans le bain marie pendant 15 min.

#### **Fixation**

Une préfixation est réalisée par l'addition de 1 ml de fixateur frais directement dans le milieu hypotonique pendant 5 min à 37°C. La suspension cellulaire est ensuite centrifugée pendant 10 min à 1200 rpm. Le surnageant est alors éliminé délicatement. Le culot obtenu est repris dans 10 mL de fixateur et remis à 37°C pendant 5 min. Le fixateur est éliminé après centrifugation du tube pendant 10 min à 1200 rpm. Ensuite, le culot obtenu est repris dans 5 mL de fixateur, il est mis à 4°C pendant 15 min. Puis, le culot est dissous dans 4 mL de fixateur. Une dernière fixation est réalisée pendant une nuit à 4°C. Le lendemain, le tube est centrifugé pendant 10 min à 1200 rpm, 1 à 2 mL de fixateur sont rajoutés au culot.

- **Solutions nécessaires**

#### **Solution de colchicine 10X (40 µg/mL)**

0.4 mg de colchicine sont dissous dans 10 mL de solution de PBS<sup>-</sup>. La solution est conservée à -20°C.

#### **Solution hypotonique de KCl (0.075 M)**

5.6 g de KCl sont dissous dans 1 L d'H<sub>2</sub>O. Cette solution est chauffée à 37°C avant son utilisation.

#### **Fixateur**

Pour la préparation de 100 mL de fixateur, 75 mL d'éthanol sont mélangés avec 25 mL d'acide acétique.

#### 4.4. MARQUAGES CHROMOSOMIQUES

##### a- Préparation des lames

La suspension cellulaire est déposée sur les lames (préalablement lavées et conservées dans de l'eau distillée à 4°C) en laissant tomber, d'une hauteur de 10 cm, une goutte sur une lame froide et recouverte d'un fin film d'eau. L'excès d'eau, autour de la goutte déposée, est tamponné et les préparations sont laissées sécher à l'air libre puis congelées à -20°C jusqu'à leur utilisation. L'observation des métaphases non colorées peut se faire au microscope photonique (Zeiss Primostar) en contraste de phase au grossissement 40X. L'indice mitotique optimal recherché est de 10 métaphases par champ de vision au grossissement 10X.

##### b- Coloration conventionnelle au Giemsa

- **Principe**

Il existe des colorants qui permettent de visualiser la chromatine grâce à leur affinité pour l'ADN et les protéines qui lui sont associées. Le plus couramment utilisé est le Giemsa qui est un mélange complexe de six groupes de colorants, principalement des thiazines, chargés positivement, qui interagissent avec les groupements phosphate de l'ADN. Ceci induit une diminution de la longueur d'onde d'absorbance du colorant qui passe du bleu pâle au bleu foncé (Comings, 1978 ; Ladjali *et al.*, 1995).

- **Protocole**

Les lames sont rincées à l'eau courante avant d'être incubées dans une solution de coloration de Giemsa à 6% pendant 24h à température ambiante. Elles sont ensuite rincées abondamment à l'eau courante, à l'eau distillée et séchées à l'air libre.

Les métaphases colorées sont observées au microscope photonique en lumière blanche avec un filtre vert (Grossissement  $\times 10$  et  $\times 100$ ) et prises en photos (Canon Powershot A640 digital camera 10.0 megapixels).

##### **Remarque**

La coloration au Giemsa permet de distinguer la morphologie générale des chromosomes individuellement. Il est par conséquent extrêmement difficile de détecter des anomalies chromosomiques de structure.

Pour identifier spécifiquement chaque paire chromosomique, on utilise des techniques de marquage particulières qui permettent d'obtenir une coloration hétérogène des chromosomes par le Giemsa. Cette coloration met en évidence une succession de bandes présentant des propriétés fonctionnelles et structurales particulières, caractérisant chaque paire chromosomique. Ces techniques sont basées sur des réactions biochimiques faisant intervenir les composants des chromosomes (ADN et protéines), la réplication de l'ADN et la condensation des chromatides. Cette succession de bandes sombres et claires le long d'un chromosome, est identique chez tous les individus d'une même espèce pour un chromosome donné, ce qui en permet son identification précise (Comings, 1978; Hayes, 1993; Ladjali, 1994; Ladjali *et al.*, 1995).

### **c- Technique de marquage mettant en évidence des bandes structurales GTG**

- **Principe**

La révélation des bandes structurales Bandes G- Trypsine- Giemsa (GTG) est basée sur la 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 rincées à l'eau courante. Elles sont ensuite incubées pendant 10 à 12 secondes dans une solution de trypsine à 0.25% à température ambiante. Elles sont lavées dans 2 bains successifs de PBS<sup>-</sup>, pour arrêter l'action de la trypsine et colorées avec une solution de Giemsa à 6% pendant 24h.

Les lames sont lavées à l'eau courante puis à l'eau purifiée, et séchées à l'air libre.

L'Observation des métaphases colorées est réalisée au microscope photonique en lumière blanche avec un filtre vert. L'observation est réalisée au Grossissement ×10 et à l'immersion, Grossissement ×100, pour analyser les détails des chromosomes marqués. Les photos sont prises avec un appareil Canon Powershot A640 digital camera 10.0 megapixels pour faire une analyse globale de la lame.

### **d- Technique de marquage mettant en évidence des bandes dynamiques RBG**

- **Principe**

La technique révélant les bandes dynamiques RBG (R-BrdU-Giemsa) s'applique sur des préparations chromosomiques dont l'ADN a été modifié *in vitro* durant la culture cellulaire par l'incorporation d'un analogue structural de la thymidine qui est le BrdU (Zakharof et Egolina, 1968; Ladjali, 1994; Ladjali *et al.*, 1995).

L'addition du BrdU durant les dernières heures avant la fin de la culture cellulaire, permet à l'ADN chromosomique de contenir le BrdU dans les régions correspondant à l'euchromatine qui se répliquent tardivement. Après le traitement approprié, ce sont les bandes R (réplication précoce) qui seront visualisées.

Grâce aux propriétés de photo-décomposition des segments chromosomiques ayant incorporé le BrdU, plusieurs méthodes permettant de colorer de manière différentielle ces régions ont été développées. Le dessin des bandes ainsi obtenues est reproductible et caractéristique du stade auquel le BrdU est ajouté et de la durée de son incorporation (Dutrillaux *et al.*, 1972).

Les préparations chromosomiques sont traitées au colorant photosensible Hoechst qui, sous l'effet d'une exposition à la lumière noire, provoque la photolyse du BrdU incorporé dans l'ADN. Une série de réactions radicalaires vont réduire l'affinité des régions chromosomiques contenant l'ADN riche en BrdU pour le Giemsa. Par conséquent, seules les régions d'ADN ne contenant pas le BrdU seront colorées sur les chromosomes (Perry et Wolf, 1974; Douarin *et al.*, 1989; Ladjali *et al.*, 1995).

- **Protocole**

Les lames sont plongées pendant 20 min dans une solution de Hoeschst 33258 1X. Après avoir rincé les lames à l'eau du robinet puis à l'eau purifiée, ces dernières sont déposées à plat

dans des boîtes en plastique recouvertes d'une solution SSC 2X et sont exposées à une lumière noire pendant 90 min à une distance de 15 cm.

Les lames sont rincées et plongées pendant 10 min dans une solution de Earle 1X sans bicarbonate à 87°C dans le bain marie. Les lames sont ensuite lavées et colorées au Giemsa à 6% pendant 24h.

Les lames sont lavées et séchées et observées au microscope photonique en lumière blanche avec un filtre vert (Grossissement X10, X100) et prises en photos (Canon Powershot A640 digital camera 10.0 M).

## **e- Technique de marquage mettant en évidence les bandes CBG**

### **• Principe**

Cette technique permet de colorer l'hétérochromatine constitutive. Les bandes C sont principalement localisées dans la région des centromères. Elles sont mises en évidence grâce à des traitements successifs dans des conditions acides, alcalines et salines à température élevée. Ensuite, une coloration au Giemsa est réalisée (Summer, 1972). Les conditions acides hydrolysent les liaisons glycosidiques entre les bases puriques de l'ADN. Les conditions alcalines dénaturent l'ADN et les conditions salines coupent l'ADN en petits fragments. La plus grande résistance de l'ADN aux bandes C pourrait être due à une interaction avec des protéines non histones et à une renaturation rapide de l'ADN des régions riches en séquences hautement répétées.

### **• Protocole**

Les lames vieilles de 8 à 15 jours sont plongées dans une solution de HCl (0.2N) pendant une heure à température ambiante. Après un rinçage à l'eau courante, les lames sont plongées dans une solution de baryte à 50°C pendant 2 min. Les lames sont rincées et plongées dans une solution de SSC 2x à 60°C pendant 20 min. Les lames sont rincées, séchées et colorées au Giemsa 6% pendant 24h.

Cette technique n'a pas été réalisée dans notre présente étude, mais elle paraît intéressante à appliquer sur les chromosomes de la gazelle leptocère loderi pour lever l'ambiguïté sur la position des centromères des chromosomes de cette espèce.

### **• Solutions nécessaires**

#### **Solution de coloration de Giemsa 6%**

Pour un volume final de 25 mL, 1.5 mL de colorant Giemsa (Sigma Aldrich) dans 23.5 mL de tampon phosphate, solution préparée extemporanément.

#### **Tampon phosphate**

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

$\text{KH}_2\text{PO}_4^-$ : 0.2 g.

NaCl: 8 g.

KCl: 0.2 g.

$\text{H}_2\text{O}$  qsp 1 L.

Le pH de cette solution est ajusté à 7-7.2.

**Solution de trypsine à 0.25%**

62.5 mg de trypsine sont dissous dans 25 mL de tampon PBS<sup>-</sup>. Cette solution doit être préparée extemporanément ou bien congelée à -20°C.

**Solution de Hoechst 33258 100X (1 mg/1mL)**

100 mg de Hoechst (Sigma) sont dissous dans 100 mL d'H<sub>2</sub>Od. La solution est conservée à -20°C.

**Solution de SSC 20X**

NaCl (3 M): 175.2 g

Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>-2H<sub>2</sub>O (0.3 M): 88.2 g

H<sub>2</sub>Od qsp 1 L.

La solution est autoclavée et conservée à température ambiante.

**Solution de Earle 10X sans bicarbonate**

NaCl (1.16 M): 68 g

KCl (0.054 M): 4 g

NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>H<sub>2</sub>O (0.01 M): 1.4 g

MgSO<sub>4</sub><sup>-</sup> 7H<sub>2</sub>O (8.1 mM): 2 g

Glucose (0.055 M): 10g

CaCl<sub>2</sub> (18 mM): 2 g

Rouge de phénol: une pincée

H<sub>2</sub>Od qsp 1 L

La solution est filtrée et conservée à 4°C. Le pH est ajusté avec une solution saturée de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>12H<sub>2</sub>O.

**Solution de Baryte**

5g de baryte sont dissous dans 100mL d'H<sub>2</sub>Od. Cette solution doit être préparée la veille.

#### 4.5. CLASSEMENT DES CHROMOSOMES ET ETABLISSEMENT DU CARYOTYPE

Les chromosomes de la gazelle leptocère loderi n'ont pas été classés dans les caryotypes déjà proposés par Vassart (1995). Pour proposer un classement des chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi*, pour la première fois, les chromosomes ont été mesurés et classés selon leur taille relative. Donc, après coloration, la procédure classique est de découper les chromosomes à partir d'une photographie et de les classer par paires. Cependant, des systèmes d'analyse informatique rapide et bien adaptés (microscope relié à un micro ordinateur) ont été mis au point. L'établissement du caryotype correspond à une classification des chromosomes.

Les chromosomes sont donc classés par paire, en fonction de leur taille (par convention, les chromosomes sont classés du plus grand au plus petit) et de la position du centromère. L'indice centromérique défini par le rapport entre le bras court et le bras long permet de décrire trois types de chromosomes:

- les chromosomes métacentriques pour lesquels le centromère est placé de façon centrale
- les chromosomes submétacentriques (position non centrale du centromère)
- les chromosomes acrocentriques avec un centromère situé près de l'extrémité du chromosome.

Les chromosomes sont également classés en fonction des bandes chromosomiques, qui sont caractéristiques de chacune des paires.

# *RÉSULTATS*

### III. RÉSULTATS

#### 1. MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Le 1<sup>er</sup> prélèvement sanguin devait se réaliser sur un jeune mâle originaire de la région de Laghouat installé au Parc Zoologique de Ben Aknoun. Cet animal est décédé deux jours avant les prélèvements. Les raisons de son décès sont inconnues. Les vétérinaires n'ont gardé que la tête de l'animal, nous l'avons ramené au laboratoire afin de faire quelques prélèvements du tissu musculaire pour une étude ultérieure de l'ADN.

Après avoir observé les cornes nous avons constaté qu'il s'agissait bien d'un mâle de l'espèce leptocère. En effet, les cornes sont élancées, presque droites, légèrement divergentes, annelées et en forme de lyre à leur extrémité (Figure 18). La tête est blanche et ne porte pas les marques distinctives caractéristiques de celle de la Gazelle dorcas. Les marques faciales chez la Gazelle leptocère sont plus discrètes, très atténuées (marques sur le chanfrein, les joues et entre l'œil et le mufle).

Pour la réalisation du travail expérimental, nous avons alors prélevé une autre gazelle leptocère *G. leptoceros loderi* âgée de 4 ans, vivant en captivité dans un petit enclos du Centre Cynégétique de Zéralda. Son origine géographique est inconnue car cet individu a été ramené au centre après une saisie effectuée par les agents de la Gendarmerie Nationale. Par ailleurs, un seul prélèvement a été effectué pour la réalisation de cette étude à cause de la rareté de cette espèce. En effet, ce travail a été effectué grâce à la collaboration du D<sup>r</sup> Belhamra du Centre Cynégétique de Zéralda.

#### 2. CULTURES DE LYMPHOCYTES

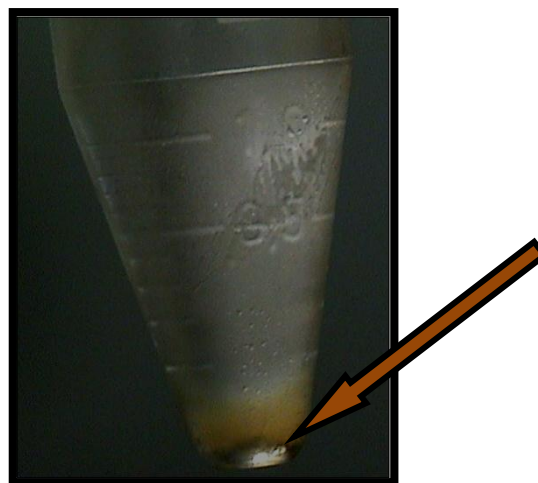
Une culture de lymphocytes a été entamée afin d'établir le caryotype de la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi*. Le prélèvement de sang a été réalisé sans anesthésier l'animal. Au niveau de la veine jugulaire, environ 15 mL de sang ont été prélevés, répartis dans 3 tubes différents ; deux héparinés et un tube EDTA. Le tube contenant de l'EDTA a été conservé à -20°C pour une étude d'ADN ultérieure.

Les 8 mL de sang qui ont été réservés pour la culture, ont été traités en deux étapes et répartis en 8 tubes. Pour éviter les contaminations, les tubes ont été traités à deux jours d'intervalle. Les lymphocytes ont été stimulés avec de la concanavaline A. Le milieu contenait du RPMI (1640) enrichi avec 15% de sérum de veau fœtal (SVF) et additionné d'antibiotiques, d'antifongiques et de L-Glutamine. Ces différents tubes, ont été traités dans les mêmes conditions, sous une hotte à flux laminaire, et incubés à 37°C.

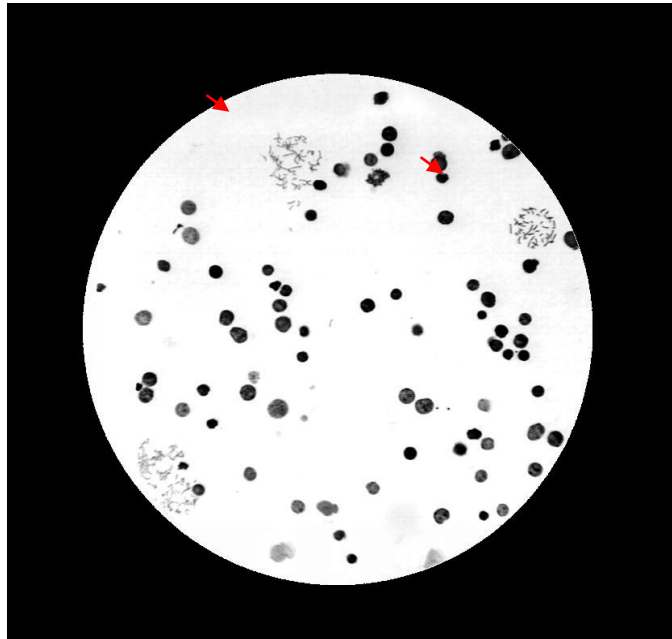
Des culots de lymphocytes ont été obtenus après 72h de culture (Figure 17). En effet, la stimulation avec la concanavaline A a été réalisée avec succès dans cette étude. Ensuite les cellules en division ont été synchronisées pour l'obtention de chromosomes allongés dits "à haute résolution".



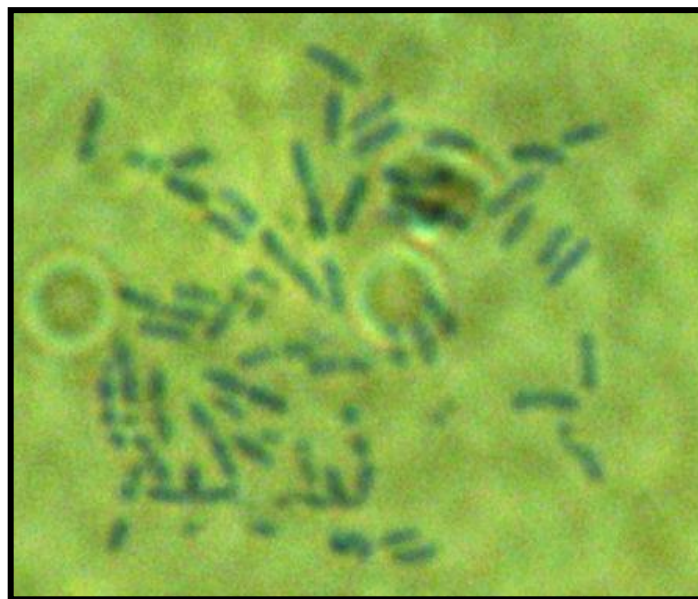
**Figure 18:** Tête de la gazelle leptocère mâle de profil et de face, Parc Zoologique de Ben Aknoun (Alger) (A et B). Anneaux des cornes (C).



**Figure 19:** Culot de lymphocytes obtenu après 72h de culture à 37°C.



A



B

**Figure 20:** (A) Métaphases avec des chromosomes non colorés et des noyaux interphasiques observés en contraste de phase (grossissement 10X). (B) Métaphase avec des chromosomes colorés en bandes GTG (grossissement 100X).

### **3. MARQUAGES CHROMOSOMIQUES ET DESCRIPTION DES CHROMOSOMES DE LA GAZELLE LEPTOCÈRE *GAZELLA LEPTOCEROS***

#### **3.1. SYNCHRONISATION DE LA CULTURE CELLULAIRE**

La synchronisation des cellules de la gazelle leptocère *loderi* a été effectuée avec succès car nous avons pu obtenir des chromosomes en prométaphase, allongés. À partir du sang prélevé chez la jeune gazelle, six synchronisations différentes ont été réalisées.

Les cellules ont été bloquées par de la thymidine en excès pendant 18h. Ce blocage a permis de synchroniser les divisions des lymphocytes de la gazelle *G. leptoceros loderi* et de récolter les chromosomes en prométaphase. L'intervalle de temps nécessaire pour qu'un maximum de cellules soit au stade de prométaphase au moment de la récolte varie selon les espèces. Les cellules ont été récoltées 7 à 8 heures après la levée du blocage. Ce temps a été estimé d'après les précédents travaux réalisés sur les gazelles, les ovins, les caprins et les bovins (Hayes, 1993). Comme on ne savait pas si les lymphocytes de la gazelle *G. leptoceros loderi* résisteraient à la thymidine en excès, nous avons préféré alors, récolter les chromosomes de deux tubes sans réaliser des synchronisations des cellules, au préalable.

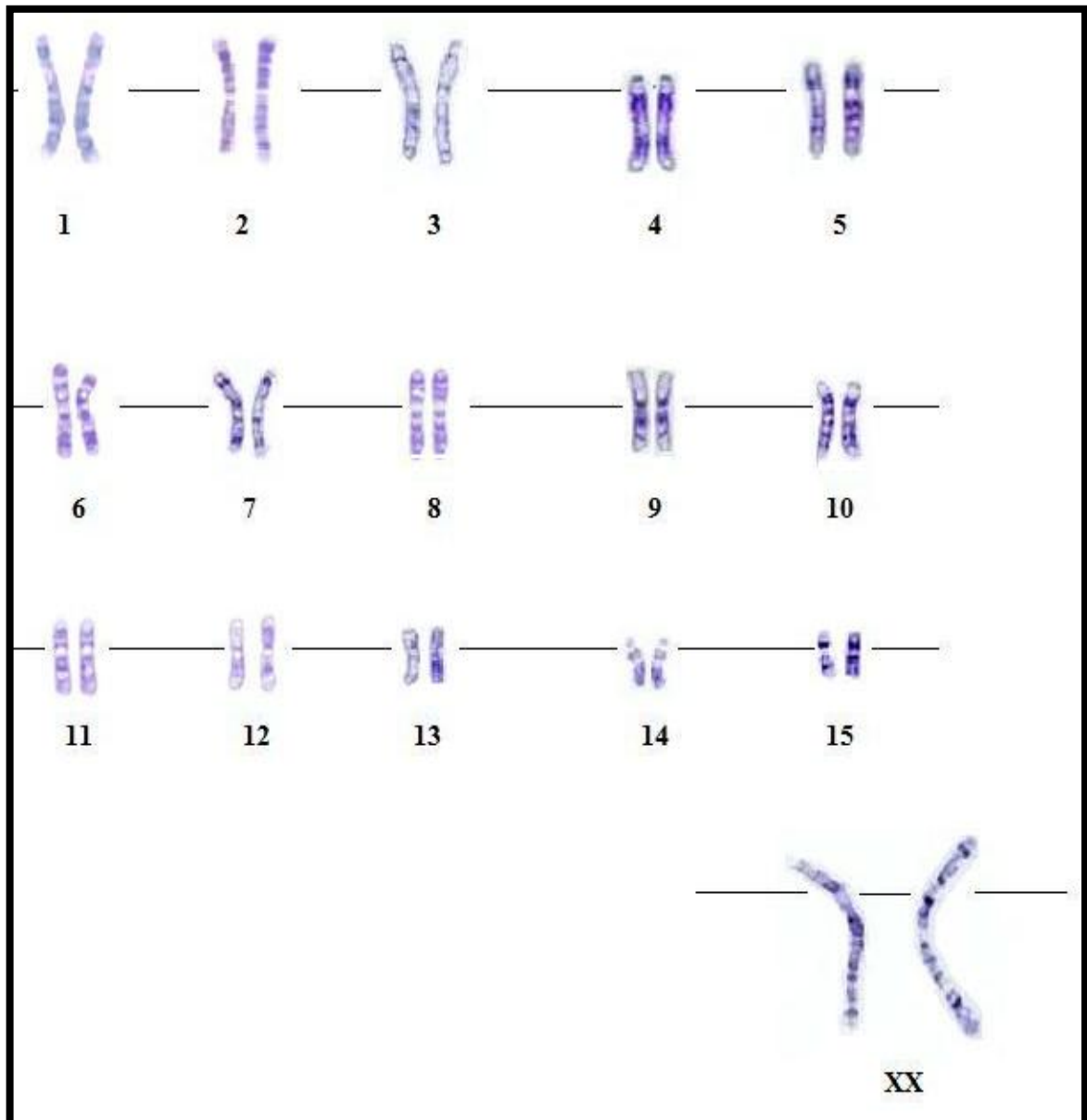
Quelques minutes avant de récolter les cellules, la colchicine a été rajoutée au milieu de culture. Ensuite, après le choc hypotonique et la fixation, les culots ont été rassemblés en 4 tubes différents. Pour chaque tube, une quinzaine de lames ont été étalées. Avant la coloration, les lames ont été observées au microscope photonique (Zeiss Primostar) en contraste de phase grossissement 10X et 40X.

Pour les tubes contenant les cellules non synchronisées, peu d'étalements ont pu être réalisés avec un indice mitotique qui était faible. Seules les lames riches en métaphases ont été traitées afin d'effectuer un marquage chromosomique mettant en évidence les bandes morphologiques GTG. Après digestion à la trypsine, les lames ont été colorées avec du Giemsa. Une coloration d'une très bonne résolution a été obtenue en bandes GTG (Figure 20).

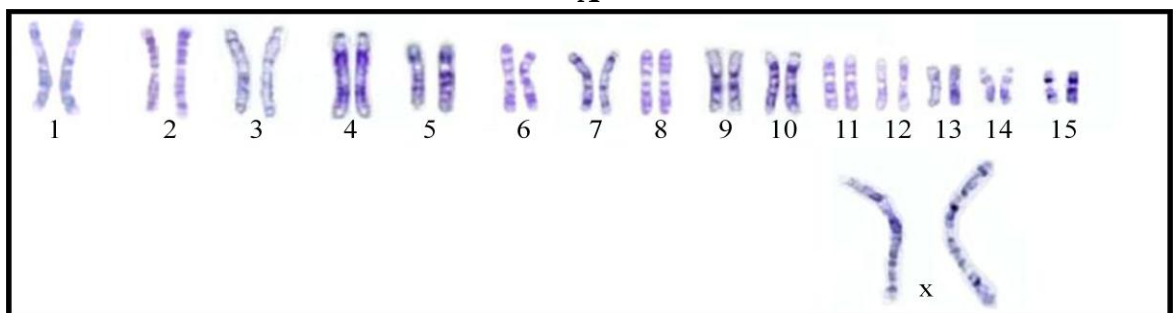
Pour obtenir des bandes dynamiques RBG, du BrdU a été ajouté à la culture cellulaire. Ensuite, pour favoriser l'incorporation de ce dernier dans l'ADN chromosomique, du FdU a été administré dans le milieu de culture. Après la coloration au Giemsa, les lames ont été analysées mais nous n'avons pas pu obtenir une coloration de bonne résolution en bandes RBG. Comme nous avons effectué un seul prélèvement à cause de la rareté de cette espèce menacée, nous n'avons pas suffisamment de lames pour répéter ce type de marquage. Les mitoses sont recherchées au faible grossissement, analysées et photographiées (Canon Powershot A640 digital camera 10.0 megapixels) avec un objectif de grossissement 100X à l'immersion.

#### **3.2. ETABLISSEMENT DU CARYOTYPE EN BANDES GTG DE LA GAZELLE *G. LEPTOCEROS LODERI***

Nous avons estimé le nombre diploïde de chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi* 32 chromosomes, avec 15 paires d'autosomes et une paire de chromosomes sexuels. Les chromosomes ont été découpés avec le logiciel Adobe Photoshop 8.0.



A



B

**Figure 21:** (A) Caryotype en bandes GTG de la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi* femelle issue du Centre Cynégétique de Zeralda. (B) Classement des chromosomes selon leur taille relative.

Nous proposons pour la première fois, la description des chromosomes de la gazelle leptocère *loderi* de sexe femelle en bandes GTG (Figure 21A).

L'identification individuelle et la classification des chromosomes de la gazelle présente en Algérie a été réalisée selon le caryotype standard en bandes GTG du bœuf *bos taurus* (Di Bernardino *et al.*, 1990). En effet, les caryotypes standards n'ont jamais été établis chez les gazelles, c'est pour cette raison que nous avons utilisé le standard des bovins (Di Bernardino *et al.*, 1990) et des caprins (Hayes *et al.*, 1990) pour classer les chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi*. Les chromosomes du caryotype qui a été proposé par Vassart (1995), n'ont pas été classés selon le standard, ils ont juste été comparés aux chromosomes du caryotype standard bovin (Di Bernardino *et al.*, 1990). Aussi, les chromosomes n'ont pas été décrits avec précision par Vassart. Nous proposons donc dans cette étude, une classification des chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi*, pour la première fois, selon la nomenclature du caryotype standard bovin.

De plus, l'origine de la gazelle leptocère déjà décrite dans la littérature est inconnue, et peut ne pas correspondre à la gazelle *G. leptoceros loderi*.

Le caryotype a été préparé à partir de la même métaphase. Le classement des chromosomes a été réalisé selon leur taille, par ordre décroissant, et selon la position du centromère. Les chromosomes ont été mesurés avec le logiciel Adobe Photoshop 8.0 (Figure 21B) et les mesures ont été reportées sur le tableau (Tableau IV).

Nous avons estimé le nombre diploïde de chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi* à 32 chromosomes, comprenant 10 paires de chromosomes métacentriques, 3 paires de chromosomes submétacentriques et 2 paires de chromosomes acrocentriques. La formule gonosomique est XX. Le chromosome X est un grand chromosome submétacentrique.

Les chromosomes en bandes GTG de la gazelle *G. leptoceros loderi* sont décrits avec précision, pour la première fois, ci-dessous.

**Le chromosome 1** de la gazelle *G. leptoceros loderi* est métacentrique. Il possède un bras court p avec 3 bandes positives alternées de 2 bandes négatives. Le bras long q présente 4 bandes positives et 4 bandes négatives.

**Le chromosome 2** est métacentrique. Tandis que le bras court p présente 4 bandes positives et 3 bandes négatives, le bras long q présente par alternance 5 bandes positives et 5 bandes négatives.

**Le chromosome 3** est métacentrique. Le bras court p présente 3 bandes positives et 3 bandes négatives. Le bras long q présente 5 bandes positives et 5 négatives.

**Le chromosome 4** est acrocentrique. Le bras long q présente 4 bandes positives principales et 2 bandes négatives.

**Le chromosome 5** est submétacentrique. Le bras court p présente 1 bande négative flanquée de 2 bandes positives. Le bras long q présente 3 bandes positives et 3 bandes négatives.

**Le chromosome 6** est métacentrique. Le bras court p présente 3 bandes positives et 2 bandes négatives. Le bras long q présente 3 bandes positives ainsi que 3 bandes négatives.

Tableau IV : Mesure des chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi* (cm). Métaphases photographiées avec un objectif (G X100). La photo a été agrandie et traitée avec le logiciel Adobe Photoshop 8.0.

<b>Chromosomes</b>	<b>Largeur</b>	<b>Longueur</b>
<b>1</b>	0.37	1.80
<b>2</b>	0.36	1.75
<b>3</b>	0.37	1.64
<b>4</b>	0.37	1.53
<b>5</b>	0.37	1.39
<b>6</b>	0.37	1.38
<b>7</b>	0.36	1.27
<b>8</b>	0.37	1.26
<b>9</b>	0.37	1.24
<b>10</b>	0.37	1.22
<b>11</b>	0.37	1.06
<b>12</b>	0.36	1.05
<b>13</b>	0.37	0.85
<b>14</b>	0.37	0.69
<b>15</b>	0.37	0.64
<b>X</b>	0.37	3.02

**Le chromosome 7** de la gazelle *G. leptoceros loderi* est métacentrique. Le bras court p présente 1 bande négative médiane et 2 bandes positives. Le bras long q présente 3 bandes positives et 2 bandes négatives.

**Le chromosome 8** est métacentrique. Le bras court p montre 3 bandes positives et 2 bandes négatives aux extrémités. Le bras long q présente 4 bandes positives ainsi que 3 bandes négatives.

**Le chromosome 9** est métacentrique. Le bras court p présente 1 large bande positive flanquée de 2 bandes négatives. Le bras long q présente 1 bande positive et 2 bandes négatives.

**Le chromosome 10** est submetacentrique. Le bras court p présente 1 bande positive ainsi que 1 bande négative. Le bras long q présente 5 bandes positives et 2 larges bandes négatives.

**Le chromosome 11** est métacentrique. Le bras court p présente 2 bandes positives médianes et 2 bandes négatives. Le bras long q présente 3 bandes positives et 2 bandes négatives.

**Le chromosome 12** est métacentrique. Tandis que le bras court p présente 1 large bande positive encadrée de 2 bandes négatives, le bras long q présente 3 bandes positives médianes et 2 bandes négatives.

**Le chromosome 13** est submetacentrique. Le bras court p présente 1 bande positive et 1 bande négative. Le bras long q présente 2 bandes positives alternées de 3 bandes négatives.

**Le chromosome 14** est acrocentrique. Le bras long q présente 4 bandes positives alternées de 3 bandes négatives.

**Le chromosome 15** est métacentrique. Le bras court p présente 1 bande positive flanquée de 2 bandes négatives. Le bras long q présente 2 bandes positives et 2 bandes négatives.

**Le chromosome X** est submetacentrique. Le bras court p présente 5 bandes positives et 5 bandes négatives. Le bras long q présente 9 bandes positives ainsi que 8 bandes négatives.

# *DISCUSSION*

## IV. DISCUSSIONS

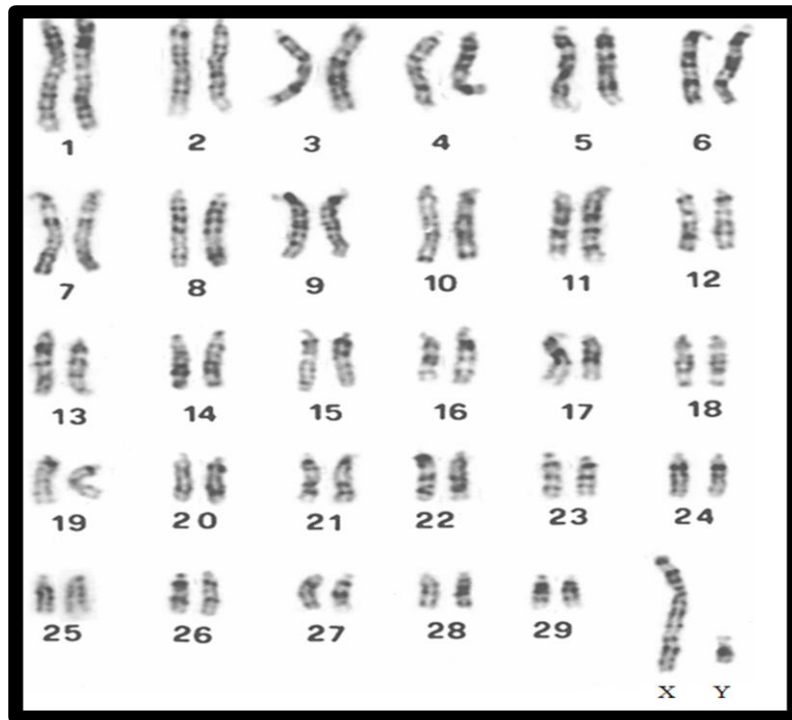
Pour la réalisation de ce travail, un seul individu a été prélevé. Il est important de noter que l'étude génétique d'espèces en voie de disparition est extrêmement difficile. Si les techniques d'analyses sont les mêmes que pour l'Homme et les animaux domestiques, en revanche l'obtention des prélèvements représente beaucoup d'investissements. En effet, attraper des gazelles, même en captivité nécessite de la compétence du personnel manipulateur. Pour effectuer des prélèvements (prises de sang et biopsies) sur ces animaux un protocole d'anesthésie doit être appliqué (Greth *et al.*, 1993). Ces protocoles ne sont pas disponibles en Algérie, parfois, certains anesthésiants manquent. Cependant, le stress occasionné lors de la capture peut entraîner des arrêts cardiaques lors de l'anesthésie. Nous ne pouvions donc pas risquer la vie de ce seul animal, c'est pour cela qu'il n'a pas été anesthésié avant d'être prélevé. Il faut préciser que la jeune gazelle vit au centre depuis 4 ans et qu'elle se sentait suffisamment en confiance pour se laisser approcher.

### 1. CULTURES CELLULAIRES

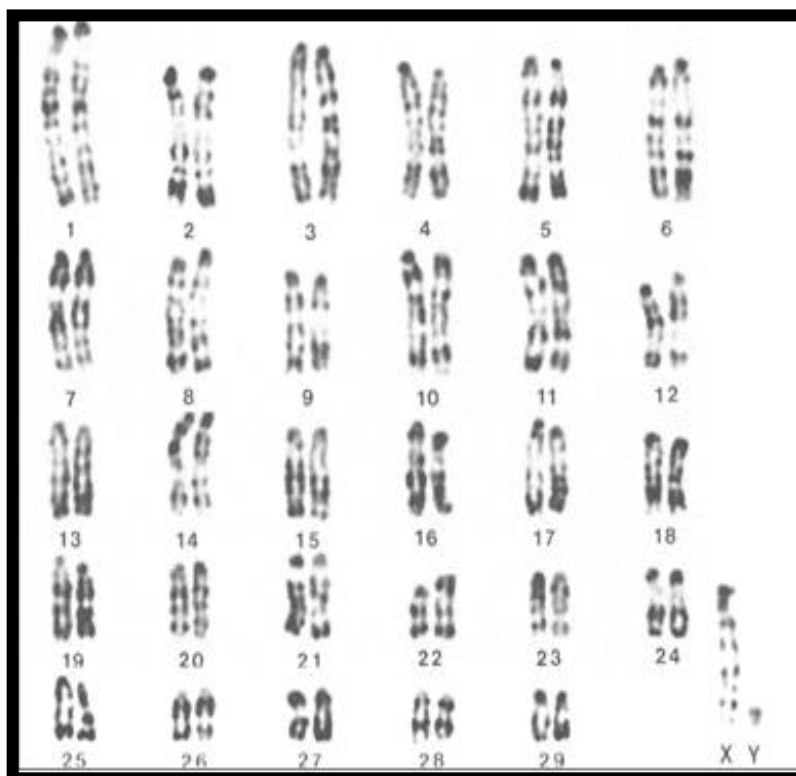
Une culture de lymphocytes a été effectuée, pour la première fois, en Algérie chez la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi*. Les techniques appliquées ont été adaptées à cette espèce à partir de protocoles mis au point chez l'Homme et les mammifères domestiques (Dutrillaux et Courturier, 1981). L'asepsie est indispensable à considérer car certains micro-organismes peuvent altérer la culture cellulaire. Il faut aussi tenir compte du milieu de culture, de la nature des substrats, de la température, du pH, de la pression osmotique et de la durée de culture (Rooney *et al.*, 1992).

Dans les précédents travaux décrits, les caryotypes de gazelles ont été obtenus à partir de cultures de fibroblastes après avoir effectué des biopsies (Effron *et al.*, 1976, Vassart *et al.*, 1995). Les cultures primaires de tissus fournissent en général des résultats plus réguliers. Le suivi du cycle cellulaire après la levée d'inhibition est possible grâce au comptage des cellules en divisions (cellules très réfringentes) et des doublets issus des divisions cellulaires. Dans ce travail, l'intervalle de temps entre la levée du blocage par de la thymidine et la récolte des cellules a été estimé à 6h-7h comme pour les travaux déjà réalisés.

Pour stimuler la prolifération des lymphocytes, nous avons utilisé comme agent mitogène, la concanavoline A. Le nombre de lymphocytes et leur stimulation potentielle par les mitogènes varient en fonction de l'état physiologique de l'animal. L'indice mitotique dépend du nombre de lymphocytes qui peuvent être transformés spécifiquement par l'agent mitogène. Les lectines utilisées pour les lymphocytes humains auraient pu ne pas être adaptées pour les lymphocytes de mammifères (Renshaw *et al.*, 1977). Cependant, de bons résultats, c'est à dire des préparations riches en étalements chromosomiques, ont été obtenus dans ce présent travail avec la mise en culture de lymphocytes de la gazelle leptocère. Nous avons constaté que les lymphocytes répondaient particulièrement bien aux agents stimulant le cycle cellulaire.



A



B

**Figure 22:** A. Caryotype standard en bandes GTG du bœuf *Bos taurus*. (Di Bernardino *et al.*, 1990). B. Caryotype standard en bandes RBG de la chèvre *Capra hircus* (Hayes *et al.*, 1990).

## 2. DESCRIPTION DES CHROMOSOMES DE LA GAZELLE LEPTOCÈRE ET COMPARAISON AVEC LE CARYOTYPE QUI SERAIT ANCESTRAL

Les techniques de synchronisation des lymphocytes ont été suivies par des marquages chromosomiques en bandes morphologiques GTG et nous ont permis de proposer pour la première fois le caryotype de la gazelle leptocère *gazella leptoceros loderi*.

Les chromosomes de la gazelle leptocère *G. leptoceros* n'ont jamais été décrits individuellement avec précision. Un caryotype a déjà été établi dans le cadre d'une étude phylogénétique (Vassart *et al.*, 1995). Un doute subsiste quant à la sous espèce étudiée. En effet, l'individu étudié était installé au niveau du Parc Zoologique de San Diego, l'origine géographique de l'espèce est inconnue. Nous ne savons donc pas s'il s'agissait de la gazelle leptocère loderi.

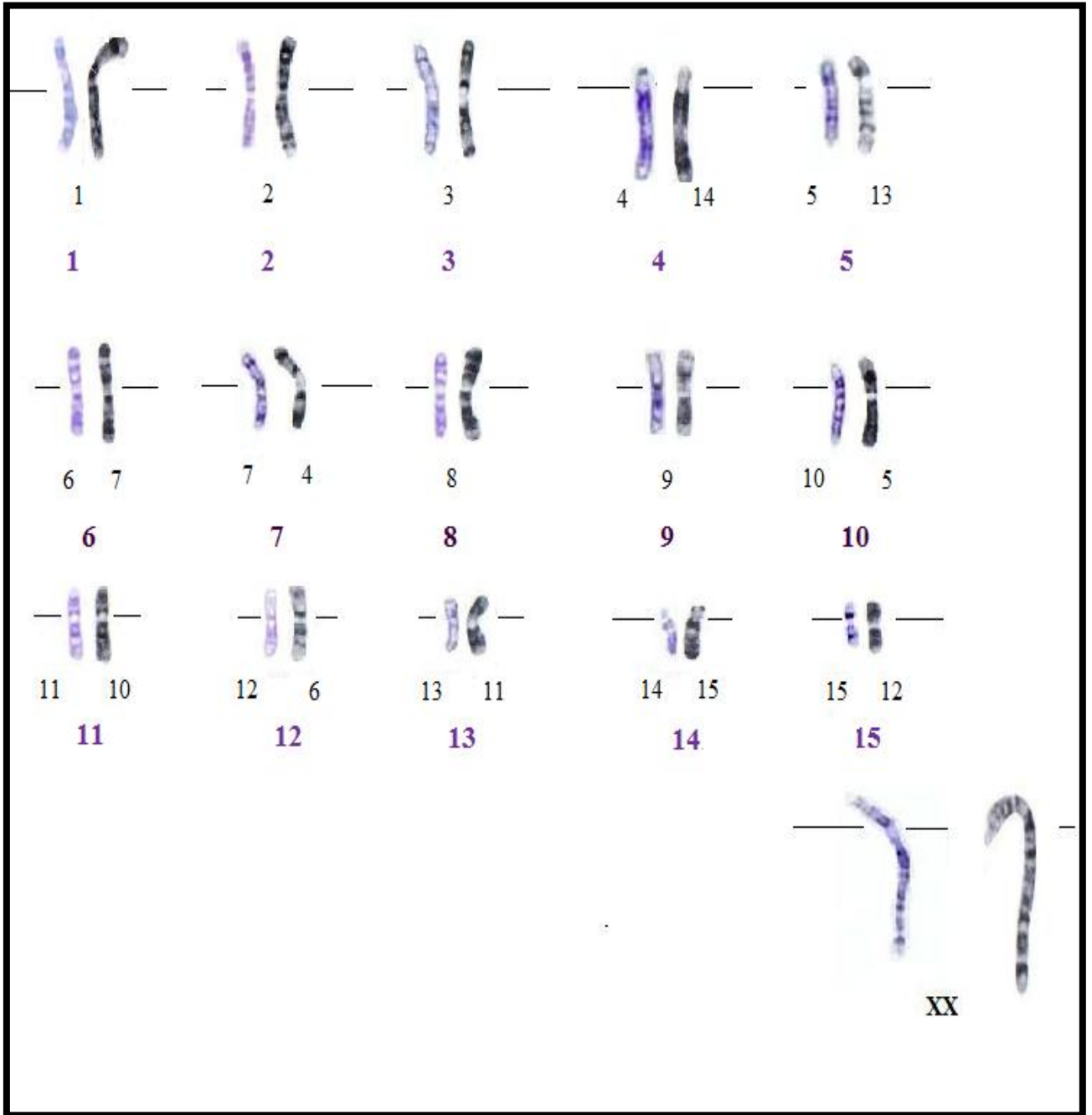
Il n'y a pas de caryotype standard disponible pour les gazelles, il n'existe donc pas de nomenclature Internationale. L'identification individuelle et la classification des chromosomes de la gazelle présente en Algérie a été réalisée selon le caryotype standard en bandes GTG du bœuf *bos taurus* (Di Bernardino *et al.*, 1990).

Le caryotype du bœuf *bos taurus* est constitué de 60 chromosomes qui sont tous acrocentriques (Figure 22A), (Di Bernardino *et al.*, 1990). Le caryotype du bœuf constitue le caryotype ancestral des bovidés. Dans la mesure où les chromosomes bovins et caprins sont très ressemblants, les chromosomes de la gazelle auraient pu être comparés à ceux de la chèvre (Figure 22B), (Hayes *et al.*, 1990). En effet, il a été reconnu que les caryotypes de la vache et de la chèvre seraient similaires au caryotype ancestral des Bovidés (Wurster et Benirscke, 1968).

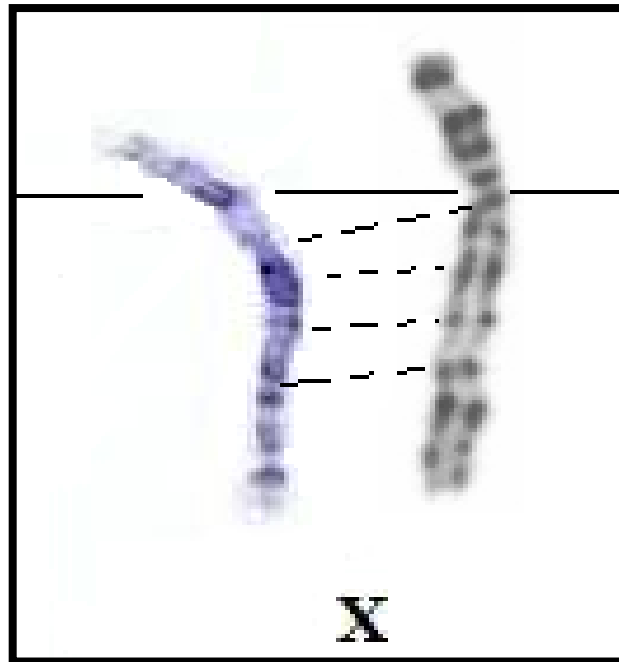
La comparaison entre le caryotype de la gazelle et de la chèvre montre que le caryotype ancestral des gazelles est très ressemblant à celui de la chèvre (Vassart *et al.*, 1995) qui ne comporte que des chromosomes qui sont acrocentriques (60 chromosomes) (Hayes *et al.*, 1990). De plus, les chromosomes 9 et 14 de toutes les espèces d'antilopes sont homologues aux chromosomes 9 et 14 de la chèvre (Buckland et Evans, 1978).

Le nombre diploïde des chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi* obtenu dans ce présent travail est identique à celui de la gazelle leptocère obtenu par Vassart (Vassart *et al.*, 1995). Les chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi* ont été comparés un à un avec les chromosomes de la gazelle leptocère étudiée par Vassart (Figure 23). Alors, des similitudes ont été observées entre les 15 paires chromosomiques et les chromosomes sexuels XX. Cependant, nous avons classé les chromosomes de la gazelle leptocère loderi pour la première fois par ordre décroissant selon la nomenclature standard établie chez les bovins (Di Bernardino *et al.*, 1990). Par exemple, le chromosome 4 dans cette étude correspond au chromosome 14 proposé par Vassart.

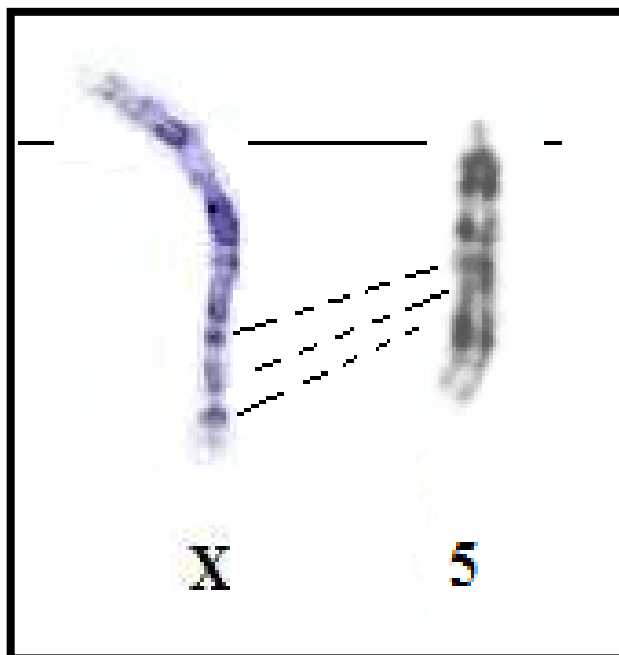
En effet, le chromosome que nous avons classé en 10 de la gazelle *G. leptoceros loderi* est submétacentrique. Or, dans l'étude précédente, il est classé comme chromosome 5, il est décrit comme étant un chromosome métacentrique (Vassart *et al.*, 1995). Par ailleurs, nous avons relevé quelques erreurs dans la description de la morphologie des chromosomes étudiés par Vassart. Ainsi, d'autres erreurs concernent les chromosomes que nous classons en 14 et 15 qui sont télocentriques mais ont été décrits par Vassart comme étant acrocentriques.



**Figure 23 :** Comparaison des chromosomes en bandes morphologiques GTG de la gazelle *G. leptoceros loderi* du Centre Cynégétique de Zeralda (à gauche) avec ceux de la gazelle leptocère proposés par Vassart (1995) (à droite).



A



B

**Figure 24:** (A) Comparaison du chromosome X de la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi* avec celui du bœuf *bos taurus*. (B) Comparaison du chromosome X de la gazelle leptocère (à gauche) avec le chromosome 5 du bœuf (à droite) (Di Bernardino *et al.*, 1990). Les pointillés représentent les similitudes entre les deux chromosomes.

Dans des travaux précédents, ces chromosomes sont décrits comme étant acrocentriques ou subacrocentriques. En effet, un marquage des bandes C a révélé la présence d'hétérochromatine constitutive au niveau des bras courts de ces chromosomes (Effron *et al.*, 1976). Ces chromosomes présentent un petit bras clairement formé d'hétérochromatine, ce qui confirme qu'ils sont télocentriques.

La comparaison des chromosomes sexuels de la gazelle *G. leptoceros loderi* du Centre cynégétique de Zéralda avec ceux de la gazelle leptocère précédemment étudiée révèle une similitude entre certains fragments chromosomiques. Une translocation impliquant le chromosome X ancestral des bovins et un autosome (le chromosome homologue autosome nommé Y2 chez les gazelles) est à l'origine de la formation du bras long du chromosome X des gazelles. Le chromosome Y2 existe chez les mâles et généralement, il est classé avec la formule chromosomique sexuelle (Wurster, 1972). La partie distale du bras long du chromosome X est homologue au chromosome Y2. Chez les gazelles, du fait de la présence de translocations entre les chromosomes sexuels et les autosomes, les mâles possèdent un chromosome acrocentrique Y2, issu de cette translocation. Dans le présent travail, nous n'avons pas été en mesure d'étudier le chromosome sexuel Y car la rareté de l'espèce nous a contraint à prélever le seul animal disponible qui est une jeune femelle.

Par ailleurs, nous n'avons pas noté la présence de différence entre les chromosomes X de la gazelle *G. leptoceros loderi* et la gazelle déjà décrite par Vassart. Il n'y a pas non plus de différence pour le chromosome X. C'est un grand submetacentrique.

La comparaison des chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi* avec ceux du bœuf domestique a montré une ressemblance entre le chromosome X de la gazelle et le chromosome X du bœuf (Di Bernardino *et al.*, 1990). Une autre homologie a été observée entre le chromosome X de la gazelle et un autosome du bœuf. En effet, il semble que la partie distale du bras long du chromosome X de la gazelle est homologue au chromosome 5 du bœuf (Figure 24). La longueur du chromosome X serait due au fait que toutes les gazelles sont porteuses de la translocation du chromosome 5 bovin sur le chromosome X (Vassart *et al.*, 1995).

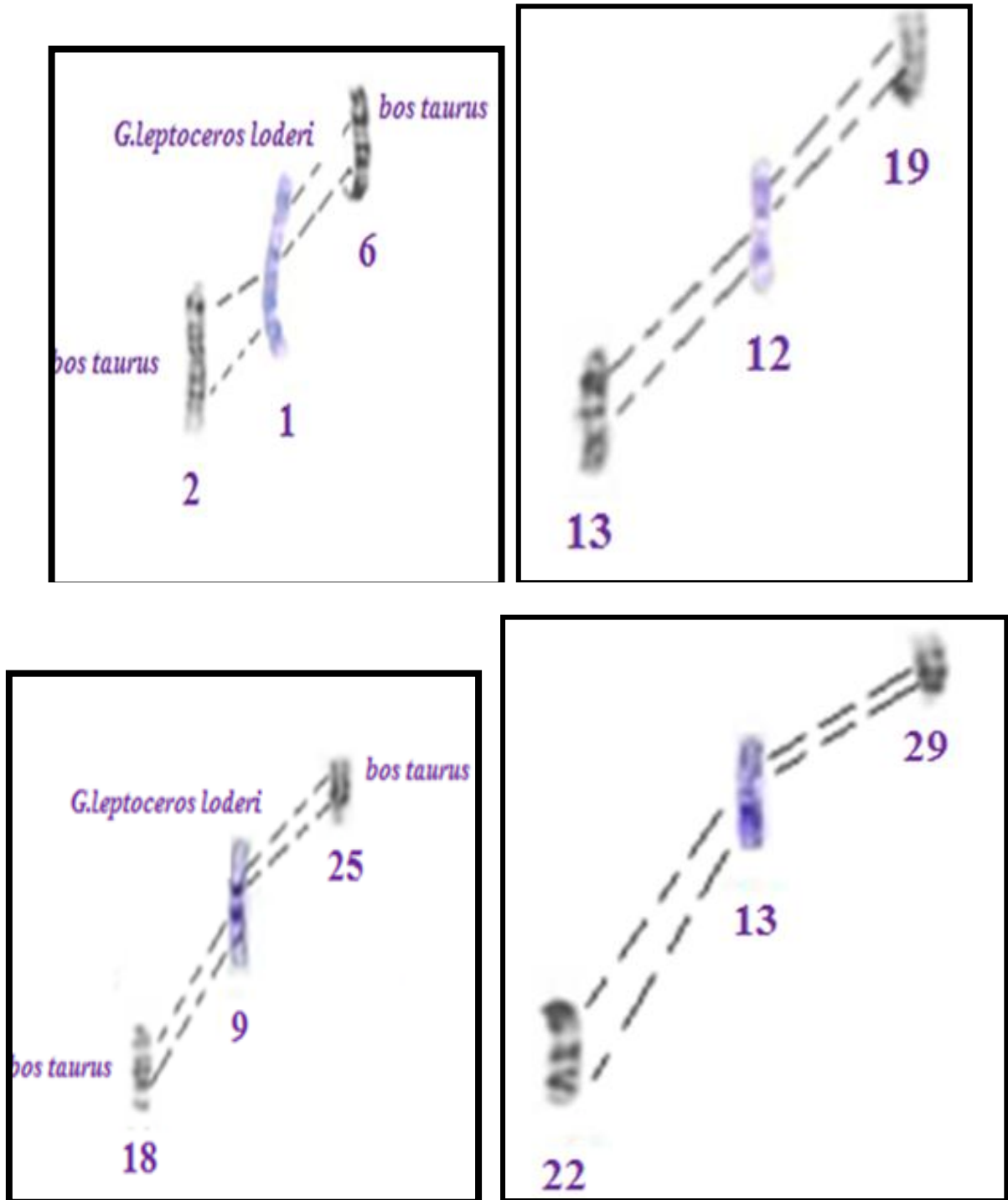
La comparaison des chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi* avec ceux du bœuf domestique a révélé des homologies entre les différents bras chromosomiques. Le bras long du chromosome 1 de la gazelle leptocère est homologue au chromosome 2 du bœuf qui est acrocentrique. Le bras court de ce chromosome est homologue du chromosome 6 du bœuf. L'analyse des chromosomes de la gazelle leptocère révèle que chaque bras chromosomique présente des homologies avec un chromosome acrocentrique du bœuf (Figure 25).

Dans l'étude réalisée par Vassart (Vassart *et al.*, 1995), les chromosomes ont été classés selon leurs homologies avec les chromosomes du caryotype standard du bœuf (Di Bernardino *et al.*, 1989).

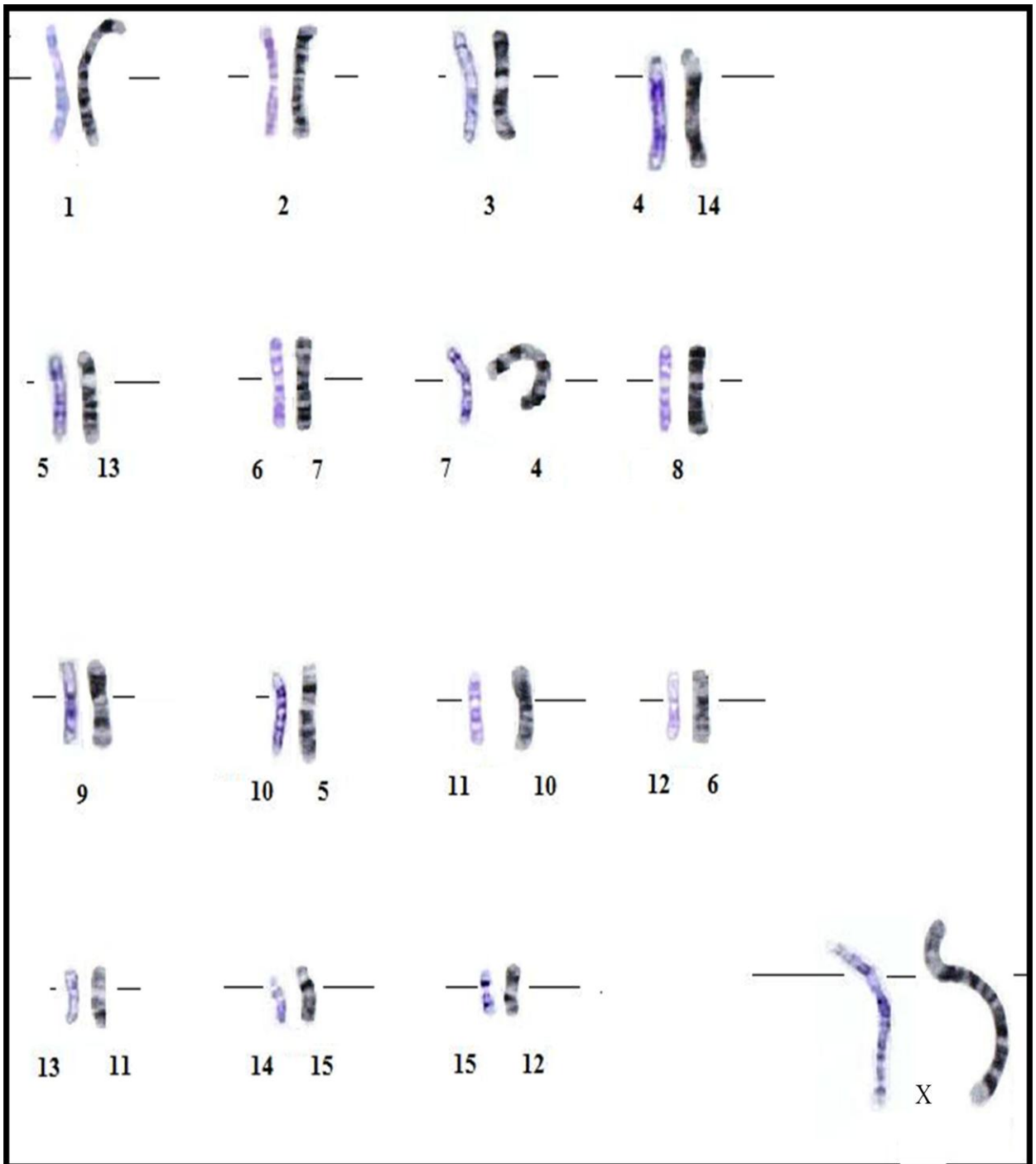
### **3. CARTOGRAPHIE COMPARÉE**

#### **3.1. COMPARAISON DES CARYOTYPES DE LA GAZELLE LEPTOCÈRE ET DE LA GAZELLE DE CUVIER**

La comparaison du caryotype en bandes GTG de la gazelle de Cuvier (Vassart *et al.*, 1995) avec le caryotype de la gazelle leptocère, *G. leptoceros loderi*, réalisé dans ce travail a été effectuée (Figure 26).



**Figure 25** : Comparaison des chromosomes de la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi* avec ceux du bœuf *bos taurus* (Di Bernardino *et al.*, 1990). Les similitudes entre les bras chromosomiques ont représentées par les pointillés.



**Figure 26:** Comparaison des chromosomes en bandes GTG de la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi* du Centre Cynégétique de Zeralda (à gauche) avec les chromosomes de la gazelle de Cuvier (à droite) proposés par Vassart (1995).

La gazelle de Cuvier est une espèce Sahélo-Saharienne très proche de la gazelle leptocère. La similitude entre les deux caryotypes semble totale. Ils comportent le même nombre de

chromosomes. Aucune différence de profil de bandes n'a été constatée dans cette étude, et pourtant ces deux caryotypes appartiennent à deux espèces différentes (Kumamoto et Bogart, 1984). Au cours de l'évolution, il semble que les espèces conservent un même profil de bande pendant les réarrangements chromosomiques (Effron *et al.*, 1976). Les caryotypes de la gazelle de Cuvier et leptocère ont été comparés dans le cadre d'une étude phylogénétique (Vassart *et al.*, 1995). Les chromosomes ont été classés selon leur homologie avec le caryotype standard du bœuf (Di Bernardino *et al.*, 1989). Les chromosomes des gazelles *G. leptoceros* et *G. cuvieri* présentent des homologies (Figure 26). Ainsi, le bras court du chromosome 1 des deux gazelles est homologue au chromosome 6 du bœuf (Vassart *et al.*, 1995).

En comparant le chromosome 4 de la gazelle *G. leptoceros loderi*, étudiée dans ce travail, avec celui de la gazelle de Cuvier, nous avons relevé une différence. Si un doute subsiste sur le fait que le chromosome 4 de la gazelle *G. leptoceros* soit acrocentrique ou télocentrique, celui de la gazelle de Cuvier est clairement télocentrique et confirme notre description de ce chromosome.

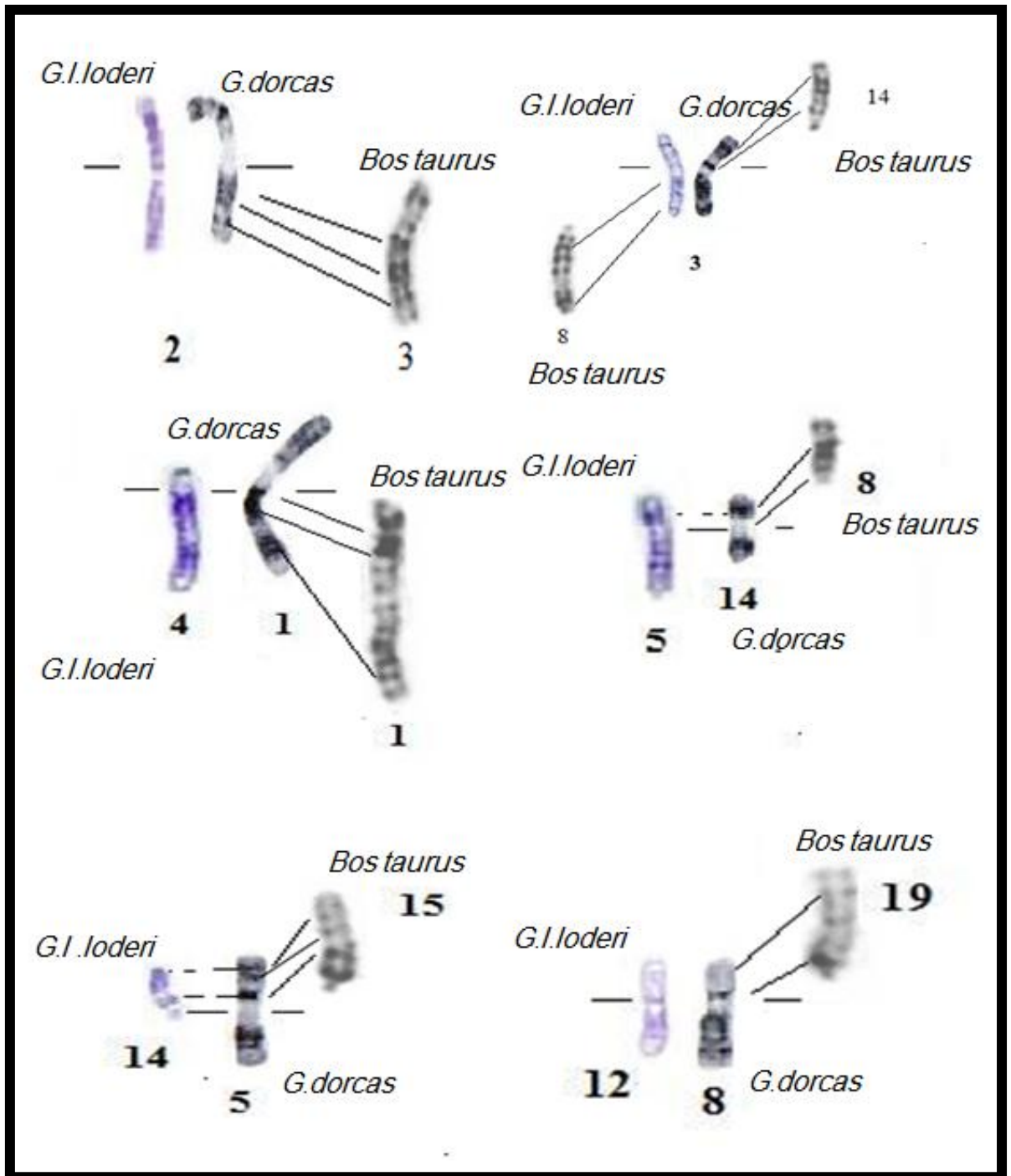
De nombreuses études ont montré que les gazelles de Cuvier et leptocère sont deux espèces très proches mais leur morphologie externe est différente ainsi que leur biotope. (Kumamoto et Bogart, 1984). Seule, une étude utilisant des marqueurs moléculaires, pourrait apporter des précisions sur leur appartenance ou non à une même espèce.

### 3.2. COMPARAISON DES CARYOTYPES DE LA GAZELLE LEPTOCÈRE ET DE LA GAZELLE DORCAS.

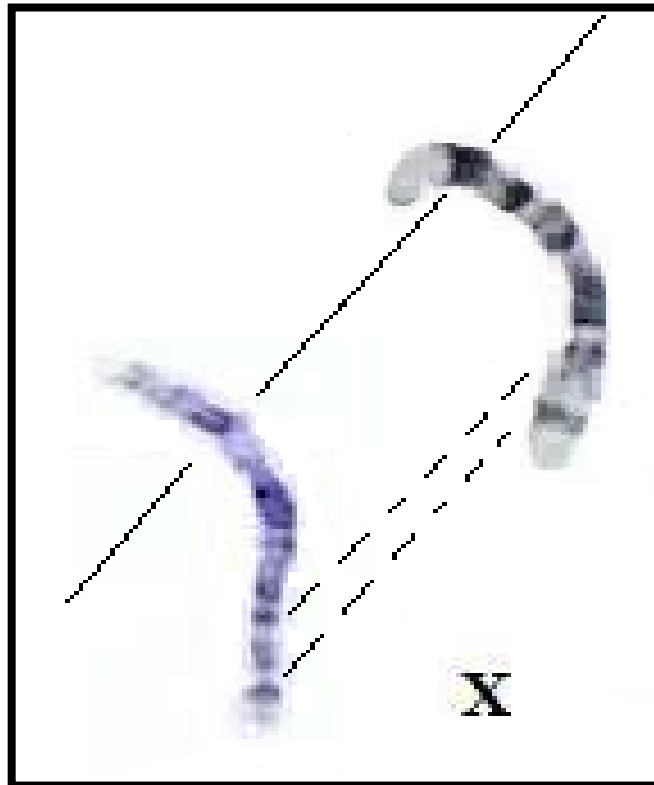
Les chromosomes en bandes GTG obtenus dans cette étude ont été comparés aux chromosomes de la gazelle dorcas *G. dorcas* (Vassart *et al.*, 1995) (Figure 27). Il s'agit d'une autre espèce locale menacée de disparition classée comme étant vulnérable par l'UICN. D'un point de vue phylogénétique ces deux espèces sont éloignées (Vassart *et al.*, 1995). Comme ces deux espèces sont présentes en Algérie, nous avons trouvé intéressant de comparer leurs caryotypes en bande G.

Les deux caryotypes présentent beaucoup de différences. Celui de la gazelle dorcas comporte 14 paires chromosomiques alors que celui de la gazelle leptocère en possède 15 (Effron *et al.*, 1976).

La comparaison du caryotype de la gazelle leptocère *loderi* avec le caryotype de la gazelle dorcas a révélé la présence de similitudes entre la morphologie et le motif des bandes G du chromosome 3. En effet, une étude phylogénétique, comparant les chromosomes des gazelles aux chromosomes bovins, a montré certaines ressemblances entre ces caryotypes. Certains chromosomes de la gazelle leptocère présentent les mêmes homologies avec les chromosomes bovins que la gazelle dorcas. Le bras court (p) du chromosome 3 de la gazelle dorcas et de la leptocère présente une homologie avec le chromosome 14 du bœuf. Alors que, le bras long (q) est homologue au chromosome 8 du bœuf (Vassart *et al.*, 1995). Les bras longs de la 2<sup>ème</sup> paire chromosomique sont ressemblants. En effet, la comparaison du chromosome 2 de la gazelle Dorcas (Vassart *et al.*, 1995) avec le chromosome 2 de la gazelle *G. leptoceros loderi* étudiée dans le présent travail, révèle un même profil de bande G pour le bras long (q). Les résultats d'une précédente étude confirment nos observations. Le bras long du chromosome 2 des deux gazelles présente la même homologie pour le chromosome 3 bovin (Vassart *et al.*, 1995).



**Figure 27** : Comparaison des chromosomes en bandes GTG de la gazelle leptocère *G. leptoceros loderi* (à gauche) avec les chromosomes de la gazelle dorcas proposés par Vassart (1995) et du bœuf (Di Bernardino *et al.*, 1990).



**Figure 28:** Comparaison du chromosome X de la gazelle *G. leptoceros loderi* (à gauche) avec le chromosome X de la gazelle *G. dorcas* (Vassart *et al.*, 1995). Les pointillés représentent les similitudes observées entre les deux chromosomes.

Le chromosome que nous avons classé comme 4 qui est acrocentrique de la gazelle leptocère, est homologue au bras long du chromosome 1 de la gazelle dorcas (Figure 27). Des résultats similaires ont déjà été obtenus (Effron *et al.*, 1976). Il s'agit des seules similitudes observées pour un chromosome entier entre le caryotype de la gazelle leptocère et la gazelle dorcas.

Le bras court du chromosome 12 de la gazelle leptocère, présenterait ainsi une homologie avec le chromosome 8 de la gazelle dorcas. Les bras courts des chromosomes 12 et 8 respectivement de la gazelle leptocère et dorcas sont homologues au chromosome 19 du bœuf (Vassart *et al.*, 1995).

Le chromosome sexuel X de la gazelle leptocère est submétacentrique alors qu'il est acrocentrique chez la gazelle dorcas (Figure 28). En effet, un marquage des chromosomes en bande C indique que le chromosome X de la gazelle leptocère possède un bras court constitué d'hétérochromatine, ce qui n'est pas le cas pour celui de la gazelle dorcas (Effron *et al.*, 1976).

La comparaison des chromosomes de la gazelle leptocère avec ceux de la gazelle dorcas a montré qu'il y a peu de ressemblances entre le caryotype de ces deux espèces. Cependant, la comparaison avec le caryotype du bœuf nous permet de constater que si les chromosomes des gazelles sont différents entre eux, ils présentent par contre beaucoup de ressemblance avec celui du bœuf. Le caryotype bovin est considéré comme ancestral, et il est constitué de chromosomes tous acrocentriques. Alors, l'hypothèse de remaniements chromosomiques survenus au cours de l'évolution ne peut pas être écartée (Gallagher et Womack, 1992).

D'autres études comparant différentes espèces de bovidés suggèrent que l'évolution chromosomique dans ce groupe s'est produite essentiellement par des fusions centriques à partir d'un caryotype primitif comportant 58 chromosomes acrocentriques comme celui de la chèvre domestique ou celui du bœuf (Wurster et Benirschke, 1968).

Comme l'ont suggéré Gallagher et Womack en 1992, l'évolution chromosomique chez les bovidés serait essentiellement due à des translocations Robertsoniennes avec très peu de remaniements intra-chromosomiques. L'hétérozygotie chromosomique résultant de ces réarrangements jouerait un rôle très important dans la spéciation, c'est-à-dire dans la formation des espèces, car elle contribuerait à la création d'une barrière de reproduction entre les populations (Mayr, 1963). Cependant, d'autres processus seraient impliqués dans la spéciation des gazelles, car il semble que certaines espèces ont le même caryotype alors qu'il s'agit d'espèces différentes. C'est le cas de la gazelle leptocère et de la gazelle de Cuvier.

*CONCLUSIONS ET  
PERSPECTIVES*

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Dans ce travail nous avons proposé pour la première fois, une description précise des chromosomes d'une espèce locale menacée de disparition, la gazelle leptocère *gazella leptoceros loderi*. En effet, bien que le caryotype de cette espèce ait déjà été établi dans le cadre d'une étude phylogénétique, aucune étude n'a été consacrée à la description individuelle des chromosomes de cette espèce.

Ainsi, un caryotype à haute résolution en bandes GTG a été établi selon une classification standard. Des cartographies chromosomiques comparées avec d'autres espèces de gazelles (gazelle dorcas et gazelle de Cuvier), ainsi que le caryotype standard bovin, ont été réalisées. Nous avons montré, après la comparaison individuelle des chromosomes avec ceux de la gazelle de Cuvier, la présence de similitudes entre la morphologie et les motifs des bandes pour toutes les paires chromosomiques. A l'inverse, la comparaison avec les chromosomes de la gazelle dorcas a montré une nette différence chez ces deux espèces. Seule la 3<sup>ème</sup> paire chromosomique des deux espèces présente un même profil de bandes GTG pour le chromosome entier.

Ces informations contribuent à une meilleure connaissance du génome de la gazelle leptocère d'Algérie très peu étudiée. Cette description des chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi* est donc une première approche pour l'établissement d'une base de données génétique.

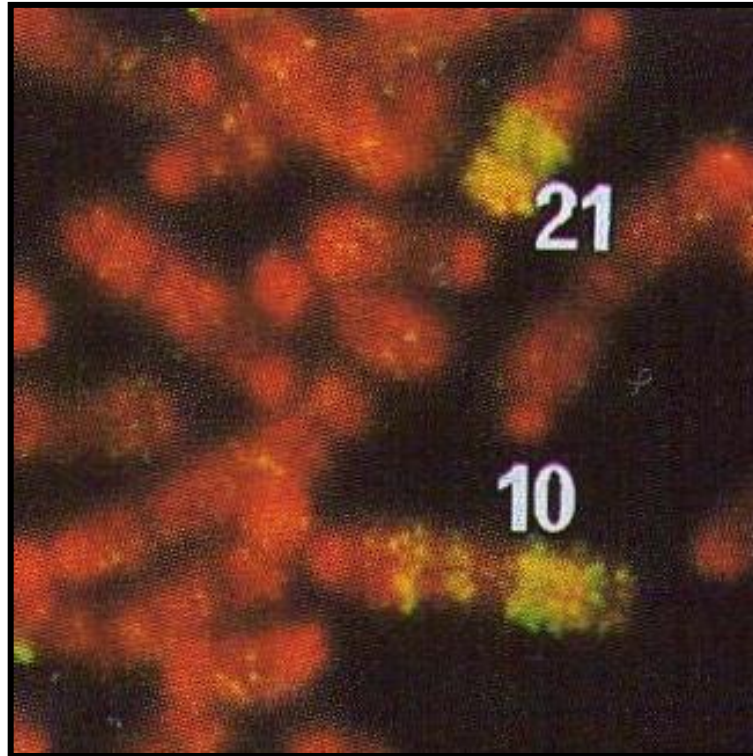
Par ailleurs, notre étude a été effectuée sur un seul spécimen à cause de la rareté de cette espèce. C'est une des raisons pour laquelle le caryotype a été établi uniquement à partir de cultures de lymphocytes.

Pour poursuivre notre étude, nous envisageons de confirmer nos résultats par l'analyse d'autres animaux. En effet, l'objectif de la station de Brezina est d'améliorer le programme d'élevage en captivité de la gazelle leptocère avec un suivi quotidien pour chaque individu. Des biopsies sur différents animaux du centre d'élevage d'El Bayadh est alors à envisager. Nous pourrions réaliser des cultures de fibroblastes et mettre en place une banque cellulaire de cette espèce menacée. Une description plus précise des chromosomes pourra être apportée en réalisant un marquage des chromosomes en bandes RBG et CBG afin de lever les ambiguïtés sur la position des centromères des chromosomes de la gazelle leptocère.

Il serait également intéressant de réaliser une étude génomique utilisant des marqueurs moléculaires spécifiques afin de comparer les gazelles leptocère et de Cuvier et de déceler certains réarrangements chromosomiques. En effet, ces deux espèces ont des caryotypes ressemblants mais les données écologiques indiquent qu'il s'agit bien de deux espèces différentes.

Nous envisageons aussi de contribuer à la préservation de cette espèce en détectant les hybrides stériles par des marqueurs moléculaires.

Nous avons vu que l'évolution chromosomique chez les gazelles s'est réalisée essentiellement par des fusions centriques à partir d'un caryotype ancestral. Il serait intéressant de confirmer toutes les homologues déjà décrites dans les précédentes études, par des techniques de peinture chromosomique (Figure 29).



**Figure 29** : Métaphase partielle bovine sur laquelle s'est hybridée une sonde issue du chromosome 14 humain. Des homologies sont observées entre le chromosome 14 de l'Homme et les chromosomes 10 et 21 du bœuf.

En effet, des sondes constituées de séquences entières de chromosome bovin (ancestral) pourraient être hybridées sur les chromosomes de la gazelle *G. leptoceros loderi*. Ainsi, des régions de conservation précises pourraient être décrites et on pourrait localiser les éventuels réarrangements chromosomiques survenus au cours de l'évolution quand les gazelles ont divergé.

*RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES*

1. ABAIGAR T., CANO M. et BELBACHIR-BAZI A. **2009**. Station Brezina. Position 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 et ESCOS J. **1991**. Phenotypic and genetic characteristics affecting lifetime reproductive success in female Cuvier's, Dama and Dorcas gazelles. *J. Zool. Lond.* 223: 307-321.
3. 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.
4. BACCUS R., RYMAN N., SMITH M. H., REUTERWALL C., et CAMERON D. **1983**. Genetic variability and differentiation of large grazing mammals. *J Mamm*, 64:109-120.
5. BAKER ROBERT J. et BICKHAM JOHN W. **1986**. Speciation by monobrachial centric fusions. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA.* 83: 8245-8248.
6. BENIRSCHKE K. **1977**. Genetic management. *Int. Zoo Yearb.* 17: 50–60.
7. BENIRSCHKE K. et KUMAMOTO A.T. **1988**. Challenges of Artiodactyl Cytogenetics. *Chrom.* 2(45):1468-1478.
8. BICKMORE WA. et SUMNER AT. **1989**. Mammalian chromosome banding-an expression of genome organization. *Trends Genet.* 5(5):144-8.
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. de BOER P. et de JONG J.H. **1989**. Chromosome pairing and fertility in mice. In: Gillies CB, ed. *Fertility and Chromosome Pairing: Recent Studies in Plants and Animals*. Boca Raton: CRC Press, pp 37-76.
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. 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.
14. CHUREAU C., PRISSETTE M., BOURDET A., BARBE V., CATTOLICO L., JONES L., EGGEN A., AVNER P. et DURET L. **2002**. Comparative sequence analysis of the X-inactivation center region in mouse, human, and bovine. *Genome Research* 12, 894-908.

15. COMINGS D.E. **1978**. Mechanisms of chromosome banding and implications for chromosome structure. *Annu Rev Genet.* 12: 25-46.
16. CORBET G.B. **1978**. The Mammals of the Palaearctic Region: a taxonomic review. London and Ithaca, British Museum (Natural History) and Cornell University Press.
17. CORBET G.B. and J.E. HILL. **1986**. A World list of Mammalian Species. London, British Museum (Natural History).
18. CORBET G. et HILL J.E. **1991**. A World List of Mammalian Species. Oxford Univ. Press, Oxford.
19. CUVIER F. **1842**. Histoire naturelle des mammifères, avec des figures originales, coloriées, dessinées d'après des animaux vivants, publiée sous l'autorité de l'administration du muséum d'histoire naturelle. Tome septième. - pp. [1-2], Pl. Paris. (Belin).
20. DE SMET K. **1989**. Distribution and habitat choice of the larger mammals in Algeria with special reference to nature protection. Thèse de Doctorat. Gent, Rijks Universiteit Gent.
21. DI BERNARDINO D., HAYES H., FRIES R. et LONG S. **1990**. ISCDNA. International system for cytogenetic nomenclature of domestic animals. *Cytogenet Cell Genet* 53: 65-79.
22. DI MEO G.P., MOLTENI L., PERUCATTI A., DE GIOVANNI A., INCARNATO D., SUCCI G., SCHIBLER L., CRIBIU E.P. et IANNUZZI L. **2000**. Chromosomal characterization of three centric fusion translocations in cattle using G-, R- and C-banding and FISH technique. *Caryologia*, 53, 213-218.
23. DI MEO G.P., PERUCATTI A., FLORIOT S., HAYES H., SCHIBLER L., INCARNATO D., DI BERARDINO D., WILLIAMS J., CRIBIU E., EGGEN A. et IANNUZZI L. **2008**. An extended river buffalo (*Bubalus bubalis*, 2n=50) cytogenetic map: assignment of 68 autosomal loci by FISH-mapping and R-banding and comparison with human chromosomes. *Chrom. Res.* 16(6):827-37.
24. 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. *Chrom.* 98:174-180.
25. DRAGESCO-JOFFE A. **1993**. La Vie Sauvage au Sahara. Lausanne, Delachaux et Niestlé.
26. DUTRILLAUX B., DE GROUCHY J., FINAZ C. et LEJEUNE J. **1971**. Mise en évidence de la structure fine des chromosomes humains par digestion enzymatique. *Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D.* Aug 2; 273(5):587-588.

27. DUTRILLAUX B. **1973**. Nouveau système de marquage chromosomique: les bandes T. *Chromosoma*. 41 : 395-402.
28. DUTRILLAUX B. et COVIC M. **1974**. Factors influencing the heat denaturation of chromosomes. *Exp Cell Res*. 30;85(1):143-53.
29. DUTRILLAUX B. **1975**. Discontinued treatment with BudR and staining with acridine orange: observation of R- or Q- or intermediary banding *Chrom*. 52(3):261-73.
30. DUTRILLAUX B. et COUTURIER J. 1981. La pratique de l'analyse chromosomique. Masson Ed, Paris.
31. DRAGESCO-JOFFE A. **1993**. La Vie Sauvage au Sahara. Lausanne, Delachaux et Niestlé. 240 p.
32. DUPUY A. **1967**. Répartition actuelle des espèces menacées de l'Algérie. *Soc. Sci. Nat. et Physiques Maroc*. 47, 3-4: 355-384.
33. DYRENDAHL I. et GUSTAVSSON I. **1979**. Sexual functions, semen characteristics and fertility of bulls carrying the 1/29 chromosome translocation. *Hereditas* 90: 281-289.
34. EFFRON M., BOGART M.H., KUMAMOTO A.T. et BENIRSCHKE K. **1976** Chromosome studies in the mammalian subfamily *Antilopinae*. *Genetica* 46: 419-444.
35. FERGUSON-SMITH M.A. et PAGE B.M. **1973**. Pachytene analysis in a human reciprocal (10;11) translocation. *J. Med. Genet*. 10(3):282-7.
36. FOREJT J., GREGOROVA S. et GOETZ P. **1981**. XY pair associates with the synaptonemal complex of autosomal male-sterile translocations in pachytene spermatocytes of the mouse (*Mus musculus*). *Chrom*. 82: 41-53.
37. GABRIEL-ROBEZ O., RATOMPONIRINA C., DUTRILLAUX B., CARRE-PIGEON F. et RUMPLER Y. **1986**. Meiotic association between the XY chromosomes and the autosomal quadrivalent of a reciprocal translocation in two infertile men, 46,XY, t(19;22) and 46,XY, t(17;21). *Cytogenet Cell Genet* 43: 154-160.
38. GALLAGHER D.S. et WOMACK J.E. **1992**. Chromosome conservation in the Bovidae. *J. Hered*. 83(4):287-298.
39. GALLAGHER D.S., DERR J.N. et WOMACK J.E. **1994**. Chromosome conservation among the advanced pecorans and determination of the primitive bovid karyotype. *J Hered* 85: 204-210.
40. GALLAGHER D.S., DAVIS S.K., DE DONATO M., BURZLAFF J.D., WOMACK J.E., TAYLOR J.F. et KUMAMOTO A. T. **1998**. A karyotypic analysis of nilgai, *Boselaphus tragocamelus* (Artiodactyla: Bovidae). *Chrom. Res*. 6:505-513.
41. GATESY J., YELON D., DESALLE R. et VRBA E.S. **1992**. Phylogeny of the Bovidae based on mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Mol. Biol. Evol.*, 9, 433-446.

42. GAUTIER M., HAYES H., TAOURIT S., LAURENT P. et EGGEN A. **2001**. Assignment of eight additional genes from human chromosome 11 to bovine chromosomes 15 and 29: refinement of the comparative map. *Cytogenet Cell Genet* 93, 60-64.
43. GAUTIER M., HAYES H., TAOURIT S., LAURENT P. et EGGEN A. **2001**. Syntenic assignment of sixteen genes from the long arm of human chromosome 10 to bovine chromosomes 26 and 28: refinement of the comparative map. *Chromosome Research* 9, 617-621.
44. 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.
45. GENTRY A.W. **1966**. Fossil Antilopini of east Africa. *Bulletin British Museum (natural History)*, 12, 1-106.
46. GENTRY A.W. **1992**. The subfamilies and tribes of the family Bovidae. *Mammal Rev.* 22:1-32.
47. GEORGIADIS N., KAT P., OKETCH H. et PATTON J. **1990**. Allozyme divergence within the Bovidae. *Evolution* 44: 2135–2149.
48. GROVES, C.P. **1969**. On the smaller gazelles of the genus *Gazella* de Blainville, 1816. *Zeitschrift für Säugetierkunde*. 34: 38 60.
49. GROVES, C.P. **1985**. An introduction to the gazelles. *Chinkara*, 1, 4-16.
50. GROVES, C.P. **1988**. A catalogue of the genus *Gazella*. Pp 193-198 in A. DIXON & D. JONES, editors. *Conservation and biology of desert antelopes*. London, Christopher HELM.
51. GUSTAVSSON I. et ROCKBORN G. **1964**. Chromosome abnormality in three of lymphatic leukaemia in cattle. *Nature*. 29: 203-990.
52. GRZIMEK B. **1968**. “Grzimek’s Tierleben, Enzyklopedie des Tierreiches,” Kindler Verlag, Zurich.
53. HALTENORTH T. et DILLER H. **1988**. “A Field Guide to the Mammals of Africa Including Madagascar,” Collins, London.
54. HAYES H., DI BERNARDINO D., FRIES R. et LONG S. **1990**. ISCDNA. International system for cytogenetic nomenclature of domestic animals. *Cytogenet Cell Genet* 53: 65-79.
55. HAYES H. **1993**. Analyse caryotypique et cartographie génique comparées chez les trois principaux bovidés domestiques, le bœuf (*Bos taurus* L.), le mouton (*Ovis aries* L.) et la chèvre (*Capra hircus* L.). Thèse de Doctorat. Université Paris. 187p.

56. HAYES H., ELDUQUE C., GAUTIER M., SCHIBLER L., CRIBIU E. et EGGEN A. **2003**. Gene mapping progress in cattle and updated comparative map with man, mouse, rat and pig. *Cytogenet. Gen. Res.* 102 : 16-24.
57. HEIM de BALSAC H. **1928**. Notes sur la présence et la répartition de quelques grands mammifères dans le sud-Oranais et le Maroc oriental. *Revue française de Mammologie* 1: 83-92.
58. HEIM de BALSAC, H. **1936**. Biogéographie des mammifères et des oiseaux de l'Afrique du Nord. *Bull. Biologique de France et de Belgique*. Suppl. 21.
59. HSU T.C. **1952**. Mammalian chromosomes in vitro. The karyotype of man. *J. Hered.* 43:167-172.
60. HOLMQUIST G., GRAY M., PORTER T., et JORDAN J. **1982**. Characterization of Giemsa dark and light-band DNA. *Cell*. 31:121-129.
61. HOLMQUIST GP. **1989**. Evolution of chromosome bands: molecular ecology of noncoding DNA. *J Mol Evol.* 28(6):469-86.
62. 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.
63. IANNUZZI L., DI MEO G.P., PERUCATTI A., INCARNATO D., SCHIBLER L. et CRIBIU E.P. **2000**. Comparative FISH mapping of bovid X chromosomes reveals homologies and divergences between the subfamilies Bovinae and Caprinae. *Cytogenet. Cell Genet.*, 89, 171-176.
64. 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.
65. IUCN. **2007**. Red list of threatened animals. IUCN, Gland, Switzerland.
66. JOLEAUD L. 1929. Etude de géographie zoologique sur la Berbérie, les ruminants. V. Les gazelles. *Bull. Soc. Zool. de France* 59: 438-456.
67. KALINOWSKI S.T., HEDRICK P.W. et MILLER P.S. **2000**. Inbreeding Depression in the Speke's Gazelle Captive Breeding Program. *Conservation Biology*, 14(5), 1375-1384.
68. KACEM S.B.H., MÜLLER H.-P. et WIESNER H. **1994**. Gestion de la faune sauvage et des parcs nationaux en Tunisie. Réintroduction, gestion et aménagement. Eschborn, GTZ.

69. KAREM A., KSANTINI M., SCHOENENBERGER A. et WAIBEL T. **1993**. Contribution à la régénération de la végétation dans les parcs nationaux en Tunisie aride. Eschborn, GTZ.
70. KHATTABI K. et MALLON D.P. **1997**. Libyan Arab Jamahiriya. Draft of Algerian chapter prepared for D.P. Mallon and S. Kingswood, editors. *in press*. Antelopes. Global survey and regional action plans. Part 4. North Africa and the Middle East. Gland, IUCN.
71. KINGDON J. **1997**. The Kingdon Field Guide to African Mammals. Academic Press, Harcourt Brace & Co., New York, NY, USA.
72. KINGSWOOD S.C. et KUMAMOTO A.T. **1988**. Research and management of Arabian Sand Gazelle in the USA. In Dixon A. and Jones D (eds) Conservation and biology of desert antelopes. London, C.Helm. pp 212-226.
73. KINGSWOOD S.C., KUMAMOTO A.T., SUDMAN P.D., FLETCHER K.C. et GREENBAUM, I.F. **1994**. Meiosis in chromosomally heteromorphic goitered gazelle, *Gazella subgutturosa* (Artiodactyla, Bovidae). *Chrom. Res.*2:37-46.
74. KOWALSKI K. et RZEBIK-KOWALSKA B. **1991**. Mammals of Algeria. Wroclaw, Polish Academy of Sciences.
75. 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.
76. KUMAMOTO A.T. et BOGART M.H. **1984**. The Chromosomes of Cuvier's gazelle. In Ryder O.A. and Byrd M.L. (eds) One Medicine. Berlin, Springer Verlag. Pp 101-10.
77. 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.
78. LADJALI K., TIXIER-BOICHARD M. et GIBIU E.P. **1995**. High resolution chromosome preparations for G and R Banding in *Gallus domesticus*. *Journal of heredity* 86: 136-139.
79. LADJALI-MOHAMMEDI K., GRAPIN-BOTTON A., BONNIN A. et Le DOUARIN N. **2001**. Distribution of HOX gene in the chicken genome reveals a new segment of conservation between human and chicken. *Cytogenet. Cell Genet.* 92: 157-161.
80. LAVAUDEN L. **1926**. Les vertébrés du Sahara. Tunis, Albert Guénard.
81. LE BERRE M. 1989. Dynamique de l'occupation de l'espace saharien par les vertébrés aquatiques et terrestres. Thèse Doc. Es Sci., Univ. Lyon 1, 2 vol., 414 pp., 304 pp.
82. LE BERRE M. **1990**. Faune du Sahara, Terres Africaines. Lechevalier-R.Chabaud.

83. LE CUZIAT J., LACROIX F., ROCHE P., VIDAL E., MÉDAIL F., ORHANT N. et BÉRANGER P.M. **2005**. Landscape and human influences on the distribution of the endangered North African Houbara bustard in Eastern morocco. *Animal conservation*. 8 (2): 143-152.
84. LE HOUEROU H.N. **1986**. The desert and arid zones of northern Africa. Pp 101-147 in M. Evenari, I. Noy-Meir and D.W. Goodall, editors. Hot deserts and arid shrublands, B. Ecosystems of the world 12B. Amsterdam, Elsevier.
85. LONG S.E. **1988**. Segregation patterns and fertility of domestic mammals with chromosome translocations. In: Daniel A, ed. *The Cytogenetics of Mammalian Autosomal Rearrangements*. New York: Alan R. Liss, pp 383-396.
86. LUCIANI J.M., MORAZZANI M.R. et STAHL A. **1975**. Identification of pachytene bivalents in human male meiosis using G-banding technique. *Chrom*. 52: 275-282.
87. 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.
88. MALLON M. et KINGSWOOD S.C. **2001**. Antelopes - Global Survey and Regional Action Plans, Part 4: North Africa, the Middle East, and Asia. IUCN, Gland, Switzerland.
89. MAYR E. 1970. Populations, species and evolution. Cambridge: Harvard University Press.
90. 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.
91. MUZZOLINI A., 2000. Livestock in Saharan Rock Art, pp. 87-110. in: Blench R.M. & MacDonald K.C., The origin and development of African Livestock :archaeology,genetics, linguistics and ethnography. UCL Press, London, 546 pp.
92. NEVO E., BEILES A. et BEN-SHLOMO R. **1984**. The evolutionary significance of genetic diversity: Ecological, demographic and life story correlates. In Mani G.S. (ed) Evolutionary dynamics of genetic diversity. New york, Springer-Verlag. pp 13-213.
93. NEWBY J.E. **1990**. The slaughter of Sahelian wildlife by Arab royalty. *Oryx* 24: 6-8.
94. OLMEDO G., ESCOS J. et GOMENDIO M. **1985**. Reproduction de *Gazella cuvieri* en captivité. *Mammalia*. 49: 501-507.
95. O'REGAN B.P. **1984**. Gazelles and dwarf antelopes. In "Hoofed Mammals (All the World's Animals)" (MacDonald, Ed.), pp. 134-141, Torstar, New York.
96. PAVY J.M. **1996**. Mali. Conservation project and informal report. Office memorandum to L. McGinnis. New York, World Bank.

97. PERRY P. et WOLF S. **1974**. New Giemsa method for differential staining of sister chromatids. *Nature*. 261: 156-158.
98. PINTON P., SCHIBLER L., CRIBIU E.P., GELLIN J. et YERLE M., **2000**. Localization of 113 anchor loci in pigs: improvement of the comparative map for humans, pigs, and goats. *Mammalian Genome*, 11, 306-315.
99. PIUMI F., SCHIBLER L., VAIMAN D., OUSTRY A. et CRIBIU E.P. **1998**. Comparative cytogenetic mapping reveals chromosome rearrangements between the X chromosomes of two closely related mammalian species (cattle and goats). *Cytogenet and Cell Genet*, 81, 36-41.
100. POPESCU C.P. **1989**. Cytogénétique des mammifères d'élevage. Publication INRA. 114p.
101. READ B. et FRUEH R.J. **1980**. Management and breeding of Speke's gazelle. *Int. Zoo Yearbook*. 20: 99-104.
102. REBHOLZ W. et HARLEY E. **1999**. Phylogenetic relationships in the bovid subfamily Antilopinae based on mitochondrial DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 12:87-94.
103. REED K.M., SITES J.W. JR et GREENBAUM I.F. **1992**. Synapsis, recombination, and meiotic segregation in the mesquite lizard, *Sceloporus grammicus*, complex II. Fission heteromorphism of the FM2 cytotype and evolution of chromosome 2. *Cytogenet Cell Genet* 61: 46-54.
104. RENSHAW H., ECKBLAD P., EVERSON D.O., TASSINARI P.D. et AMOS D. **1977**. Ontogeny of immunocompetence in cattle: evaluation of phytomitogen induced *in vitro* bovine foetal lymphocyte blastogenesis, using a whole blood culture technique. *Am .J. Vet. Res.* 38: 1141-1150.
105. SALEH M.A. **1987**. The decline of gazelles in Egypt. *Biological Conservation* 39: 83-95.
106. SALEH M.A. **1997**. Egypt. Draft of Egyptian chapter prepared for D.P. Mallon and S. Kingswood, editors. in press. Antelopes. Global survey and regional action plans. Part 4. North Africa and the Middle East. Gland, IUCN.
107. SAUNIER K., BARREAUD 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.
108. SCLATER P.L. et THOMAS O. **1898**. The book of antelopes. III: 137-149. London, R.H. Porter.

109. 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.
110. SCHIBLER L., ROIG A., MAHÉ M.F., SAVE J.C., GAUTIER M., TAOURIT S., BOICHARD D., EGGEN A. et CRIBIU E.P. **2004**. A first generation bovine BAC-based physical map. *Genet. Sel. Evol.* 36, 105-22.
111. SEABRIGHT M. **1971**. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* II: 971-972.
112. SETTERFIELD L.A., MAHADEVAIAH S. et MITTWOCH U. **1988**. Chromosome pairing and germ cell loss in male and female mice carrying a reciprocal translocation. *J Reprod Fertil* 82: 369- 379.
113. SETZER H.W. **1957**. A review of Libyan mammals. *J. Egyptian Public Health Ass.* 32: 41-82.
114. SHARON N. et LIS H. **1989**. Lectins as cell recognition molecules. *Science*. 46: 227-34.
115. SITES J.W. JR et MORITZ C. **1987**. Chromosomal evolution and speciation revisited. *Syst Zool* 36: 153-174.
116. SPINAGE C. **1986**. “The Natural History of Antelopes,” Croom Helm, London.
117. STRAZZULLO M., ROSSETTI C., FUSCO G., CAMPANILE C., VECCHIO D., CAMPANILE G., PERUCATTI A., DI MEO G.P., FILIPPINI F., EGGEN A., FERRARA L., D'ESPOSITO M. **2010**. Genomic characterization and chromosomal mapping of 5 river buffalo skeletal muscle differentiation master genes. *Cytogenet. Gen. Res.*128(4):221-7.
118. SUMMER A.T. **1972**. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell. Res.* 75: 304-305.
119. TEMPLETON A.R et READ B. **1984**. Factors eliminating inbreeding depression in a captive herd of Speke's gazelle. *Zoo Biology*. 3: 177-199.
120. TEMPLETON A.R., DAVIS S.K. et READ B. **1987**. Genetic variability in a captive herd of Speke's gazelle. *Zoo Biology*. 6: 305-313.
121. TJIO J.H. et LEVAN A. **1956**. The chromosome number of man. *Hered.* 42: 1-6.
122. TROUESSART E. **1905**. La faune des mammifères de l'Algérie, du Maroc et de la Tunisie. *Causeries Scientifiques de la Société Zoologique de France* 1: 353-410.

123. VAIMAN D., SCHIBLER L., OUSTRY-VAIMAN A., PAILHOUX E., GOLDAMMER T., STEVANOVIC M., FURET J.P., SCHWERIN M., COTINOT C., FELLOUS M. et CRIBIU E.P. **1999**. High-resolution human/goat comparative map of the goat Polled/Intersex Syndrome (PIS): The human homologue is contained in a human Yac from HSA3q23. *Genomics*, 56, 31-39.
124. VASSART M., GRANJON L. et GRETH A. 1991. Genetic variability in the Arabian Oryx. *Zoo Biology*, 10, 399-408.
125. VASSART M., GRETH A., DURAND V. et CRIBIU EP. **1993**. Chromosomal polymorphism in sand gazelles (*Gazella subgutturosa marica*). *J Hered.* 84: 478-481.
126. VASSART M. **1994**. Évolution et diversité génétique chez les gazelles (gazella): apports de l'électrophorèse des protéines, de la cytogénétique et des microsatellites. Thèse de Doctorat.
127. VASSART M., SÉGUÉLA A. et HAYES H. **1995**. Chromosomal evolution in gazelles. *J. Hered.* 86(3):216-27.
128. WALTHER F., MUNGALL E. et GRAU G. **1983**. "Gazelles and Their Relatives, a Study in Territorial Behavior," Noyes, Park Ridge, NJ.
129. WATSON J. D. , BAKER T. A. , BELL S. P. , GANN R. , LEVINE M. et LOSICK R. **1987**. Molecular Biology of the Gene 3th ed.
130. WILSON D.E. et REEDER D.M. 1993. Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference. Second Edition. Smithsonian Institution Press, Washington and London.
131. WURSTER DH. et BENIRSCHKE K. **1968**. Chromosome studies in the superfamily Bovoidea. *Chrom.* 25(2):152-71.
132. WURSTER D.H. **1972**. Sex chromosome translocations and karyotypes in bovid tribes. *Cytogenetics.* 11: 197-207.
133. YOM-TOV Y., MENDELSSOHN H. et GROVES C. **1995**. *Gazella dorcas*. *Mammalian Species.* 491: 1-6.
134. YUNIS J.J. et PRAKASH O. **1982**. The origin of man: a chromosomal pictorial legacy. *Science.* 215: 1525-1530.
135. 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.

## ABSTRACT

The Slender-horned Gazelle *Gazella leptoceros* called Rhim, is typically associated with the habitat of sand dunes, especially the extensive dunes of Great Western Erg and Great Eastern Erg. In recent years, the presence of this gazelle has been reported in four North African countries (Egypt, Libya, Tunisia and Algeria). The slender-horned gazelle is classified as endangered by the IUCN.

In order to contribute to its conservation, a study of the Slender-horned Gazelle's genome is carried to detect possible chromosomal abnormalities. Genetic comparison with other antelope's species as dorcas gazelle and Cuvier's gazelle are made. An enclosure of livestock of Slender-horned Gazelle and dorcas gazelle is made as part of a project with la Direction Générale des Forêts.

We propose for the first time in Algeria, the GTG band karyotype of the Slender-horned Gazelle, prepared 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.

Comparison of the chromosomes of Slender-horned Gazelle *Gazella leptoceros loderi* with the karyotype of Cuvier's Gazelle, already studied, and based on GTG bands similarity, revealed homologies between these species. However, comparison revealed homologies only with chromosome 3. Slender-horned Gazelle and dorcas gazelle's chromosomes are clearly different and appear to have diverged after chromosomal rearrangements which occurred during evolution.

**Key words:** Slender-horned Gazelle, *Gazella leptoceros loderi*, endangered species, Genome, lymphocytes, culture synchronization, karyotype, high resolution chromosomes, GTG bands.

## ملخص

غزال الريم *leptoceros gazella loderi* نوع ساحلي صحراوي مهدد بالانقراض في الجزائر. يعتبر هذا النوع نموذجي متعلق بموائل الكثبان الرملية خاصة كثبان الارح الشرقي و الارح الغربي. خلال السنوات الاخيرة، تم تقرير وجود هذا الغزال سوى في اربعة بلدان في افريقيا الشمالية و هي مصر، ليبيا، تونس و الجزائر. لقد سجل غزال الريم ضمن برنامج الاكثار لمختلف انواع الحيوانات الساحلية و الصحراوية المهددة بالانقراض في الجزائر و المقترحة من طرف الوكالة الجزائرية للمحافظة على الطبيعة. بهدف المساهمة في الحفاظ على غزال الريم، تم المباشرة في دراسة جينية بهدف الكشف على شذوذ صبغية و القيام بمقارنة جينية مع اصناف اخرى من الطباء مثل غزال الدوركاس و غزال كوفيير. انجز هذا المشروع بمساهمة الادارة العامة للغابات التي انشأت في ولاية البيض حضيرة مخصصة للتربية النصف اسرية لغزال الريم و الدوركاس. نقترح للمرة الاولى في الجزائر، الطابع النووي ذو دقة عالية لغزال الريم بالاشرطة مورفولوجية GTG و المتحصل عليه بعد استنبات للخلايا للمفاوية لانثى فتيبة. لقد انجزت مزامانات للدورة الخلوية مع ادراج ADN النظير البنيوي التيميديين خلال تضاعف الحمض النووي و مما سمح لنا الحصول على صبغيات ممدودة ذو انحلال رفيع. بعد المقارنة الفردية لصبغيات غزال الريم و غزال كوفيير، تم ابراز عدم وجود اي فرق بين الطابعان النوويان لدى الصنفين. على عكس ذلك مقارنة صبغيات غزال الريم و الدوركاس ابرزت وجود تشابه مورفولوجي بين الثنائيات الثلاث الاولى فقط. اما باقي الصبغيات فهي جد مختلفة. يبدو أن مصدر هذا التفرع نتج عن مستجدات صبغية حدثت خلال تطور الطباء.

## كلمات المفتاح

غزال الريم - *Gazella eptoceros loderi* - نوع مهدد بالانقراض - استنبات للخلايا للمفاوية - صبغيات - اشرطة GTG