

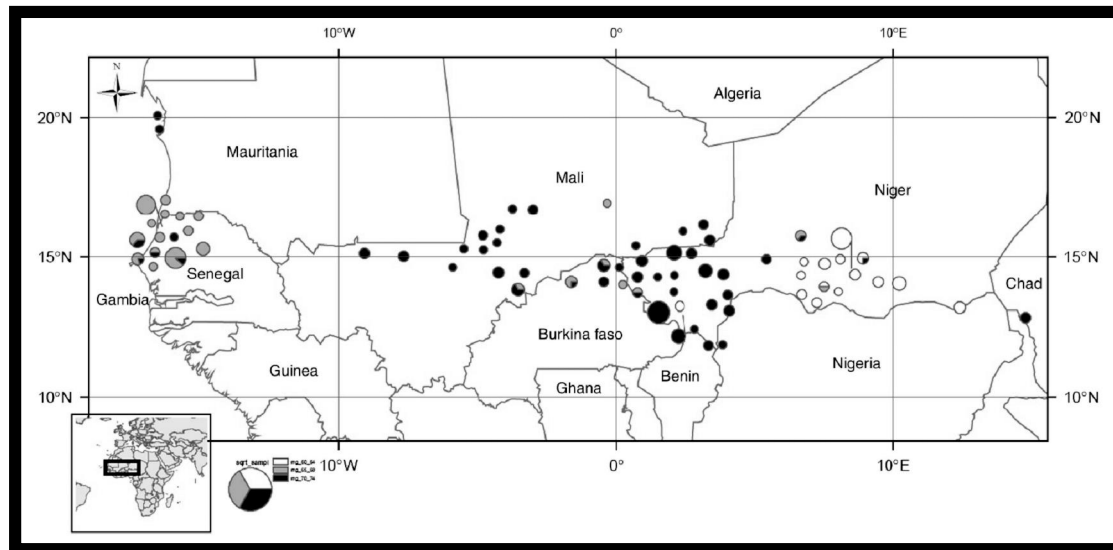


Etude génétique d'une espèce de rongeur polymorphe
et invasive au Sénégal (*Gerbillus nigeriae*):
Analyse de populations par Marqueurs microsatellites

Thiam & coll.

Etat des lieux

” Biogéographie

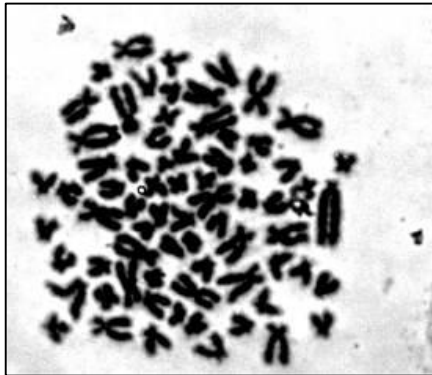


Espèce typiquement sahélienne
Connue du Sénégal au Niger

Détails avec Karmadine & Philippe

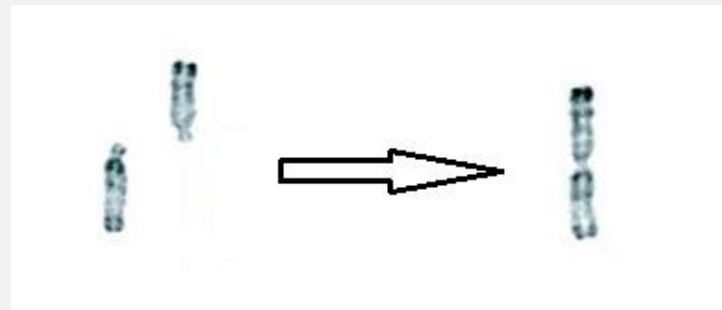
Etat des lieux

” Polymorphisme (détails avec Philippe)



Nombre de chromosome (60 à 74)
Bcp & de petite taille
Caryotype pas facile
Métaphase souvent incomplète
Superposition des chromosomes

2 chx acrocentriques
 $2N=4$
 $Nfa=8$

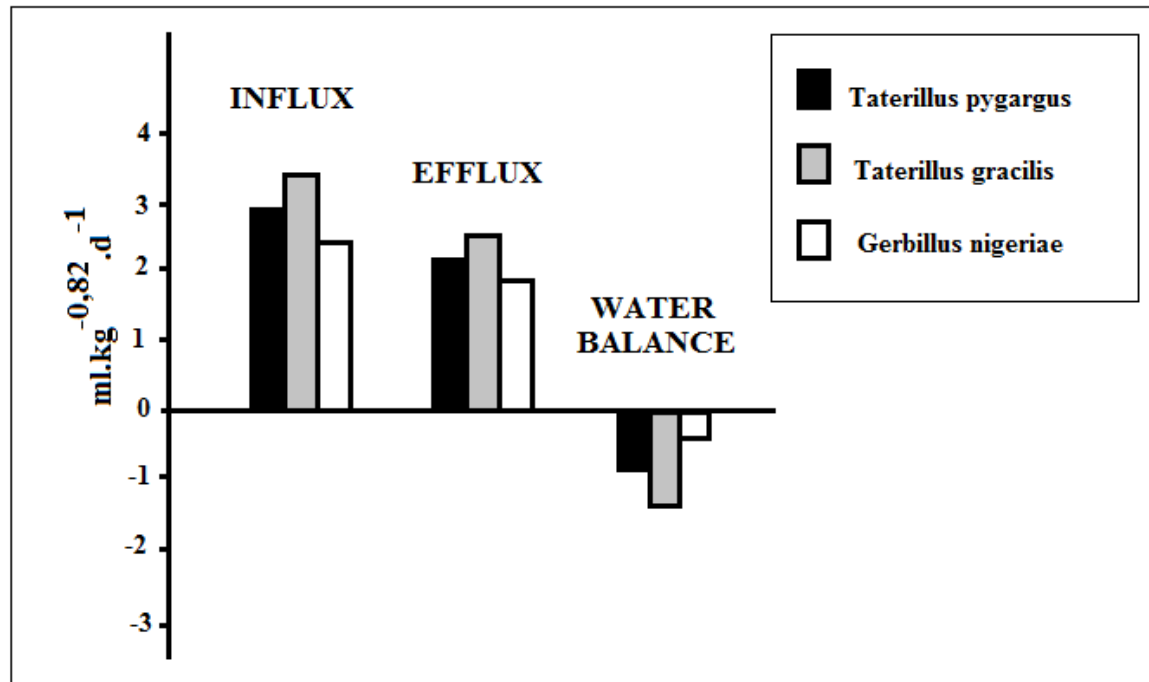


1 chx (sub) métacentrique
 $2N=2$
 $Nfa=8$

Fusion centrique ou
Robertsonienne

Etat des lieux

“ Adaptation au manque d’eau



Restriction hydrique sévère

G.n. plus économe
que les natives

Etat des lieux

” Signalée au Sénégal en 1999



Un missionnaire

Parrain du problème



Une localité.

« Origine » des hostilités

200 kms en 15 ans environ
(V = 14 kms par an)



Objectifs

- Etudier la diversité génétique de *G. nigeriae* au Sénégal .
- Caractériser l'ensemble des paramètres de cette variabilité.
- Mesurer la proximité génétique entre pop.
- Comprendre l'origine (porte d'entrée) de l'invasion de *G. nigeriae* au Sénégal.

” Echantillonnage



Pièges de type BTS & Chasse nocturne

215 individus
10 Localités

Localités	Nb. d'individus
Mbarigo Lampsar	30
MO6bis	16
Vélingara Ferlo	20
Vidou Tiengoli	21
Tal Tal	12
Pék'h Tall	29
Téssékéré	20
Labgar	20
Dahra Djolof	29
Ndiayéne Ferlo	18

Pourquoi pas à Richard.Toll?

“ Extraction ADN

Le matériel biologique de base est le foie.
Les tissus sont récupérés dans de l'alcool 90°C
sur le terrain suite à l'autopsie de l'animal.

Solution avec des petites perles.
Protection de l'ADN pendant le chauffage



20 μ l de Protéinase K, 200 μ l de Chelex 10%
Digestion à 95 °C pendant 10h
Bien centrifuger le produit de l'extraction
Ne pas pipeter les perles

“ Amplification des microsatellites par PCR

Les condition d'amplification sont les suivantes:

“Une dénaturation à 95°C pendant 15 min, suivie de 35 cycles comprenant chacun 3 phases:

“Une dénaturation à 94°C pendant 30 min

“Une phase d'hybridation à la température de 60°C pendant 90 sec

“Une élongation à 72°C pendant 1 min

“Une élongation finale à 60°C pendant 30 min



Le volume réactionnel utilisé pour chaque échantillon est de 10 µl dont:

“2µl de produit d'extraction (ADN)

“5µl de kit multiplex

“0.02µl d'amorce F

“0.02µl d'amorce R

“4.96µl de H2O milliQ



“ Loci microsatellites amplifiés & Séquençage

Dans le cadre de ce travail, nous avons initialement 732 loci microsat.
 Nous en avons testés 80 en les amplifiant par PCR.
 12 ont été finalement retenus .

Amplification avec 3 PCR (1a, 1b et 2)

2 Runs (1 et 2)

Séquenceur automatique ABI 3130

Marqueur de taille GenScan 500LIZ

Analyse avec GeneMapper v.3.7



Locus	Repeat motif	Primer sequence 5'-3'	Size (bp)
GN21	(AC) ₇	AGAAATACGCTCCTGCCTCA TTTCAGCCGAGAAGTCAGAAA	179
GN24	(AC) ₆	TCAGCCTCAGAAGCAAGGT CCATCCTCAGTCATGGAATTT	222
GN27	(AC) ₁₆	ACCAAGCATGTATTGGGCAG GGATTCGACACATAGTTCCTGA	105
GN29	(AC) ₁₁	AGCTGGATCTTGACGTAGCG GGTTTGGTTCATCTGTTTGA	103
GN37	(AG) ₅	ACAGGTGTTTCCCTTTGA GACCTGACAGCAGAAGGGAG	135
GN62	(CA) ₅ GAC(AC) ₆	AGAGATTGGGGAATCCCCTG TCTTGTGCAACTATCATCAAGTCA	171
GN78	(AC) ₂ AG(CATG) ₂ (CA) ₁₁	CATGTTCCCACTTATCCTTTCA TGTGCGATATCAAGAGATCAAAA	118
GN01	(AC) ₉	GAGACGCACTAAATGGGTTCA TTCCCATTTCTCCACCATA	117
GN11	(AC) ₈	CTTGTCTTCAACCTCCACA CCATCACAGCATCTCATGGT	101
GN19	(AC) ₆	CATACTGATAAACTGCACATATCCC TGGGGATCCATTTCTCAGTG	105
GN48	(AG) ₈	TTGGCAGTTAAGTGAGTTGATGA CACAGGAACCGGAATAGAA	124
GN51	(AG) ₂	GCTAGTGTCTCTGAGAGGGG CAAGGCAATAGAAGGACCGA	131
Mean			



Matériel & Méthodes



” Méthodes statistiques et analyses moléculaires

Nous avons utilisé:

- GENEPOP 4.0 ,
- GENECLASS 2,
- MICROCHECKER,
- GENETIX,
- FSTAT

-Pour:

- Equilibre de Hardy Weinberg de la pop.
- Déséquilibre de liaison
- traçage Ibd
- Hétérozygotie (H_o & H_e)
- Détection des allèles nuls au niveau des loci
- Indice de fixation F_{st} ,
- Coefficient de consanguinité F_{is} ,
- Diversité allélique (R).

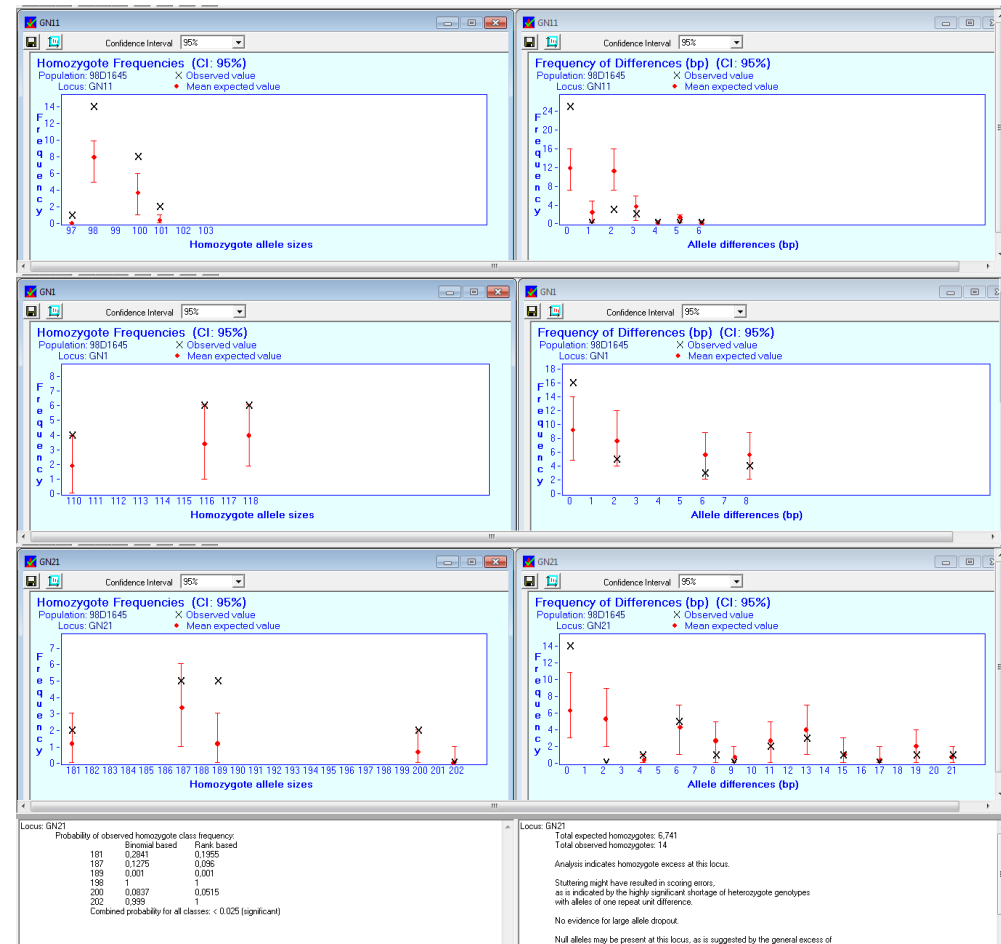
Résultats

” Test HW: déséquilibre de liaison entre loci

12 loci utilisés pour les analyses exploratoires

Indépendance entre les loci
(P value >> 0.05)

Présence d'allèles nuls pour 3 loci
(GN78, GN1, GN11). $H_o > H_e$
(Excès d'Hétérozygotes)
(délétion au niveau des amorces ou une mutation dans les séquences flanquantes du microsat).



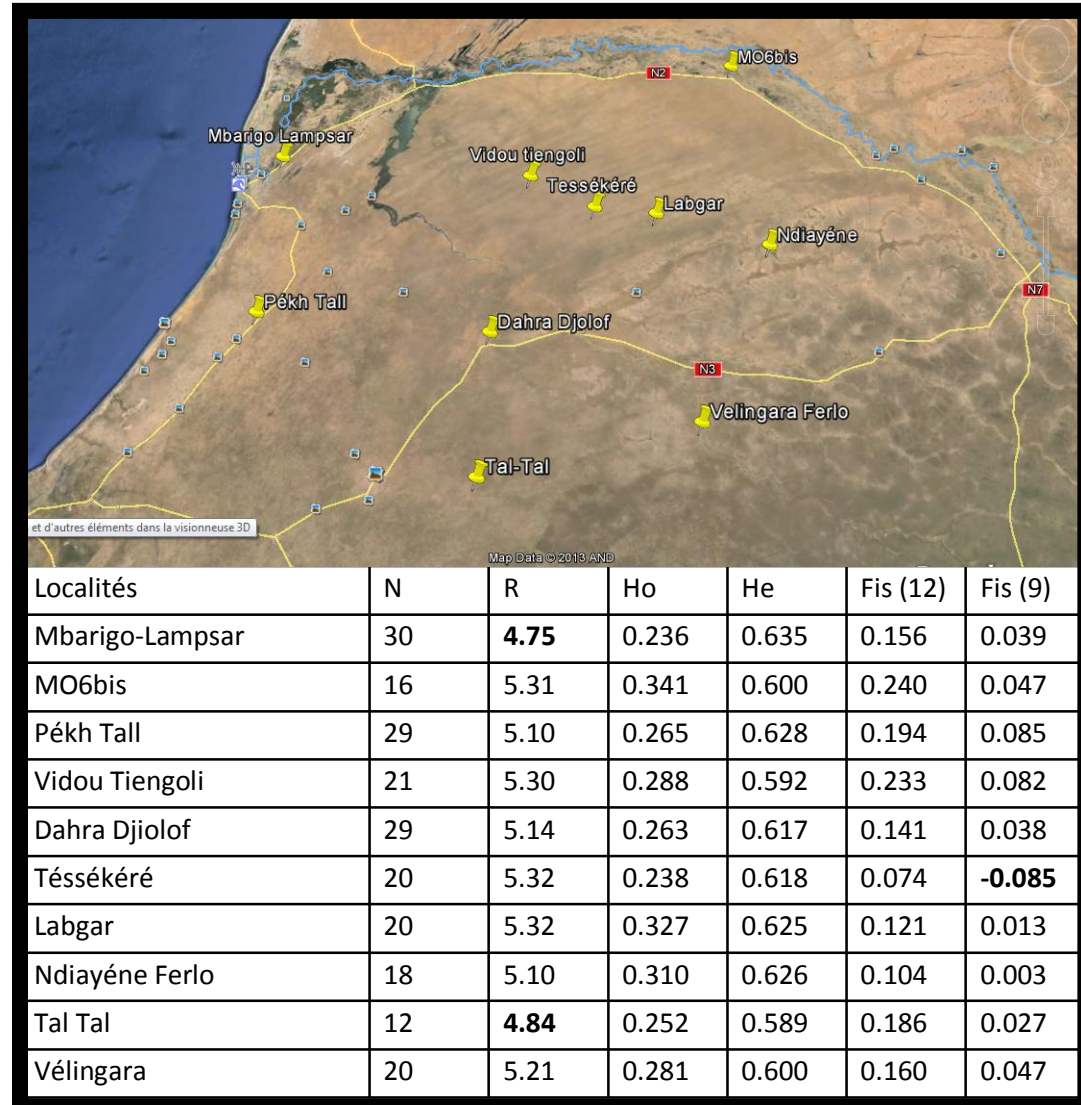
Résultats

DIVERSITE GENETIQUE GLOBAL

R presque identique partout
(Mbarigo & Tal Tal)
R moy = 5.13

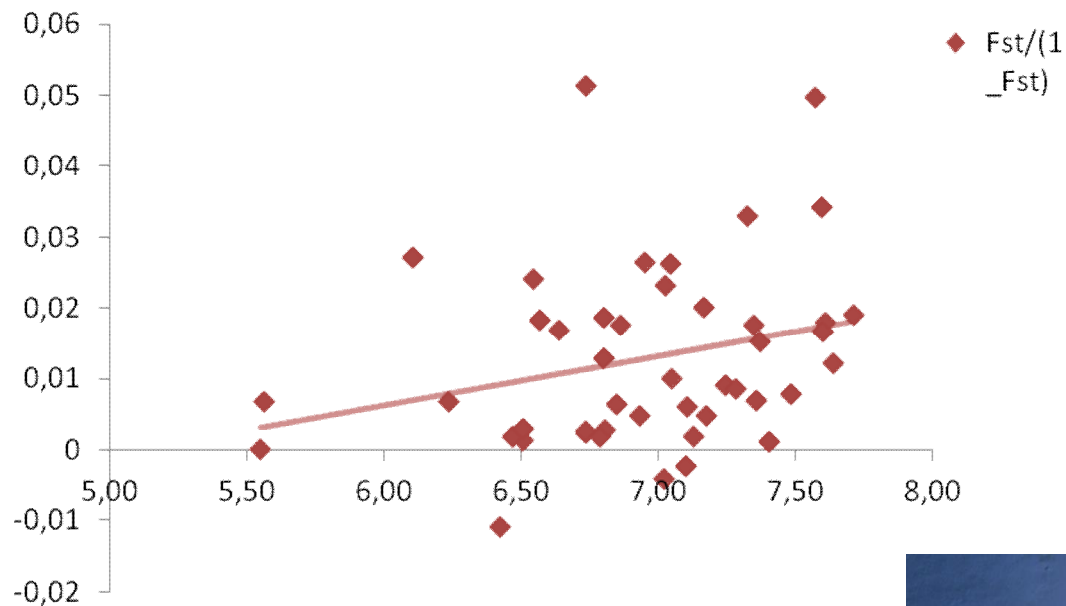
Fis très faible voire négatif à
Téssékéré → excès
hétérozygotes

He moy = 0.613
Fis moy = 0.16



Résultats

Tests de différenciation (Fst & IBD)



Fst moy= 0.03, P<0.02



Conclusions

?



Origine de l'invasion des Gerbilles du Sénégal:?

Les valeurs faibles du Fst traduisent une faible structuration génétique de la population de *G. nigeriae* au Sénégal avec un léger ibd. Ce qui laisse supposer une pop relativement ancienne