

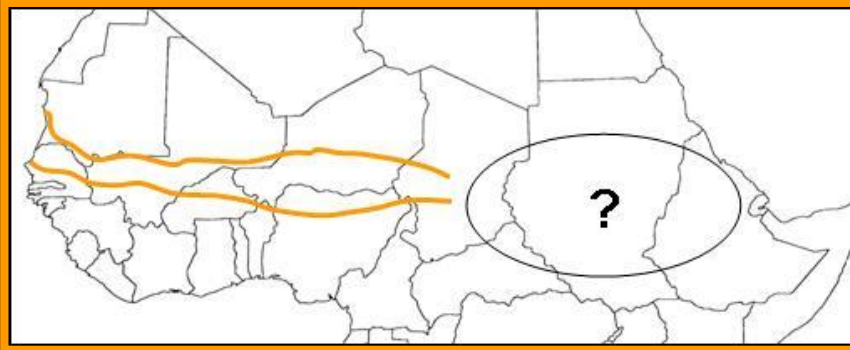
Polymorphisme chromosomique chez *Gerbillus nigeriae* :

Vers un moyen de reconnaître
ses chromosomes ?

Philippe GAUTHIER
Karmadine HIMA
Gauthier DOBIGNY



Gerbillus nigeriae : un « bio-indicateur sahélien » ravageur de cultures



DYNAMIQUE DES POPULATIONS

- populations cycliques
- très faible dispersion

PHYSIOLOGIE

- forte capacité de rétention d'eau

BIOGEOGRAPHIE

- sahélien strict
- colonisation vers le sud (Sénégal)



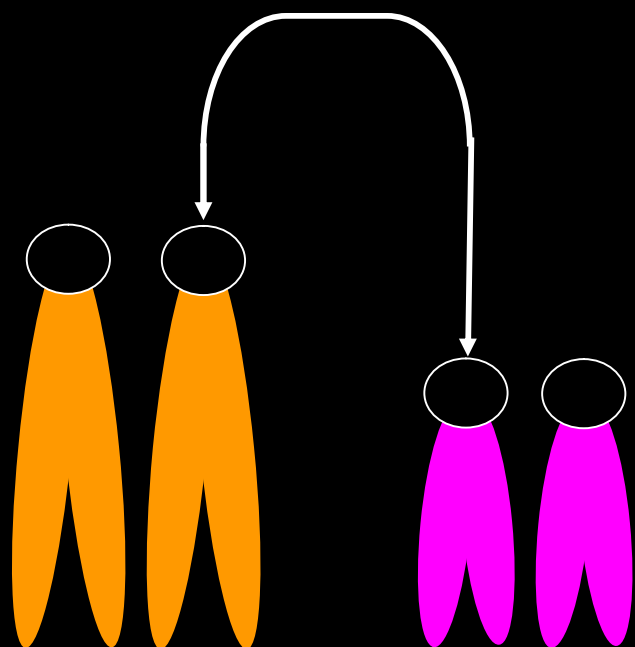
Bulletins phytosanitaires (DGPV, Niger) :

- entre 1995 et 2011, 149 attaques de rongeurs signalées sur céréales
- 57 communes rurales et 6 (des 8) régions du Niger concernées
- seuls 7 bulletins avec des données quantitatives
- entre 5-15% (N=2) et 30-60% (N=5) de semis détruits.



Gerbillus nigeriae : un polymorphisme chromosomique hors du commun

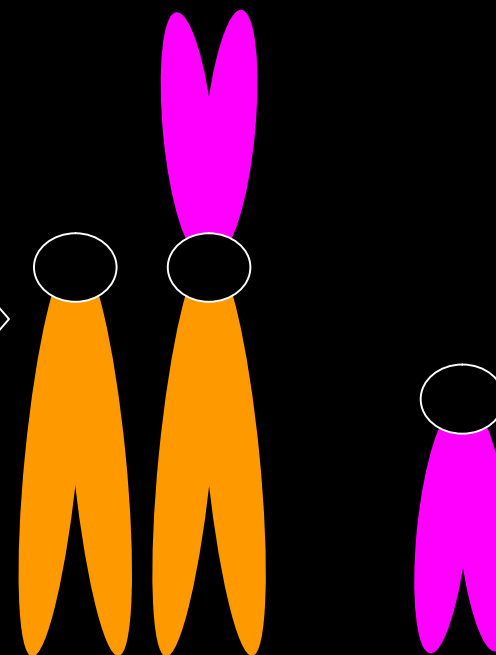
$2N=60-74$ chromosomes



4 chromosomes acrocentriques

$2N = 4$ / $NF = 8$

Fusion centrique
ou Robertsonienne



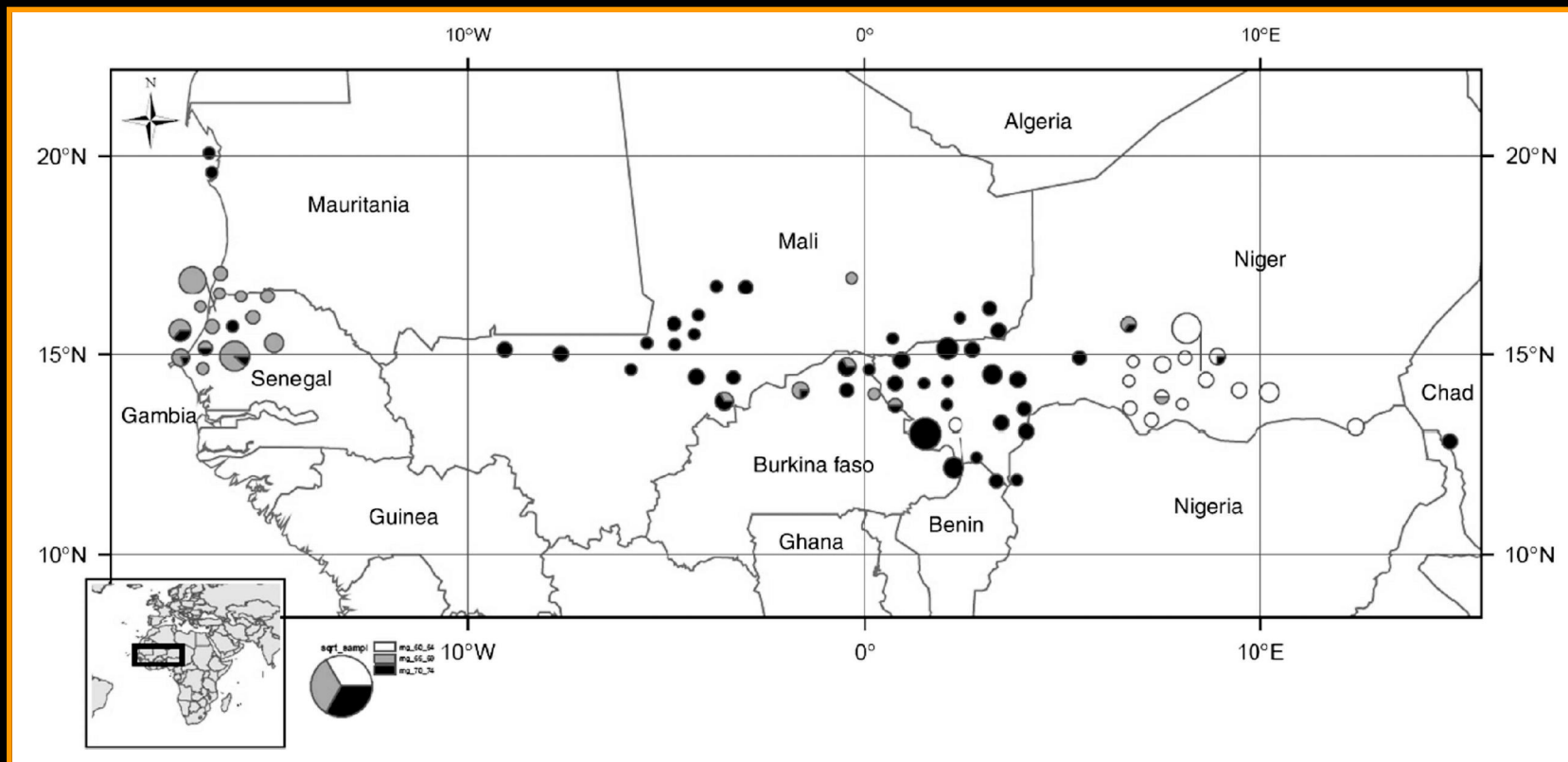
1 chromosome (sub) métacentrique
2 chromosomes acrocentriques

$2N = 3$ / $NF = 8$

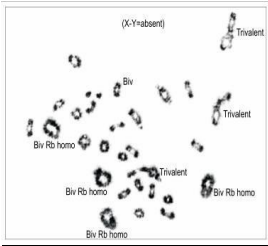


Gerbillus nigeriae : un polymorphisme chromosomique hors du commun

N = 378 individus caryotypés provenant de 79 localités



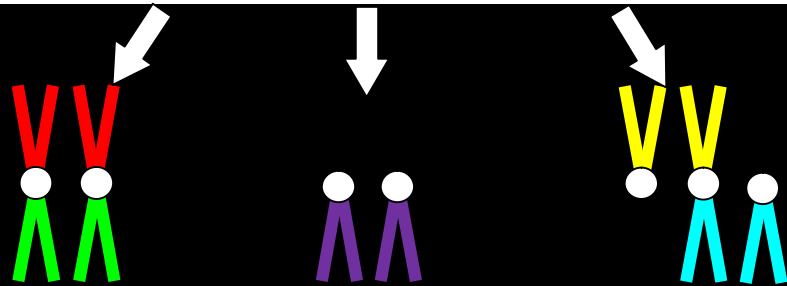
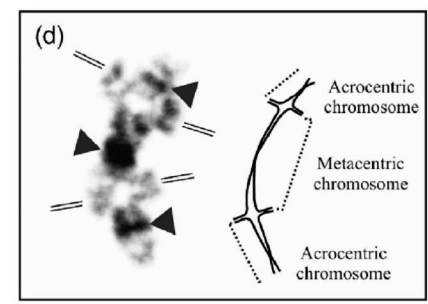
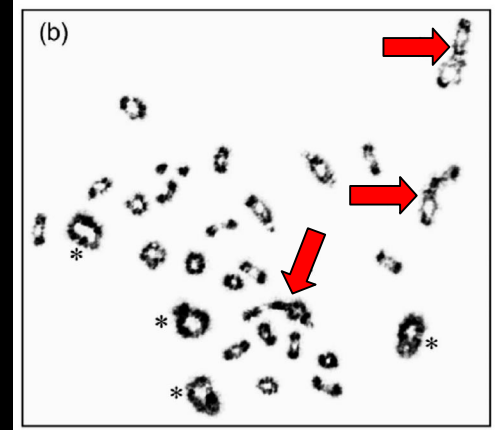
Sur toutes les localités avec au moins 3 individus → toujours au moins 2 valeurs de 2N
Beaucoup de valeurs de 2N impaires = hétérozygotes



La méiose

Table 2 Meiotic analysis of nine and five male specimens from Kollo ('KOL'; $2n=71-74$) and Gangara ('GAN'; $2n=60-63$), Niger, respectively

Specimen	$2n$	Meiotic data				Interpretation
		Nb bivalents Rb	Nb bivalents acrocentrics	Nb trivalents	Biv XY/XX	
KOL 109	73	0	34	1	1	One heterozygous Rb fusion
KOL 111	74	0	36	0	1	All acrocentric karyotype
KOL 113	73	0	34	1	1	One heterozygous Rb fusion
KOL 117	73	0	34	1	1	One heterozygous Rb fusion
KOL 125	73	0	34	1	1	One heterozygous Rb fusion
KOL 133	71	1	32	1	1	One homozygous Rb fusion One heterozygous Rb fusion
KOL 146	73	0	34	1	1	One heterozygous Rb fusion
KOL 154	74	0	36	0	1	All acrocentric karyotype
KOL 155	71	0	30	3	1	Three heterozygous Rb fusions
GAN 207	62	6	24	0	1	Six homozygous Rb fusions
GAN 216	63	4	22	3	1	Four homozygous Rb fusions Three heterozygous Rb fusions
GAN 238	61	5	23	1	1	Five homozygous Rb fusions One heterozygous Rb fusions
GAN 242	62	5	22	2	1	Four homozygous Rb fusions Two heterozygous Rb fusions
GAN 243	60	7	22	0	1	Seven homozygous Rb fusions



É Détermination du nombre de fusions homozygotes et/ou hétérozygotes → Hétérozygotes multiples
 É Excellente tolérance méiotique aux fusions centriques

Les structures impliquées dans les fusions centriques

ADN satellite **GERB-1** et **GERB-2**

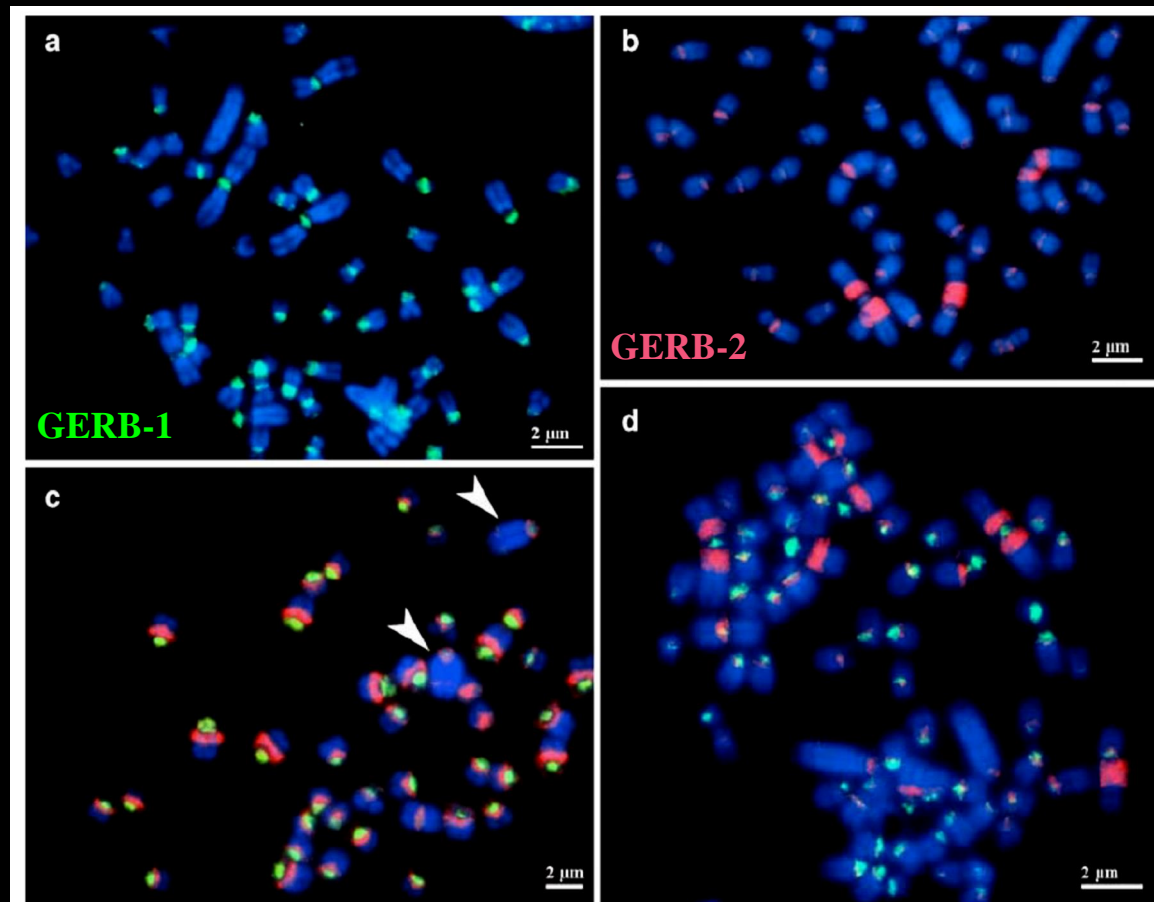
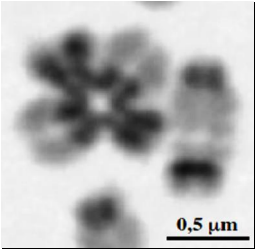
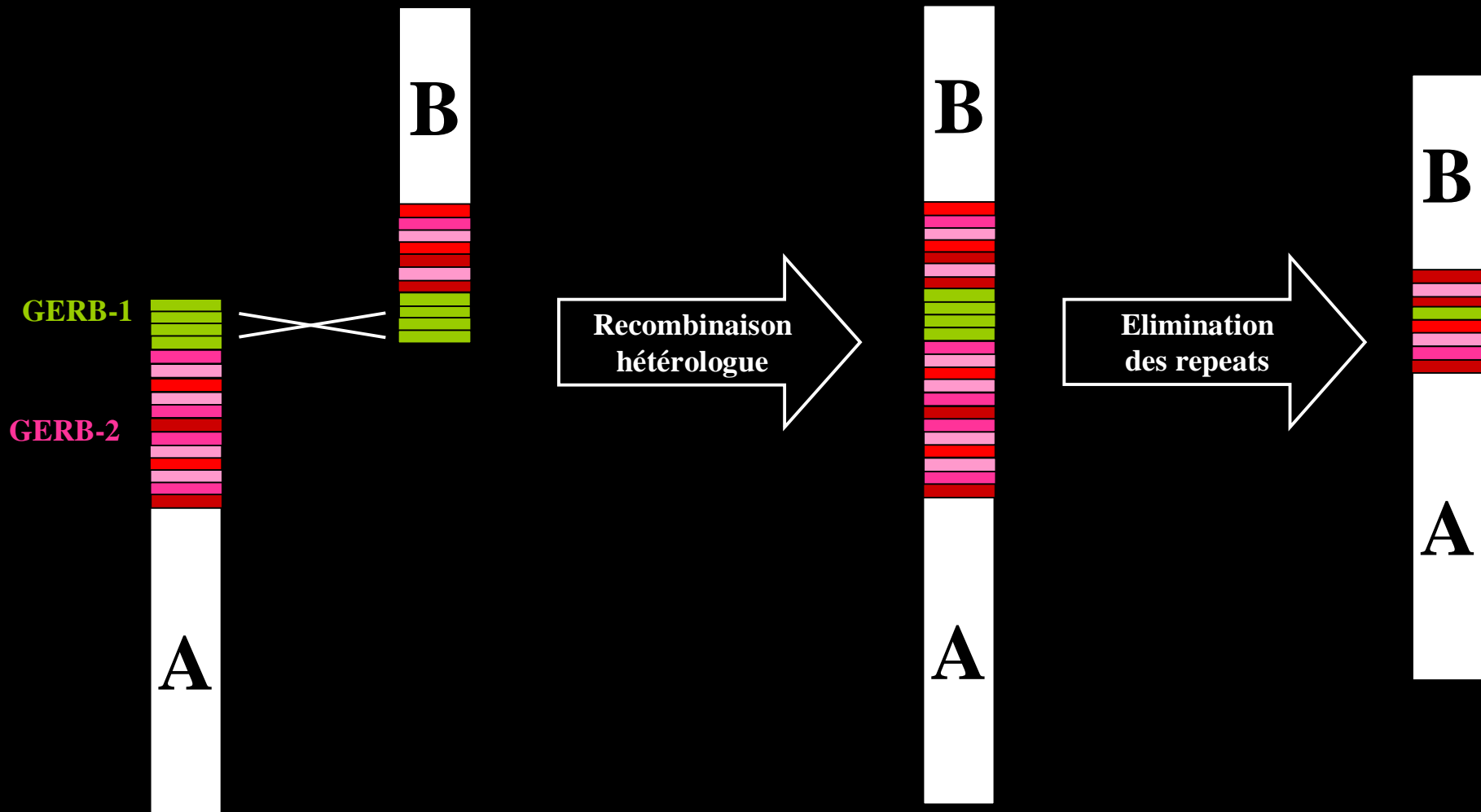


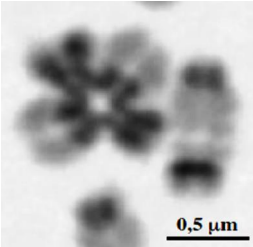
Fig. 3 Examples of PRINS results using GERB1 (a), GERB2 (b) and two-colored combined GERB1+GERB2 (c, d) primers. *White arrows* indicate the large acrocentric X chromosomes with clear intercalary GERB2 blocks (see text for details)



Les structures impliquées dans les fusions centriques

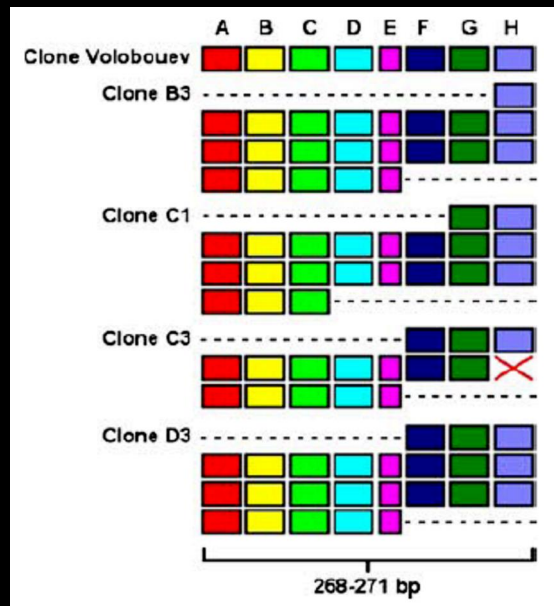
Mécanismes des fusions Rb



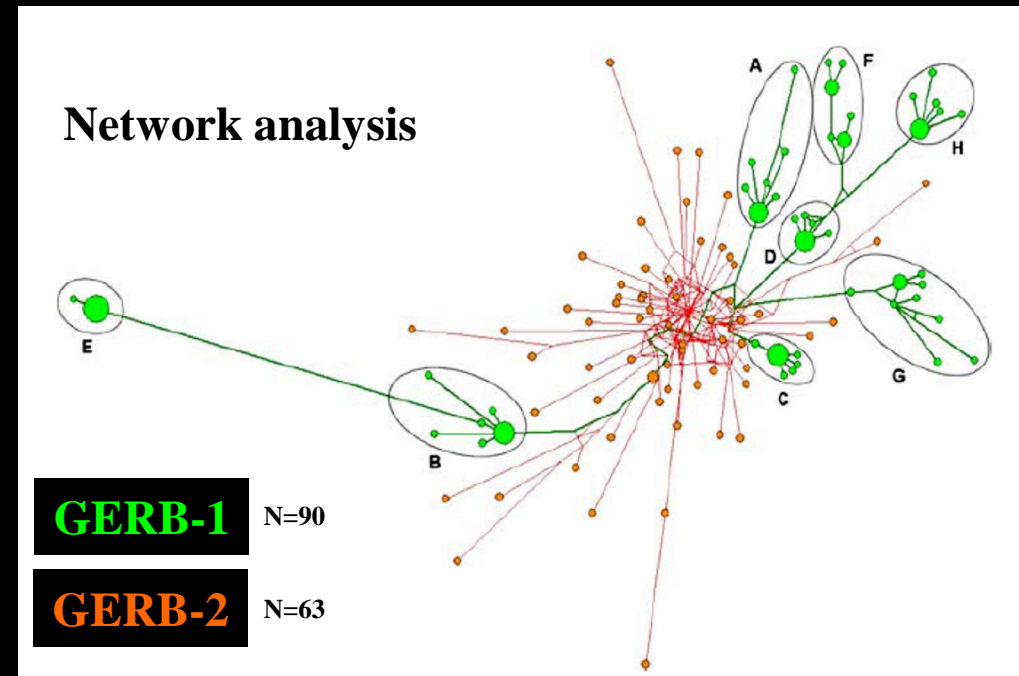


Les structures impliquées dans les fusions centriques

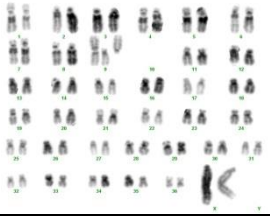
Structuration de GERB1 et GERB2



Organisation en tandem des GERB-1



	GERB-1 + GERB-2	GERB-2	GERB-1 (A-H)	intra-motif (A, B, ...) GERB-1
dist	0.24	0.222	0.216	0.01-0.06



Identifier les chromosomes qui fusionnent oui, mais comment ???

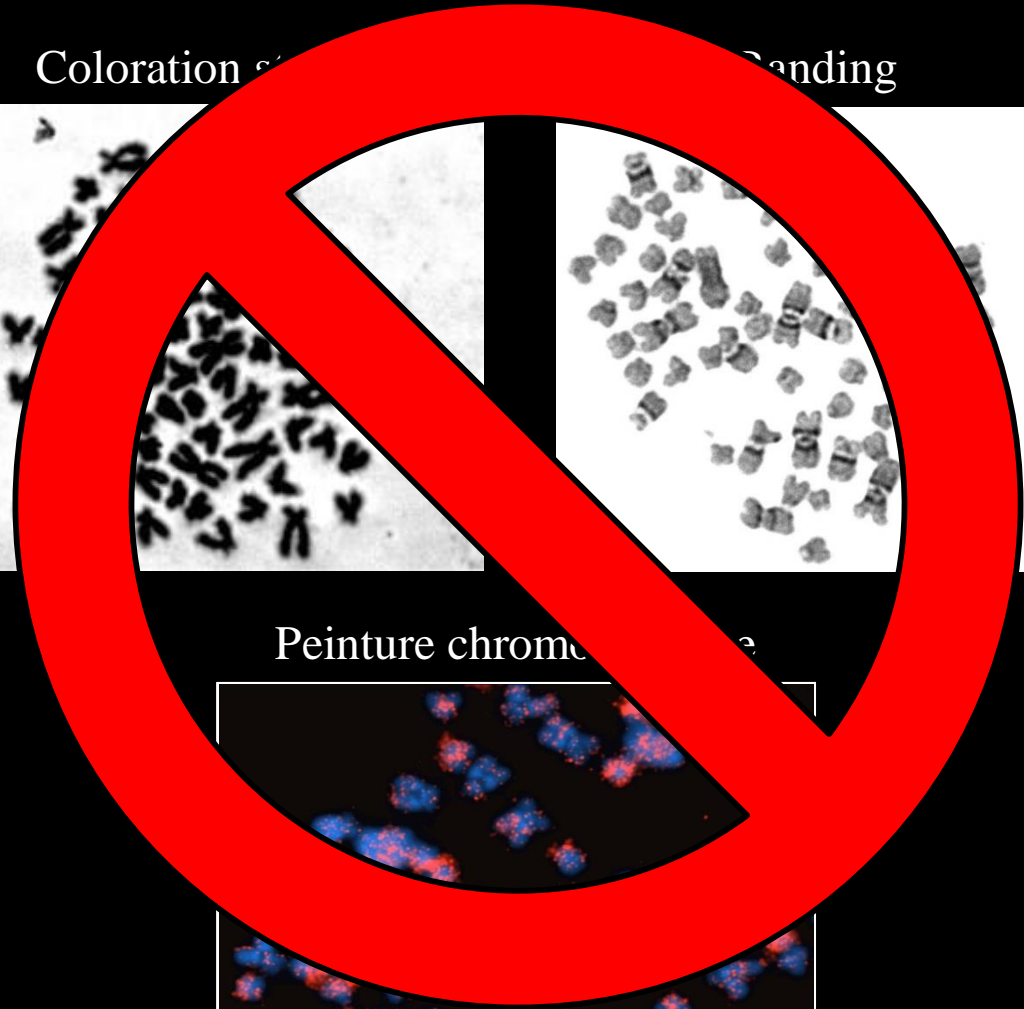
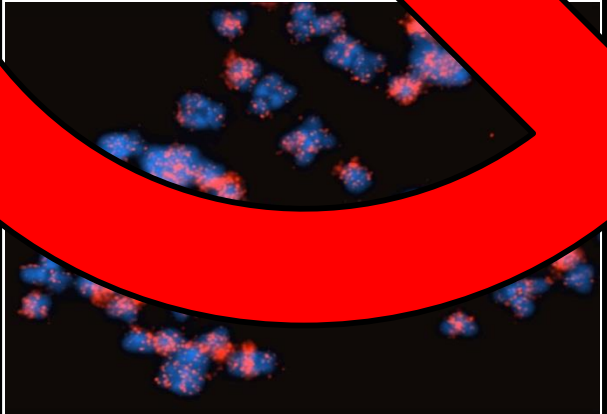
Coloration

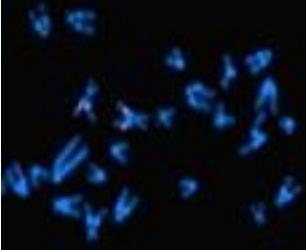


Banding



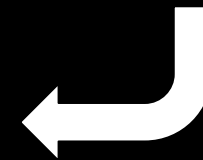
Peinture chromosome



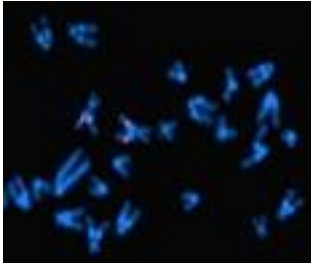


La BAC-FISHí la solution de la dernière chance ?

Principe de la construction d'une banque de BACs



Marquage
fluo et
hybridation



Construction de la banque de BACs



→ 26 880 clones
dans 70 plaques 384 puits !

Taille moyenne des inserts = 160 kb
Soit une couverture d'environ 1,5X

A noter que, théoriquement, il nous en faut 36 (un par paire chromosomique) !!!!



Criblage des BACs sur les chromosomes : FISH simple

Production et purification de 191 BACs

Marquage en fluorescence et hybridation de 102 BACs

→ Bilan :

22 BACs sur grands chromosomes (*A*);

42 BACs sur chromosomes de taille moyenne (*B et C*);

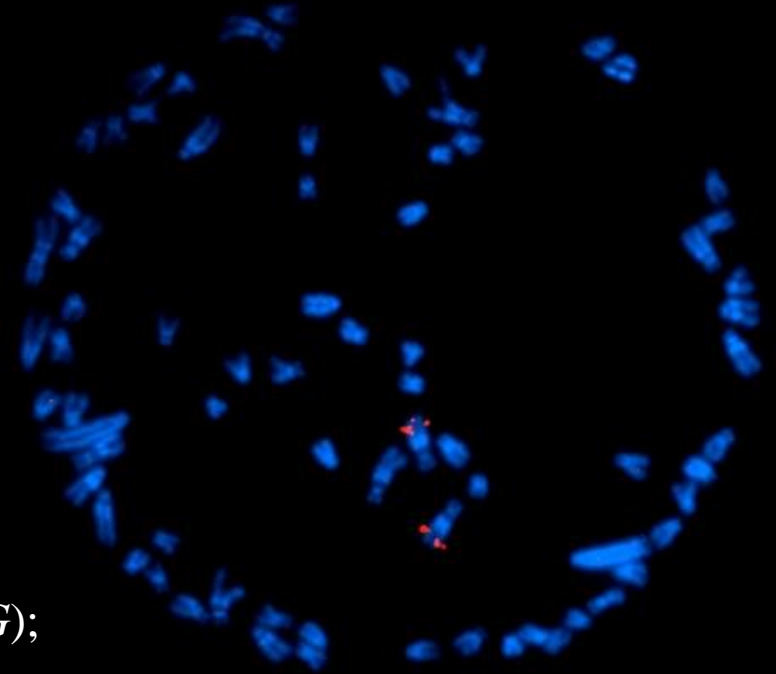
12 BACs sur petits chromosomes (*D*);

7 BACs sur chromosome X (*E*);

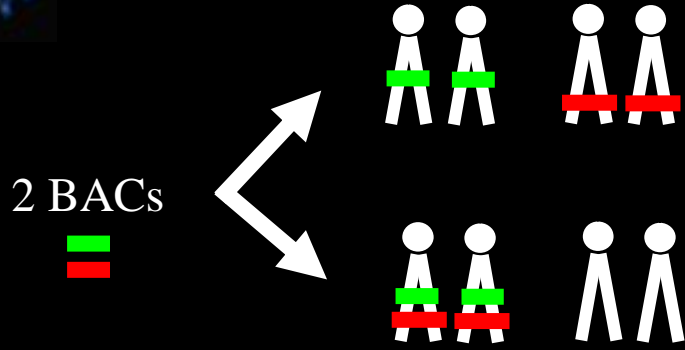
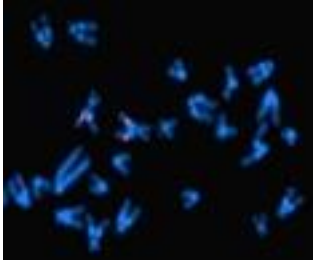
10 BACs marquant GERB1/GERB2 (*F*);

8 BACs marquant des séquences répétées (LINEs ?) (*G*);

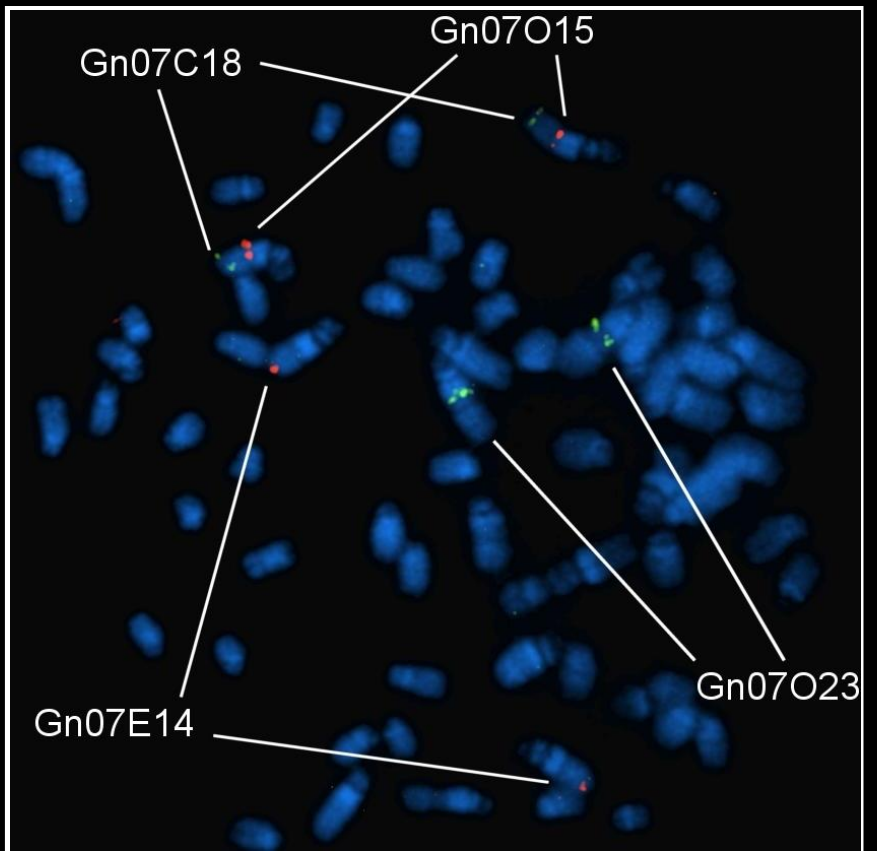
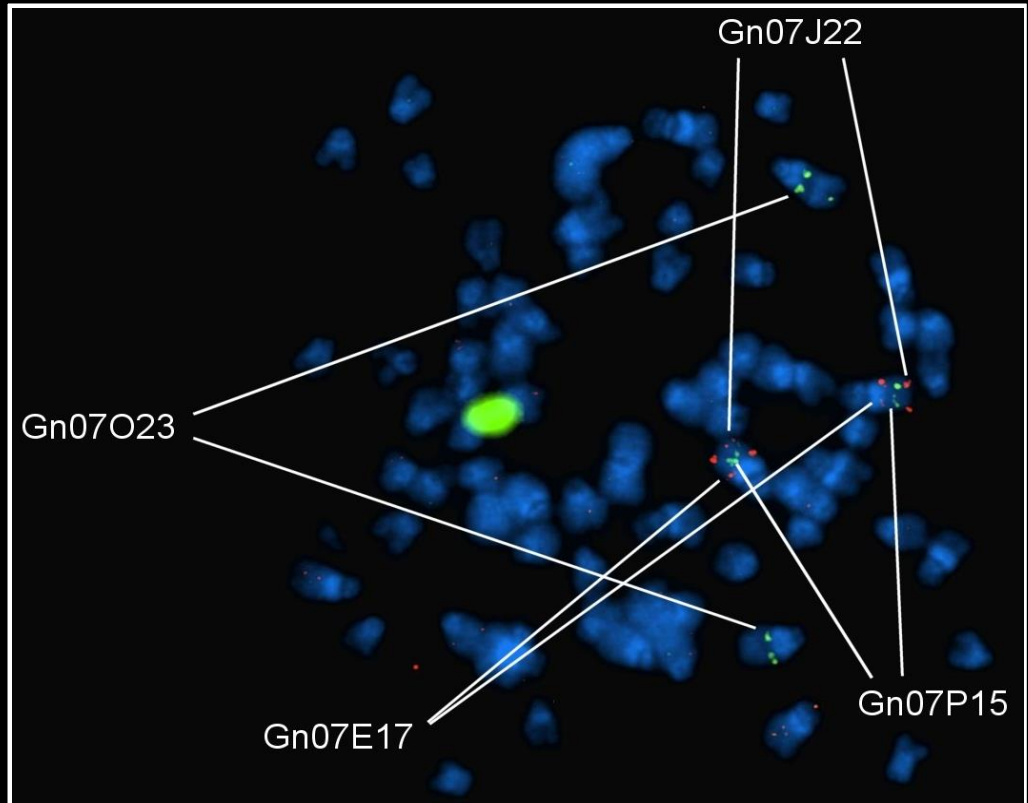
1 BAC ne donnant aucun résultat.

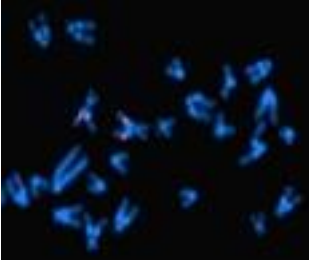


Criblage des BACs sur les chromosomes : FISH multiplex


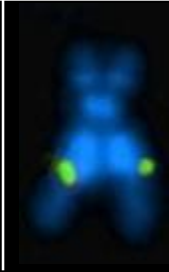
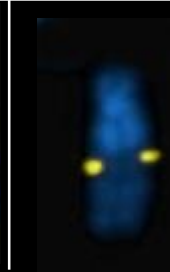
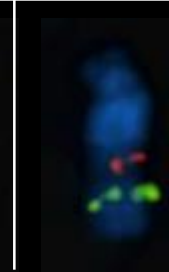
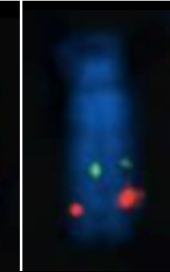
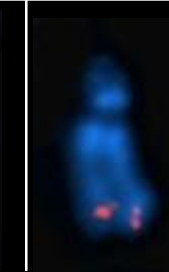
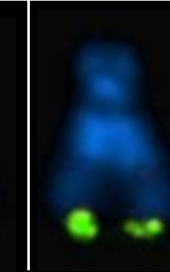
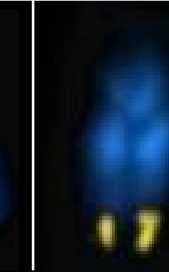


42 BACs testés en FISH multiplex →
16 paires de chromosomes identifiées

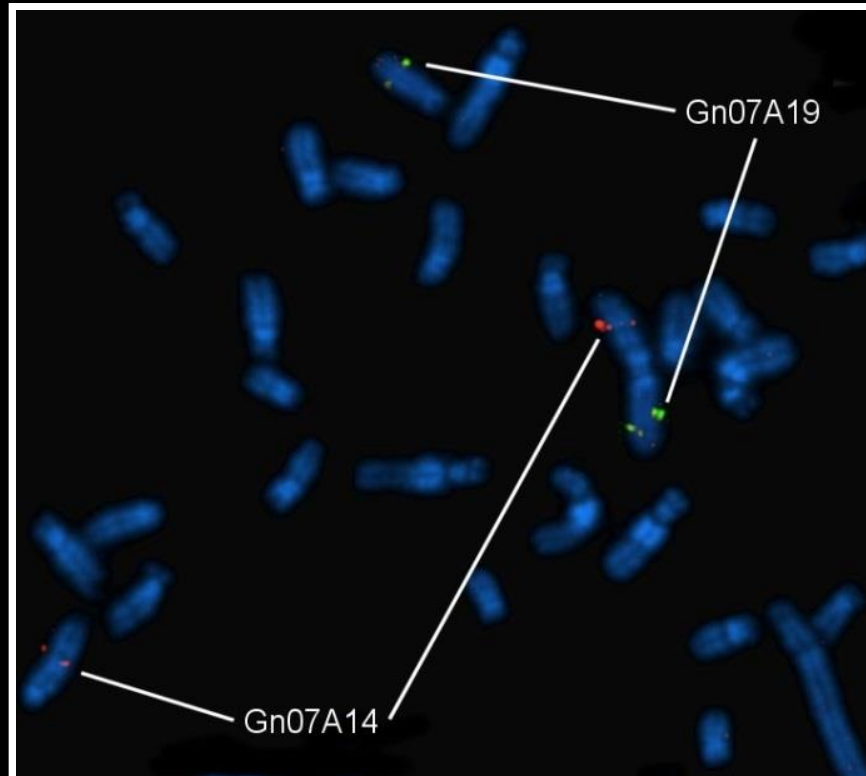
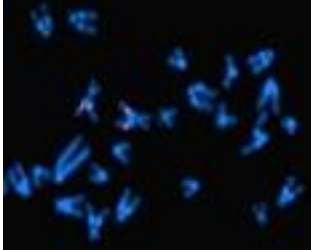




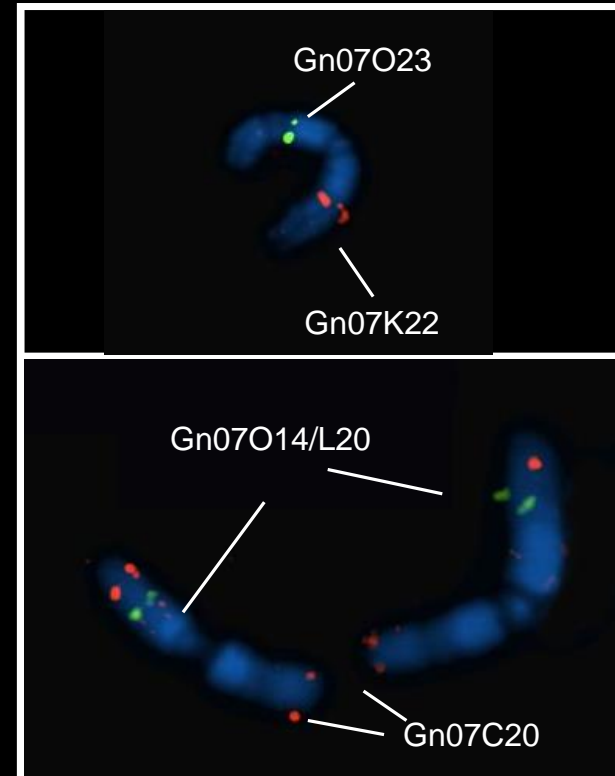
Identification des différentes paires de chromosomes

Paire n°	1	2	3	4	5	6	7	8
BAC n°	Gn07K22	Gn07O15	Gn07O23	Gn07K21 Gn07E15	Gn07O14 Gn07L20	Gn07C20	Gn07E14	Gn07P18
Position et couleur								

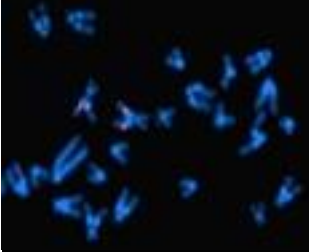
Identification de quelques fusionsí



$2N = 73$
(Kolo, Niger)



$2N = 71$
(Pekh, Sénégal)



Le plus dur reste à faire

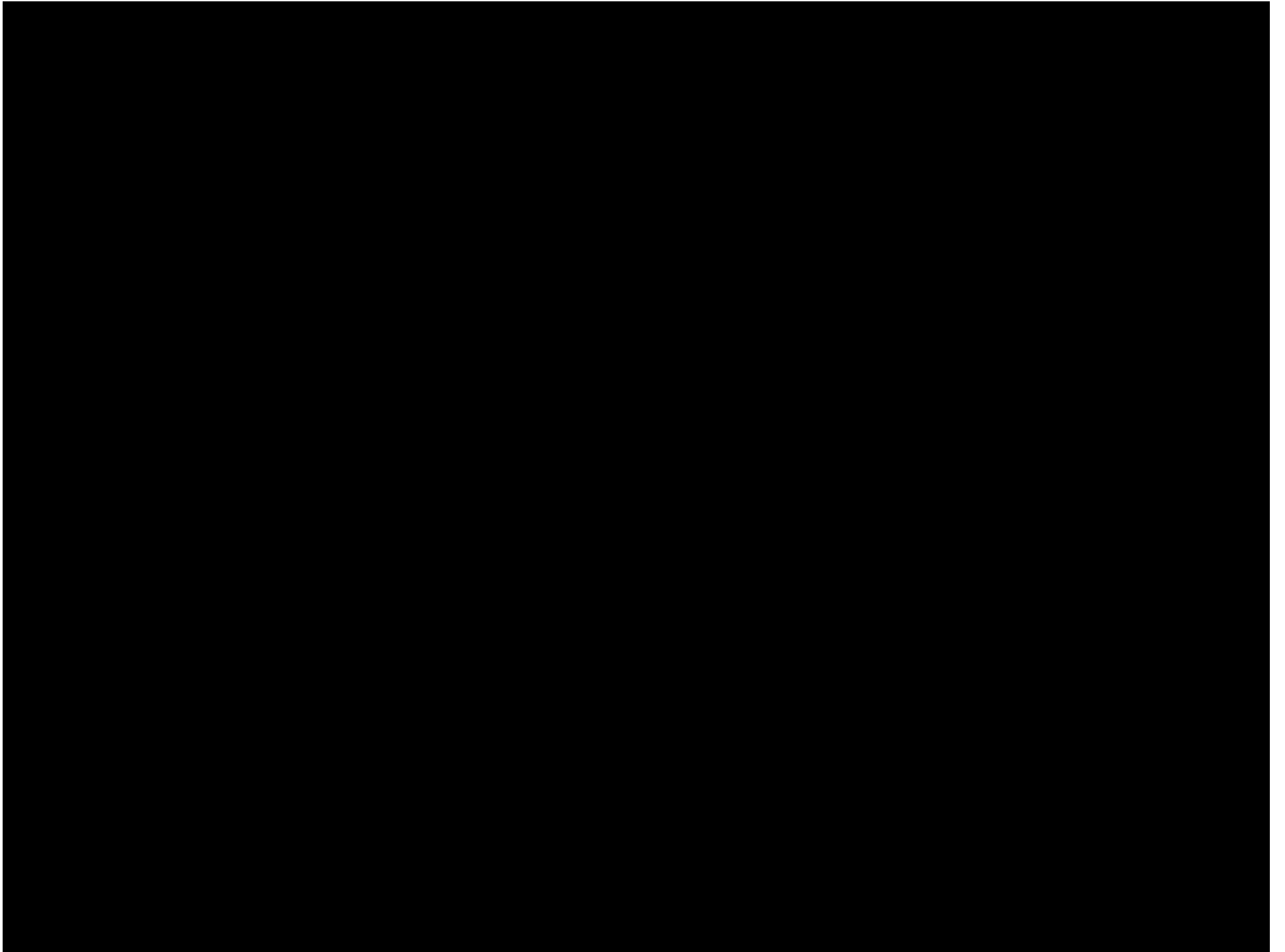
1 identifier les fusions Rb au niveau populationnel

- Déterminer les fréquences des différentes fusions dans les populations ?
- Structuration géographique ?

MERCI
de votre attention !



Philippe GAUTHIER
Karmadine HIMA
Gauthier DOBIGNY





Quelques questionsí

É D'un point de vue reproducteur :

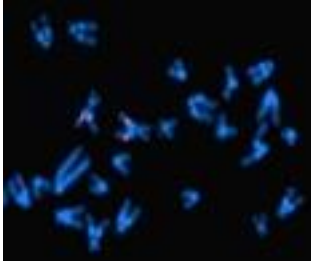
- ó Effets des fusions sur la méiose chez les hétérozygotes ?
- ó Barrière reproductive ?

É D'un point de vue génomique :

- ó Structures génomiques intervenant dans les fusions ?
- ó Conséquences des fusions au niveau génique et épigénétique ?

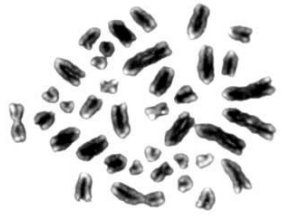
É D'un point de vue populationnelle :

- ó Chromosomes impliquées dans les fusions ?
- ó Fréquences de ces fusions dans les populations ?
- ó Structuration géographique ?



Se débarrasser des séquences répétées GERBí

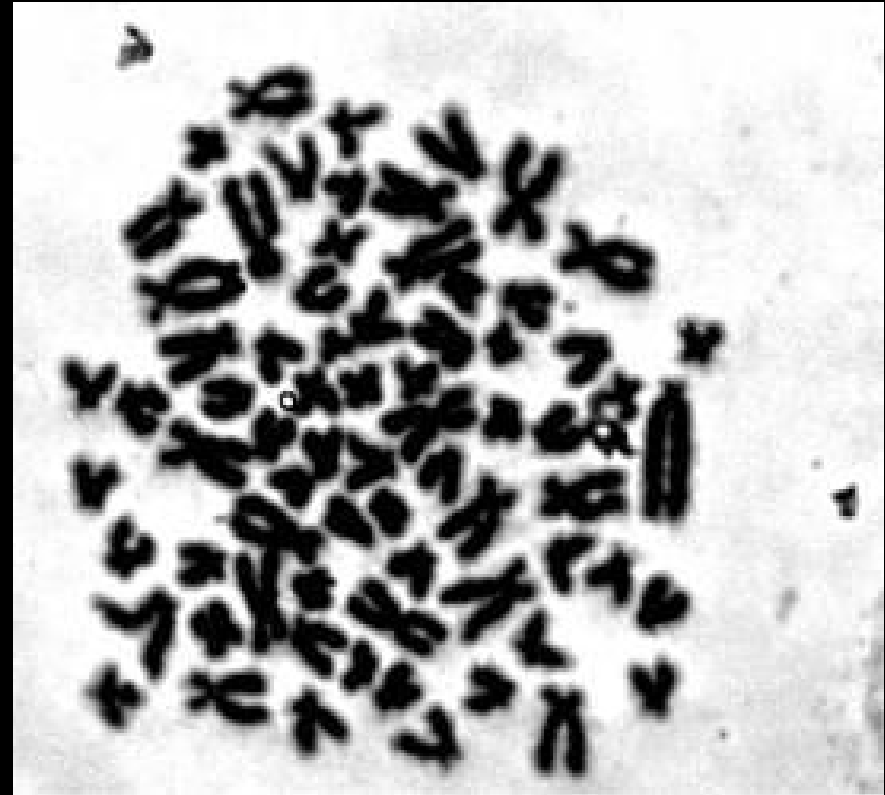
Quels clones contiennent des inserts GERB1 et GERB2 ?



Les limites de la coloration « standard »



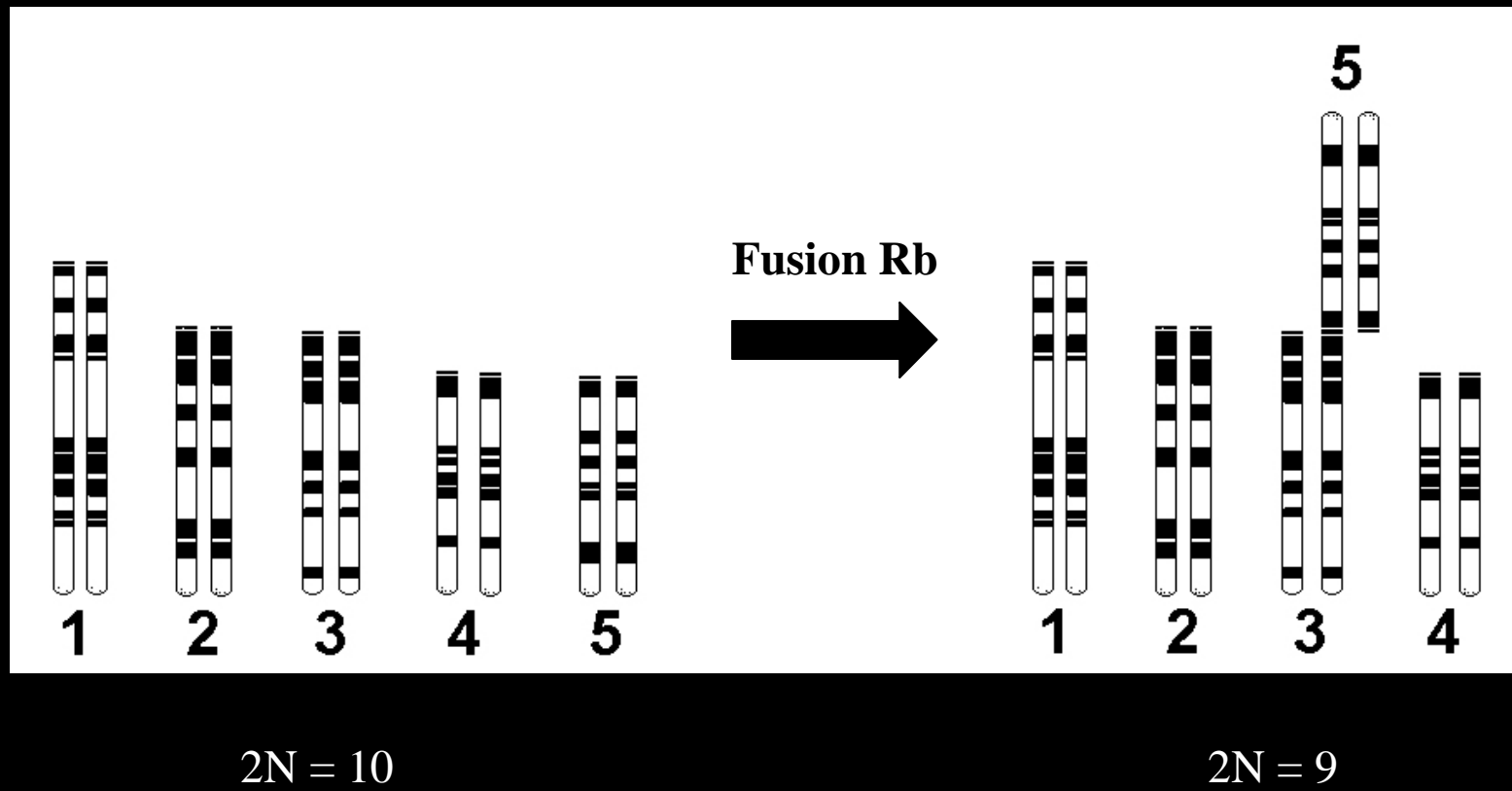
Taterillus tranieri



Gerbillus nigeriae

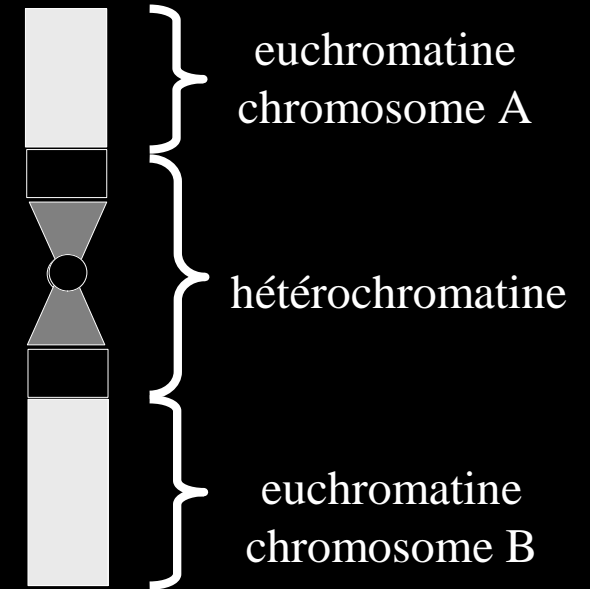


Les limites du banding G



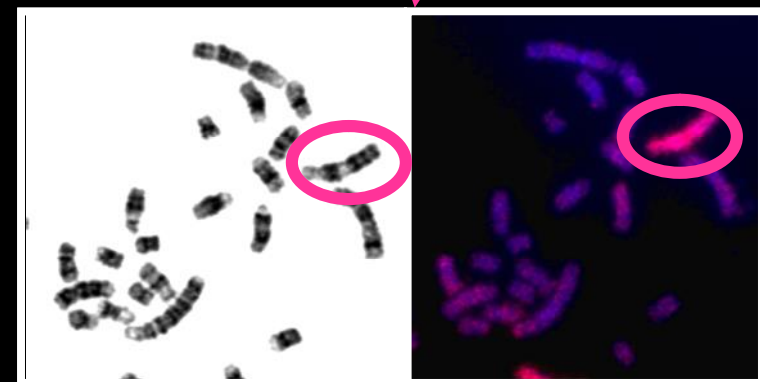
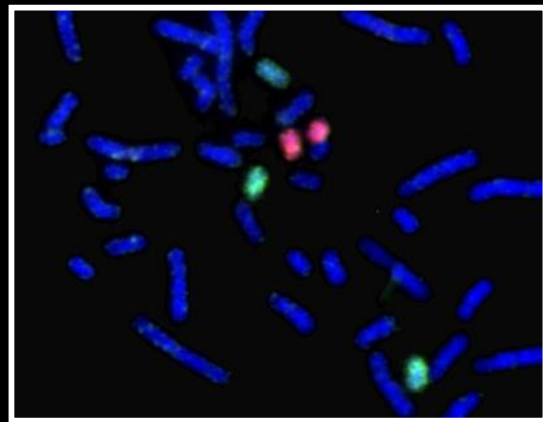
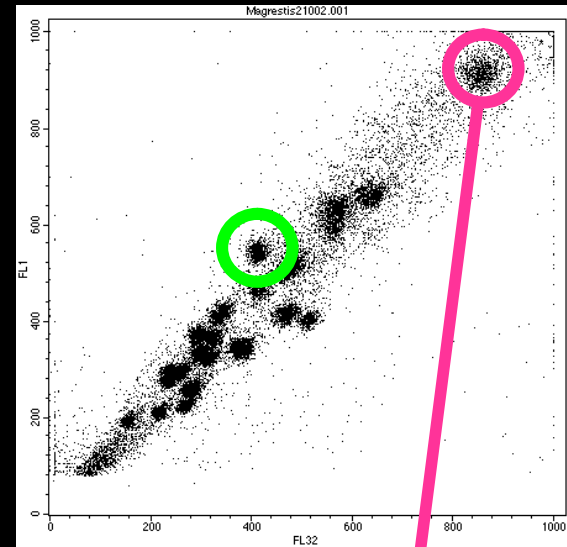
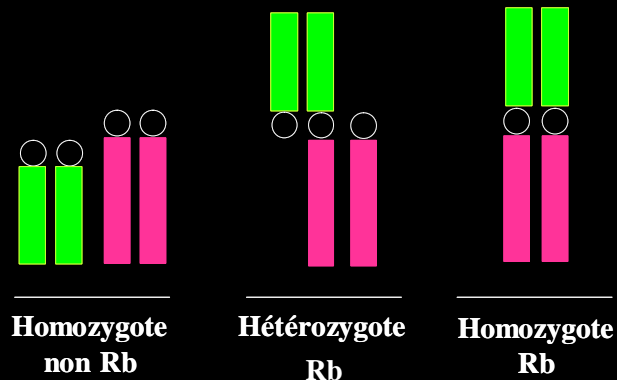


Les limites du banding G



Les limites de la peinture chromosomique (Zoo-FISH)

Principe

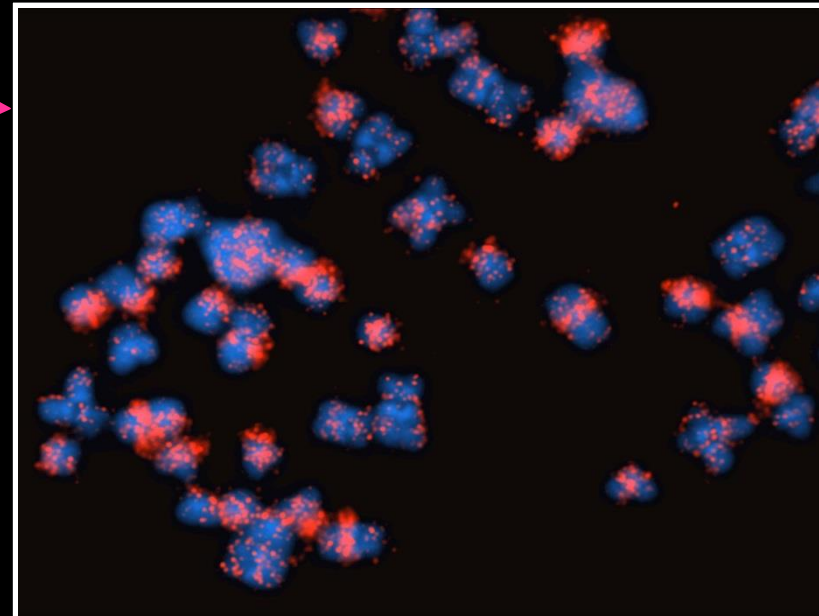
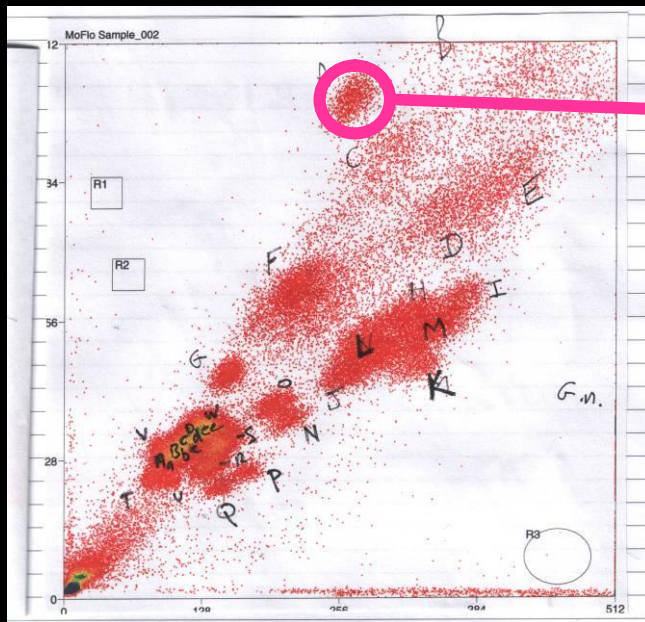


Sondes chromosome-spécifique

Recherche des fusions en co-hybridant différentes sondes chromosome-spécifiques

Les limites de la peinture chromosomique (Zoo-FISH)

Appliquée à *G. nigeriae*

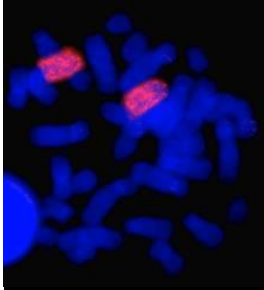


Excès de repeats (GERB-1 et GERB-2)

Homogénéité des tailles des chromosomes et tri chromosomique peu marqué

Hybridation hétérologue entre chromosomes (i.e. repeats partagés entre paires)

➔ information non interprétable !



Les limites de la peinture chromosomique (Zoo-FISH)

La soustraction des repeats GERB1 une solution ?



Gerbillus nigeriae : un polymorphisme chromosomique hors du commun

