

Inventaire cytogénomique des petits mammifères du Maroc

A cytogenomic survey of Moroccan small mammals

Michèle GERBAULT-SEUREAU^{1*}, Touria BENAZZOU³ & Florence RICHARD^{1,2}

1. Muséum National d'Histoire Naturelle, Département de Systématique et Evolution, UMR 7205 CNRS, Institut de Systématique, Evolution, Biodiversité, case postale 39, 16 rue Buffon, 75005 Paris, France

2. Université de Versailles Saint Quentin en Yvelines, UFR de Sciences, Département de Biologie, 45 avenue des Etats Unis, 78035 Versailles, France

3. Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat, Maroc

Résumé : Un inventaire cytogénomique des petits mammifères du littoral marocain a été effectué sur 43 spécimens correspondant à 10 espèces, utilisant les techniques de cytogénétique classique et d'hybridation *in situ* de séquences répétées télomériques et centromériques. Les caryotypes avec marquage chromosomique sont présentés pour la première fois, pour deux des espèces (*Crocidura russula* et *Elephantulus rozeti*). L'ensemble des données permet de confirmer le statut taxonomique des espèces. Aucune espèce cryptique n'a pu être identifiée chez *Gerbillus campestris*, *Meriones shawii*, *Mus spretus*, *Apodemus sylvaticus* et *Lemniscomys barbarus* alors que plusieurs cas sont connus chez les rongeurs. L'existence de séquences télomériques interstitielles chez *M. shawii* a pu être interprétée comme la trace d'évènements de fusions robertsoniennes survenues lors de l'évolution du genre *Meriones*. Enfin, la présence de chromosomes B chez *G. campestris* et *M. shawii* soulève la question de leur rôle dans l'évolution chromosomique de ces taxons.

Mots-clés : Petits mammifères, Rodentia, chromosome, caryotype, hybridation *in situ*.

Abstract : A cytogenomic survey of Moroccan small mammals is proposed. It includes 43 individuals corresponding to 10 species. Cytogenetics and *in situ* hybridization with telomeric and centromeric probes were performed. Banded karyotypes of two species (*Crocidura russula* and *Elephantulus rozeti*) are shown for the first time. The taxonomic status of each specimen is confirmed. No sibling species can be identified in *Gerbillus campestris*, *Meriones shawii*, *Mus spretus*, *Apodemus sylvaticus*, *Lemniscomys barbarus*, while their presence is known for different rodents. Otherwise, telomeric sequences are observed in interstitial positions in *Meriones shawii*, which suggests that the *Meriones* genus evolved by Robertsonian fusions. Finally, the presence of B chromosomes in *G. campestris* and *M. shawii* raises the question of their role in the chromosomal evolution of these taxa.

Keywords : Small mammals, Rodentia, chromosome, karyotype, *in situ* hybridization.

Abridged English version

Cytogenetics studies have proven to be very successful for understanding small mammals evolution and species limits. In Morocco, several species have been karyotyped which allowed to reveal an unexpected biodiversity and to characterize several endemic taxa as well as some intra-chromosomal modifications. In the frame of an interdisciplinary project on small vertebrates diversity along coastal Morocco, we analyzed the cytogenomic diversity of 43 specimens corresponding to 10 taxa (1 Macroscelidae, 1 Soricomorpha, 41 Rodentia). For all specimens, we used R- and G- banding techniques to establish their karyotypes and for several species we completed these karyotypes through CBG banding, NOR staining and Fluorescence *in situ* hybridization (FISH). The aim of this study was to confirm the taxonomic status of the specimens and to examine intra- and inter-specific variability.

All individuals included in this study come from the different localities investigated by Denys *et al.* (this volume) as indicated in table 1. All the biopsies are preserved at -180°C in the Vertebrate Tissues and cryopreserved cells bank housed at the MNHN. Fibroblasts cultures are detailed in Dutrillaux & Couturier (1981) and the chromosomal marking RBG, GBG, CBG and NOR followed Sumner (1972), Dutrillaux & Couturier (1981) and Popescu *et al.* (2000). Metaphases are observed under a microscope and are digitized using the software Ikaros3 (Allemagne). For

the FISH techniques we followed the protocol described in Gerbault-Seureau *et al.* (2004).

For each studied species, its locality of origin and the cytogenetic results are summarized in Table 1. For each species we described and illustrate (Fig. 1 to 10) the chromosome formula as well as the detail of the different chromosomes organization, the localization of heterochromatin and some peculiarities.

Briefly we detail here the karyotypes for the species collected. We present here for the first time the RBG banding karyotype of *Elephantulus rozeti* (2N=28, NFA=52) which is quite unique compared to the other Macroscelididae species. Similarly, through the first RBG and GBG karyotypes established for *C. russula* we confirmed the cytogenetic formula 2N=42, NFA=56 and give a detailed description of the chromosomes organization of this species. Concerning the rodents, we found a 2N=46, NFA=84 for *E. munbyanus* and confirmed its differences from *E. quercinus*. The four *Apodemus sylvaticus* specimens karyotyped exhibit a standard formula of 2N=48, NFA=46. Heterochromatin is present on all centromeres and in terminal position for 5 or 6 autosomal pairs and in interstitial position for one or 2 pairs. This differs from other specimens from Central Russia examined with the same techniques. The CBG profile corresponds to the cytotype E1 found in western and southern Europe (Nadjafora 2008, Gronung *et al.* 2009). We also confirmed the karyotype formula of *Lemniscomys*

barbarus, with $2N=54$, $NFa=58$. Our two Moroccan specimens display the same CBG profiles as those found in the Fès region (Sitou *et al.* 1997), but are different from those found in Algerian specimens (Filipucci *et al.* 1986). The karyotypes of the two species of mice found in North Africa have been much studied. Here we found a similar karyotype for a *Mus musculus domesticus* specimen and 6 *Mus spretus* specimens ($2N=40$, $NFa=38$) corresponding to the typical ancestral karyotype of *Mus* sub-genus. Differences between the species are observed only through the FISH techniques. The single *Rattus rattus* studied here provided a standard formula of $2N=38$, $NFa=58$. The Gerbillinae rodents have been very well studied in North Africa due to the existence of a high diversity and possible cryptic species. For the 5 *Gerbillus campestris* examined here the typical karyotype was obtained: $2N=56$, $NFa=68$.

For *Meriones shawii* we analysed 18 specimens from 5 localities in order to look at their intra-specific variability. They all present a similar karyotype of $2N=44$, $NFa=74$. Except differences in the autosomal pair number 21 and the Y chromosome, no other differences was observed between individuals. This polymorphism suggests that the autosome 21 is a supernumerary one or a B chromosome.

In conclusion, we confirmed through the cytogenetic analyses all the morphological and molecular species identifications and obtain supplementary information upon the chromosomal arrangements, their heterochromatin composition as well as their types of modifications. No new cryptic species has been detected during the course of this study.

INTRODUCTION

Au Maroc, plusieurs travaux ont contribué à l'établissement de la formule chromosomique chez des espèces de muridés et notamment de gerbillinés (Matthey, 1957, 1959). Pour certaines espèces, l'étude du caryotype a été complétée par des techniques de marquage chromosomique (ou banding chromosomique) permettant d'identifier avec certitude les paires chromosomiques et de détecter des remaniements intra-chromosomiques éventuels (Benazzou *et al.* 1982a,b). De plus, chez différents rongeurs africains, la présence d'espèces cryptiques ou jumelles, morphologiquement similaires mais différent par leur caryotype, a été identifiée de manière récurrente. Par exemple, des cas d'espèces jumelles ont ainsi été décrits chez *Taterillus*, *Mastomys* (Dobigny *et al.* 2002), *Gerbillus* (Volobouev *et al.* 2002, N'Diaye *et al.* 2012), *Praomys* (Nicolas *et al.* 2008), accroissant la diversité spécifique de ces régions. Pour rendre compte de la diversité des petits mammifères, une double approche d'identification morphologique et génétique des espèces est nécessaire.

Dans le cadre d'un projet d'étude de la diversité des petits vertébrés du littoral marocain, de nouvelles investigations ont été réalisées. Nous proposons, dans ce travail, un inventaire cytogénomique des petits mammifères basé sur 43 spécimens correspondant à 10 espèces. Pour chaque spécimen, les caryotypes en bandes RBG et GBG ont systématiquement été établis, et, pour certaines espèces, des informations complémentaires ont été obtenues sur l'organisation chromosomique des régions centromériques et télomériques, par cytogénétique classique (CBG, NOR) et hybridation *in situ* en fluorescence. L'ensemble de ces données nous permettra, d'une part, de confirmer ou d'infirmer le statut taxonomique de l'espèce, d'autre part, d'identifier la présence ou non d'espèces cryptiques et de comparer les individus proches sur le plan phylogénétique (Viégas-Péquignot *et al.* 1986).

MATERIEL ET METHODES

Matériel

Des biopsies de peau, de sternum et/ou de phalange ont été obtenues à partir de 43 spécimens : 1 Macroscelidea (*Elephantulus rozeti*), 1 Soricomorpha (*Crocidura russula*), et 41 Rodentia (4 Gliridae, 37 Muridae). La nomenclature

suit la classification élaborée par Wilson & Reeder (2005). Les individus proviennent de différentes localités indiquées dans le tableau 1 et présentées par Denys *et al.* (ce volume). Les biopsies ont été cryoconservées à -180°C dans la banque « Tissus et cellules cryopréservés de Vertébrés » de l'ensemble RBCell du MNHN, pour des études ultérieures sur des cellules vivantes.

Cultures cellulaires, préparations de métaphases et obtention de bandes chromosomiques

Les cellules fibroblastiques sont cultivées, à 37°C , en atmosphère à 5% de CO_2 , dans un milieu de culture (Glutamax (Gibco-BRL)) contenant 10% de sérum de veau fœtal (SVF, Dutscher), des antibiotiques et antifongiques (pénicilline-streptomycine : 20 UI/ml; amphotéricine B : 1,25 mg/ml; gentamycine : 50 mg/ml). Pour obtenir un marquage chromosomique RBG, une solution de Fluorodéoxyuridine (FdU, Sigma, concentration finale 0,06 mg/ml) est ajoutée pour synchroniser les cultures, durant 20h. Puis, une solution de 5'-bromodéoxyuridine (BrdU, Sigma, concentration finale 0,02mg/ml) est incorporée dans l'ADN de réplication tardive, durant les 8 dernières heures de culture. Pour obtenir un marquage chromosomique GBG, une solution de BrdU (concentration finale 0,02mg/ml) est utilisée pour synchroniser les cellules, durant 20h. Après rinçage avec du milieu de culture, une solution de thymidine (Sigma, concentration finale 0,003 mg/ml) est ajoutée pour les 6 dernières heures de culture.

Pour tous les types de marquages chromosomiques, une solution de colchicine (0,04mg/ml) est ensuite ajoutée durant 2h pour bloquer le cycle cellulaire en métaphase. Le culot cellulaire est placé dans une solution hypotonique (SVF au $1/6^{\circ}$ additionné de KCl à 0,075M), durant 15 minutes pour gonfler les cellules. Elles sont, alors, fixées dans une solution d'éthanol/acide acétique (75% / 25%), étalées sur des lames de verre froides, séchées puis conservées à -20°C .

Les techniques de marquage chromosomique RBG, GBG, CBG et NOR ont été appliquées pour chaque espèce (Sumner 1972, Dutrillaux & Couturier 1981, Popescu *et al.* 2000). Les métaphases sont observées avec un microscope en lumière blanche (Zeiss, Allemagne) et les images sont capturées à l'aide d'une caméra. Les caryotypes de chaque spécimen sont effectués en classant les chromosomes par taille décroissante et indice centromérique, à l'aide du

logiciel Ikaros3 (Metasystems, Altusheim, Allemagne). Les NORs sont localisés pour chaque espèce.

Hybridation *in situ*

Des hybridations *in situ* ont été effectuées, pour certaines espèces, avec la peinture du chromosome X humain biotinylée (Cambio-Adgenix, France) et deux sondes oligonucléotidiques de type LNA reconnaissant les séquences télomériques et une séquence centromérique murine. Les 2 sondes ont été gracieusement données par C. Escudé (MNHN-UMR 7196 CNRS-INSERM). La sonde télomérique correspond à un oligonucléotide de 24-mer biotinylé composé de quatre répétitions du motif télomérique TTAGGG. La sonde satellite correspond à un oligonucléotide de 18-mer biotinylé, spécifique de la séquence du satellite mineur de souris.

Pour la peinture chromosomique, le protocole décrit dans Gerbault-Seureau et al. (2004) a été utilisé. Brièvement, les préparations chromosomiques et la peinture sont dénaturées à 75°C durant 5 mn. Elles sont ensuite hybridées durant 48 heures à 37°C, puis lavées à 60°C durant 5 mn, dans un bain de 2 x SSC, pH 7. Les sondes hybridées sont révélées en vert

par un système d'immunodétection indirecte : (1) anticorps anti-biotine de chèvre (10 mg/ml, Vector laboratories, Burlingame), (2) anticorps anti-chèvre couplé au FITC (5 mg/ml, P.A.R.I.S., France). Les chromosomes sont colorés en orange par l'iodure de propidium (PI : 0,3 mg/ml). Les observations sont effectuées avec un microscope à épifluorescence (DMRB, Leica, Allemagne) et les images sont capturées à l'aide d'une caméra refroidie (Photometrics, Tucson, Ariz., USA) et d'un logiciel de capture d'images (Quips-Smart, Vysis, Downers Grove, IL, USA). Les chromosomes sont identifiés en utilisant un logiciel générant un marquage chromosomique en « reverse PI ».

Pour détecter les séquences télomériques, les chromosomes et la sonde sont dénaturés à 85°C durant 3 mn puis hybridés durant 72 heures à 37°C. Aucun rinçage n'est réalisé avant l'immunodétection. Pour détecter les séquences de satellite mineur, les chromosomes et la sonde sont dénaturés à 85°C durant 3 mn puis hybridés durant 1 heure à 37°C, puis lavés à 37°C durant 5 mn, dans un bain de 2 x SSC, pH 7. Les étapes ultérieures sont identiques à celles décrites pour la peinture chromosomique.

Tableau 1 – Espèces caryotypées

Nb : nombre d'individus analysés ; 2N : nombre diploïde de chromosomes ; Nfa : nombre fondamental d'autosomes ; X : type de marquage appliqué ; X, T, S, R : hybridation *in situ* avec la peinture du chromosome X humain (X), la sonde télomérique (T), la sonde satellite mineur (S), la sonde ribosomale 28S (R) ; E : Esperada ; G : Guenfouda ; BH : Beni Hadifa ; I : Ifrane ; B : Berrechid ; BS : Ben Slimane ; BG : Ben Guerir ; OB Ouled Boughadi ; SEA : Sour'El'Az ; IB : Ifrane Boutkhoubaye ; Bgr : Boutkhoubaye-grotte ; T : Taza

Table 1 – Karyotyped species

Nb : number of studied specimens ; 2N : diploid chromosome number ; Nfa : autosomal fundamental number ; X : used staining ; X, T, S, R : fluorescence *in situ* hybridization with human X chromosome painting (X), telomeric probe (T), minor satellite probe (S), 28S ribosomal probe (R) ; E : Esperada ; G : Guenfouda ; BH : Beni Hadifa ; I : Ifrane ; B : Berrechid ; BS : Ben Slimane ; BG : Ben Guerir ; OB Ouled Boughadi ; SEA : Sour'El'Az ; IB : Ifrane Boutkhoubaye ; Bgr : Boutkhoubaye-grotte ; T : Taza

Nom scientifique	Nb	2N	Nfa	RBG	GBG	CBG	NOR	FISH	Localités
<i>Elephantulus rozeti</i>	1	28	52	X	-	X	X		G
<i>Crocidura russula</i>	1	42	56	X	X	X	X		B
<i>Eliomys munbyanus</i>	4	46	84	X	X	-	X		BS/T/Bgr
<i>Gerbillus campestris</i>	5	56	68	X	X	X	X		BG/G/SEA
<i>Meriones shawi</i>	18	44	74	X	X	X	X		G/IB/SEA/OB/Bgr
<i>Mus spretus</i>	6	40	38	X	X	X	X	S	B/B/BH/I/I/BH
<i>Mus musculus</i>	1	40	38	X	X	X	X	S	B
<i>Apodemus sylvaticus</i>	4	48	46	X	X	X	X	T, X	BS/T/I/E
<i>Lemniscomys barbarus</i>	2	54	58	X	X	X	X		BG/E
<i>Rattus rattus</i>	1	38	58	X	X	X	X	R	B

RESULTATS ET DISCUSSION

L'ensemble des espèces étudiées, leur localité de piégeage et les résultats cytogénétiques associés sont résumés dans le Tableau 1.

Ordre des Macroscelidea

Famille des Macroscelididae

Elephantulus rozeti (Duvernois, 1833)

Cette espèce est le seul représentant du genre *Elephantulus* au nord du Sahara (Maroc, Algérie, Tunisie, Lybie occidentale). Le caryotype en bandes RBG a été effectué pour un spécimen et publié ici pour la première fois. Il présente un nombre diploïde de 2N = 28, XY, unique dans le genre, ce nombre variant de 26 à 34 en fonction des espèces (Kingdon et al. 2013, Smit et al. 2008). Le

caryotype comporte 11 paires d'autosomes submétacentriques, 2 paires subtélocentriques (Nombre Fondamental des autosomes, Nfa = 52). Le chromosome X est submétacentrique et le Y subtélocentrique (Fig.1a). Les organisateurs nucléolaires (NOR) sont portés par le bras court du chromosome 10 (Fig.1b). Les bandes CBG, correspondant à l'hétérochromatine constitutive, sont localisées uniquement en région centromérique des chromosomes.

Ordre des Soricomorpha

Famille des Soricidae

Crocidura russula (Hermann, 1780)

Cinq espèces de crocidures sont présentes au Maroc : *C. russula* (2N= 42, Nfa= 60), et *C. lusitania* (2N= 38, NF=74),

C. tarfayensis ($2N = 36$, $NF = 56$), *C. viaria* ($2N = 50$, $NF = 66$) et *C. whitakeri* ($2N$ inconnu) (Hutterer 1986, Maddalena 1990, Vogel *et al.* 2006, Maddalena & Ruedi 1994, Thévenot & Aulagnier 2006). Le caryotype en bandes RBG et GBG a été effectué pour un spécimen et publié ici pour la première fois. Il confirme le nombre $2N = 42$, XX (Reumer & Meylan 1986) pour *C. russula* et présente 8 paires d'autosomes submétacentriques et 12 paires

d'acrocentriques ($NFa = 56$). Le chromosome X est submétacentrique (Fig. 2a). Les bandes CBG ont une localisation centromérique attendue mais également subtélomérique et interstitielle sur le chromosome X (Fig. 2b). Les NOR sont localisés en position terminale sur deux sites principaux (10q, 19p) et un site secondaire (8p) (données non présentées).

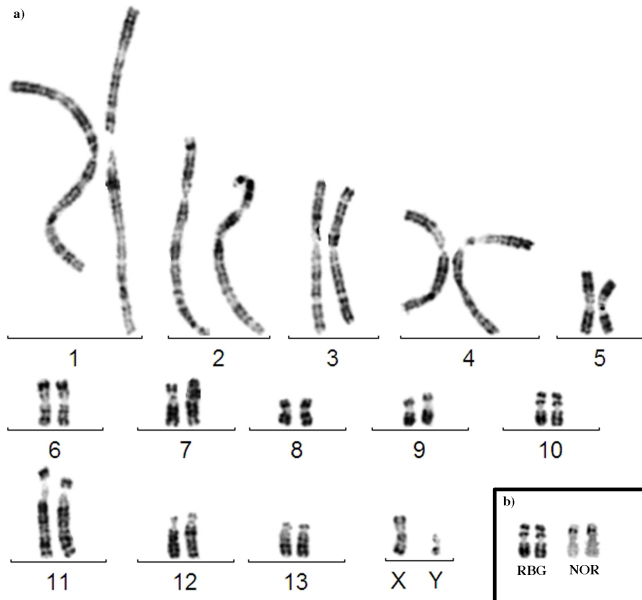


Figure 1 : *Elephantulus rozeti* (a) caryotype en bandes RBG, (b) paire chromosomique n°10 en RBG et après marquage révélant les organisateurs nucléolaires (NOR).

Figure 1: *Elephantulus rozeti* (a) RBG-karyotype, (b) RBG-chromosomes n°10 and after NOR technique.

Ordre des Rodentia

Famille des Gliridae

Eliomys munbyanus (Pomel, 1856)

Sur les trois espèces du genre *Eliomys*, seul *E. munbyanus* est connu au Maroc. Trois femelles et un mâle, provenant de trois localités différentes, ont montré un caryotype à $2N = 46$, XY ou XX, et $NFa = 84$ comme attendu (Delibes *et al.* 1980, Moreno & Delibes 1982, Filipucci *et al.* 1988, Sannier *et al.* 2011). Il se compose de 14 paires d'autosomes submétacentriques, 6 paires de subtélocentriques et 2 paires d'acrocentriques (Fig. 3a). Le chromosome X est submétacentrique et le Y pontiforme. Les NOR sont en position interstitielle sur le bras long du chromosome 13 et le bras court du chromosome 14. (Fig. 3b et 3c). Le caryotype de *E. munbyanus* diffère de celui de *E. quercinus* par une ou deux fissions et de celui de *E. melanurus* par une fission centrique (Sannier *et al.* 2011).

Famille des Muridae

Apodemus sylvaticus (Linnaeus, 1758)

Quatre mâles provenant de quatre localités différentes, ont montré un caryotype à $2N = 48$, XY, comme attendu

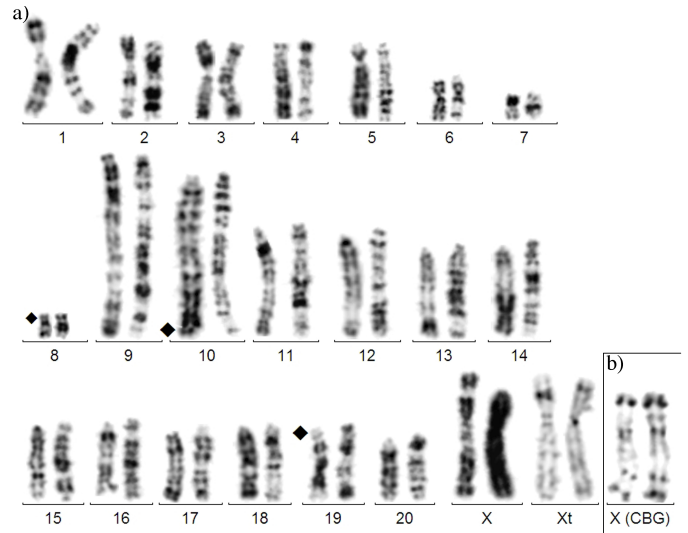


Figure 2 : *Crocidura russula* (a) hémicaryotypes en bandes RBG (à gauche de chaque paire) et GBG (à droite de chaque paire), les losanges indiquent l'emplacement des NORs ; (b) Chromosomes X avec un marquage CBG.

Figure 2: *Crocidura russula* (a) half-karyotypes in RBG bands (on the left of each chromosomal pair) and GBG bands (on the right of each chromosomal pair), diamonds : NOR positions; (b) X chromosome after CBG treatment.

(Matsubara *et al.* 2004). Il se compose de 23 paires d'autosomes acrocentriques ($NFa = 46$). Les chromosomes X et Y sont acrocentriques. Aucun chromosome B n'a été trouvé chez ces individus (Fig. 4a). Les NORs sont localisés en position télomérique sur 13 paires chromosomiques au maximum. L'intensité des signaux est variable, permettant d'identifier cinq sites majeurs (10q, 12q, 14q, 16q, 19q) et des sites mineurs (7q, 9q, 15q, 18p et q, 20q, 22p, 23p et q) (Fig. 4a). Le nombre de NOR différent des données de Gornung *et al.* (2009) s'explique par la technique utilisée qui ne révèle que les sites exprimés dans la cellule. Le marquage en bandes CBG indique la présence d'hétérochromatine constitutive au niveau de tous les centromères ainsi qu'en position terminale pour 5 ou 6 paires autosomiques et interstitielle pour une ou 2 paires en fonction des individus (Fig. 4b), contrairement à Nadjafova (2008) qui n'observe pas de bandes C centromériques pour les *A. sylvaticus* de Russie centrale. Le premier tiers du chromosome X et la quasi-totalité du Y sont constitués d'hétérochromatine C+ (Novà *et al.* 2002) (Fig. 4b). Le profil en bandes CBG obtenu correspond au cytotype E1, présent en Europe de l'ouest et du sud (Nadjafova 2008, Gornung *et al.* 2009).

La nature de l'hétérochromatine C+ observée en dehors des centromères a été recherchée à l'aide de deux sondes, une sonde oligonucléotidique reconnaissant la séquence du satellite mineur de souris et une sonde télomérique. Aucune localisation centromérique n'a été observée avec la sonde satellite murine. Seul un marquage diffus le long de certains bras chromosomiques a été observé, rendant compte d'une divergence importante des séquences centromériques entre

les genres *Apodemus* et *Mus*. De plus, il a été montré que *A. sylvaticus* présente une distribution normale des séquences répétées télomériques, aux extrémités de chaque chromosome ; aucune séquence télomérique interstitielle n'a été détectée, en accord avec Gornung et al. (2009) (Fig. 10a). La nature de l'hétérochromatine C+ présente en dehors des régions centromériques demeure, donc, inconnue.

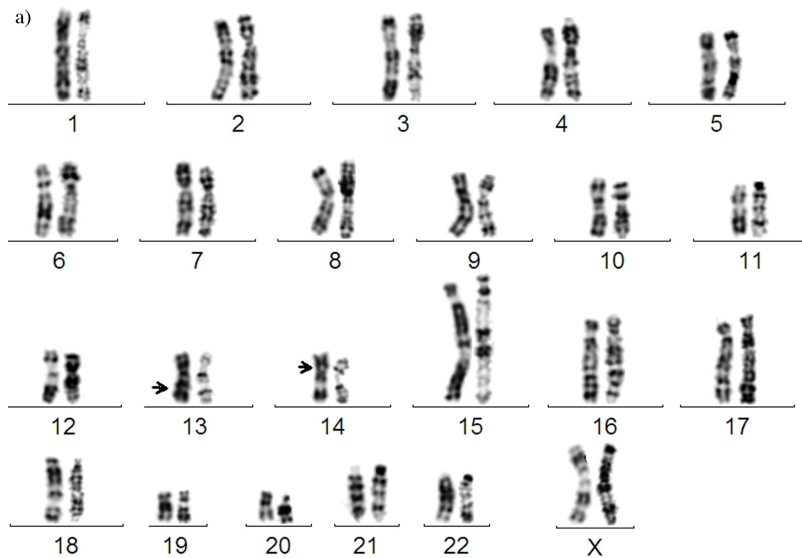
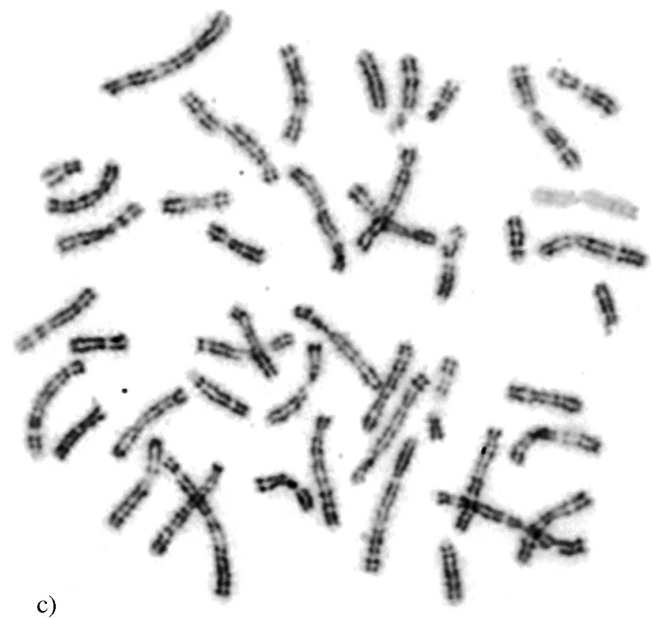
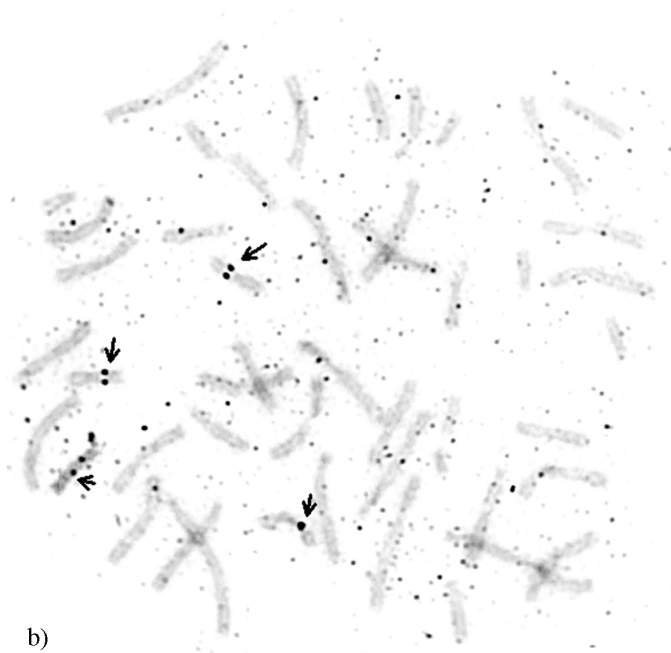


Figure 3 : *Eliomys munbyanus* (a) héli-caryotypes en bandes RBG (à gauche de chaque paire) et GBG (à droite de chaque paire), les flèches indiquent l'emplacement des NORs ; (b) métaphase après un traitement NOR, les flèches indiquent la localisation des organisateurs nucléolaires ; (c) même métaphase en bandes RBG.

Figure 3: *Eliomys munbyanus* (a) half-karyotypes in RBG bands (on the left of each chromosomal pair) and GBG bands (on the right of each chromosomal pair), arrows indicate NOR positions; (b) metaphase after NOR treatment, arrows : NOR positions; (c) same metaphase in RBG bands.



Lemniscomys barbarus (Linnaeus, 1766)

Cette espèce est la seule du genre connue au nord du Sahara (Maroc, Algérie, Tunisie). Un même caryotype a été observé pour deux individus provenant de deux localités différentes. Il comporte $2N = 54$, XY et NFa = 58, en accord avec celui d'un individu algérien et de 8 individus marocains précédemment analysés (Filipucci et al. 1986, Stitou et al. 1997) (Fig. 5a). Un marquage en bandes C montre la

présence d'hétérochromatine en position centromérique pour tous les autosomes et confirme que la majorité des autosomes sont acrocentriques. Seule la plus grande paire d'autosomes est subtélocentrique et présente un site C+ interstitiel, et, deux paires de petits autosomes sont submétacentriques. Les chromosomes X et Y sont submétacentriques. La majorité du bras court ainsi qu'une bande interstitielle du bras long du chromosome X et la

quasi-totalité du Y contiennent de l'hétérochromatine constitutive C+ (Fig. 5b). Il a été montré que ces régions s'apparient en méiose (Stitou *et al.* 1997). Cette répartition des bandes C diffère de celle de Filipucci *et al.* (1986) : l'individu algérien, au contraire des spécimens marocains (Stitou *et al.* 1997 et données présentées) ne présente pas de bande C interstitielle sur le X et possède un Y non coloré en bandes C. Les NORs sont localisés à l'extrémité du bras court de 2 paires d'autosomes, les chromosomes 1 et 2, et en position terminale sur le bras long du chromosome 4 en accord avec Stitou *et al.* (1997) mais différent des données de Filipucci *et al.* (1986) qui identifie 2 paires autosomiques porteuses de NOR. Les deux individus marocains de cette étude présentent, donc, un caryotype identique, un même profil en bandes C ainsi qu'une même organisation des NORs que les individus de la province de Fès, analysés par Stitou *et al.* (1997).

Mus (mus) musculus domesticus (Linnaeus, 1758)

La souris domestique présente une large répartition en Afrique du Nord et Eurasie. Le spécimen piégé présente un caryotype standard de $2N = 40, XX$, avec uniquement des chromosomes acrocentriques (NFa = 38) (Fig. 6). La nature acrocentrique de tous les chromosomes est validée par un marquage en bandes C. Aucune autre région ne présente de coloration en bandes C. Ce caryotype correspond au caryotype conservé ancestral pour le sous-genre *Mus* (Pialek *et al.* 2005, Cazaux *et al.* 2013). Sept localisations principales des NORs ont été identifiées sur les bras courts des chromosomes 3, 11, 13, 15, 16, 17 et 19 en position terminale. Un site supplémentaire a été détecté par comparaison avec l'étude de Cazaux *et al.* (2011). De nombreux sites secondaires, de faible intensité, sont détectables sur les bras courts de différents chromosomes en position terminale. Ce nombre de NOR différent entre les deux études s'explique par la technique utilisée qui révèle uniquement les régions exprimées.

Mus (mus) spretus (Lataste, 1883)

Cette espèce méditerranéenne se rencontre en Afrique du Nord et dans le sud de l'Europe. Six spécimens, trois mâles et trois femelles, provenant de trois localités différentes ont été analysés. Ils présentent un caryotype à $2N = 40, XX$ ou XY (Cheniti *et al.* 1985), composé uniquement de chromosomes acrocentriques (NFa = 38) (Fig. 6). Les bandes C sont limitées aux régions centromériques, confirmant l'indice centromérique des chromosomes. Les NORs sont localisés à l'extrémité des bras longs des chromosomes 4, 10 et 19. Aucune différence caryotypique n'a été observée entre eux, ni avec la souris domestique (Fig. 6), excepté la position des NORs.

Une sonde centromérique de la séquence satellite mineur a été utilisée pour comparer *M. musculus* et *M. spretus*. En effet, l'étude de la région centromérique des *Mus* a montré une distribution différente des séquences répétées entre espèces et la prépondérance quantitative du satellite mineur chez *M. spretus* (Cazaux *et al.* 2013, Garagna *et al.* 1993, Narayanswami *et al.* 1992). Sur 10 métaphases analysées par individu, l'intensité de fluorescence apparaît plus faible pour *M. musculus* que pour *M. spretus*, comme attendu (Garagna *et al.* 1993). De plus, l'intensité du signal est variable en fonction des chromosomes, avec l'intensité la plus élevée pour le chromosome X de *M. musculus* (Fig. 10b).

Rattus rattus (Linnaeus, 1758)

Cette espèce présente un caryotype pouvant varier de $2N = 38$ à 42 , à cause de la présence de chromosomes B surnuméraires. Le caryotype le plus commun est $2N = 38$, semblable à celui de l'individu étudié. Il présente 9 paires d'autosomes métacentriques ou submétacentriques, 2 paires sub-télocentriques (10 et 17) et 7 paires acrocentriques (NFa = 58). Les chromosomes X et Y sont acrocentriques (Fig. 7a, Stitou *et al.* 2000). Les bandes C ont une position centromérique attendue ; le Y contient une grande région hétérochromatique C+ en position proximale (données non présentées). Les NORs sont portés sur les bras courts de quatre chromosomes acrocentriques, les 13, 15, 16 et 18, au contraire de Cavagna *et al.* (2002) qui ne localisent que 3 NORs (Fig. 7b et 7c). Ce nombre différent de sites s'explique par la technique utilisée qui révèle uniquement les ADN ribosomiques actifs. L'individu étudié ne présente pas de chromosome B contrairement à la sous-espèce *frugivorus* (Cavagna *et al.* 2002).

Gerbillus campestris Levaillant, 1857

Cette espèce méditerranéenne de gerbillinés se rencontre au Maroc, en Algérie et au sud du Sahara (Nicolas *et al.* 2014). Cinq spécimens, 4 mâles et 1 femelle, provenant de trois localités différentes, ont été analysés. Ils présentent un caryotype, semblable à celui publié par Gamperl & Vistorin (1980), avec $2N = 56, XX$ ou XY , composé de 7 paires d'autosomes submétacentriques et 20 paires d'acrocentriques (NFa = 68). Les chromosomes X et Y sont submétacentriques avec un Y très grand (Fig. 8a). Le marquage en bandes C est limité aux régions centromériques, excepté pour les chromosomes X et Y, et valide l'indice centromérique des chromosomes. Aucun bras hétérochromatique n'est observé au contraire d'autres espèces de Gerbillinae (Viégas-Péquignot *et al.* 1984, Volobouev *et al.* 1995a). Le chromosome 3 présente un marquage C+ limité au centromère, au contraire de Gamperl & Vistorin (1980) qui le décrivent comme totalement coloré en bandes C (Fig. 8b). Les marquages RBG et GBG mettent en évidence quatre chromosomes de réplication tardive (réplication en fin de phase S du cycle cellulaire), très pâles en bandes RBG et sombres en bandes GBG (données non présentées). Il s'agit des chromosomes X, Y et de la paire autosomique n°3. La coloration sombre des gonosomes X et Y, après un marquage CBG, atteste de la présence d'une quantité importante d'hétérochromatine dans leur composition. La réplication tardive du chromosome 3 ainsi que le polymorphisme de taille et la position variable du centromère, observés pour ce chromosome, suggèrent sa composition hétérochromatique et son statut de chromosome surnuméraire ou chromosome B (Fig. 8c). D'autres études ont également montré la présence d'une paire autosomique acrocentrique ou submétacentrique de type surnuméraire dans diverses espèces du genre *Gerbillus* (Volobouev *et al.* 1995b). Les NORs sont portés par quatre paires d'autosomes en position terminale, sur le bras court du chromosome submétacentrique n°7 et des acrocentriques 8, 9 et 27 ainsi que sur le bras long du chromosome 9 (Fig. 8a). Le caryotype de *G. campestris* est considéré comme très conservé dans le genre *Gerbillus* (Abiadh *et al.* 2010).

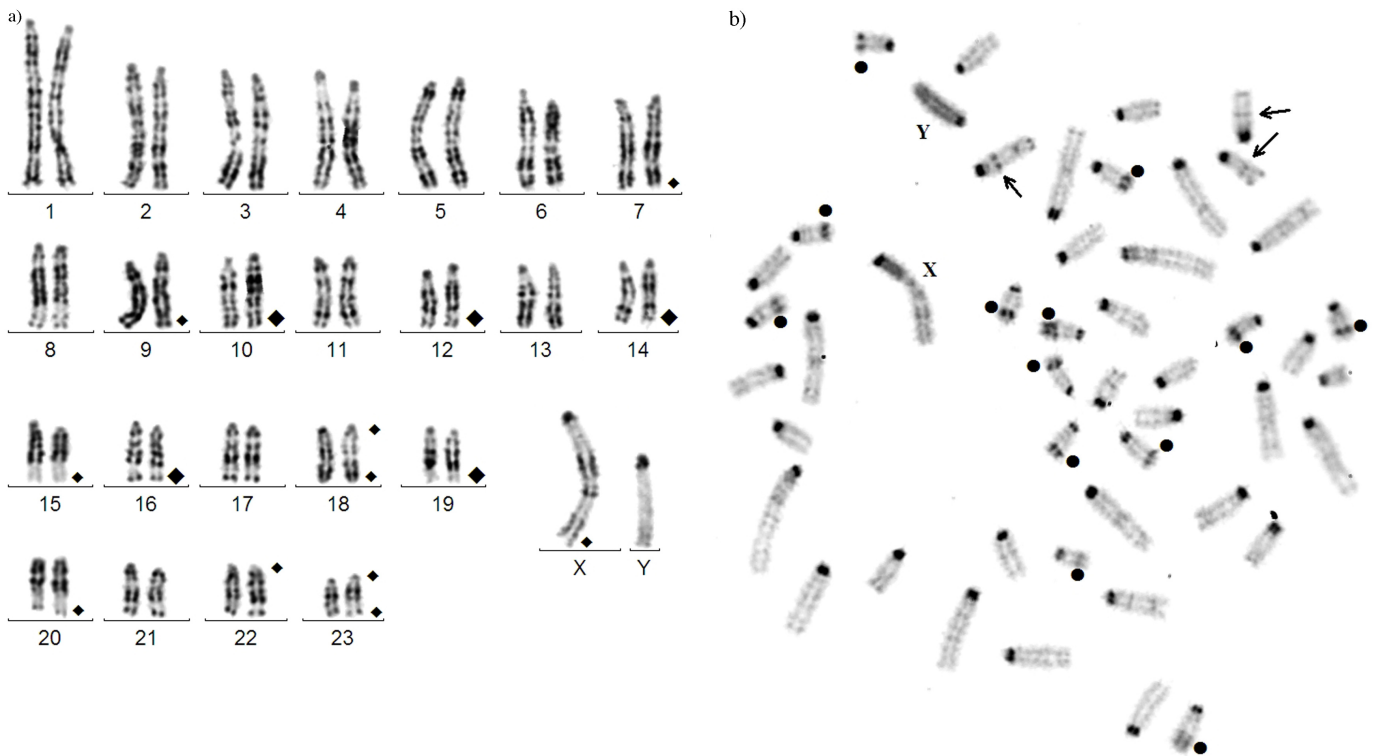


Figure 4: *Apodemus sylvaticus* (a) caryotype en bandes RBG, gros losanges : emplacement des NORs principaux, petits losanges : emplacement des NORs secondaires ; (b) métaphase en bandes CBG, points noirs : bandes C terminales, flèches : bandes C interstitielles, X : chromosome X, Y : chromosome Y.

Figure 4: *Apodemus sylvaticus* (a) RBG-karyotype, big diamonds: most recurrent NOR positions, Small diamonds: secondary NOR positions; (b) metaphase after CBG treatment, black dots: bands C+ in terminal position, arrows: bands C+ in interstitial position, X: chromosome X, Y: chromosome Y.

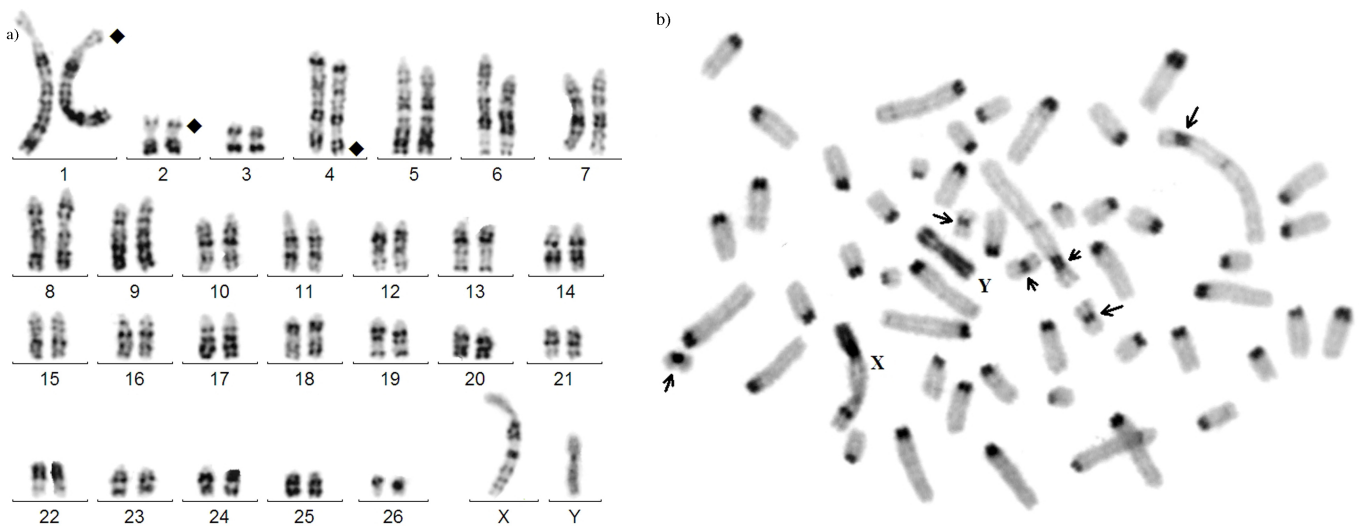


Figure 5 : *Lemniscomys barbarus* (a) caryotype en bandes RBG, les losanges indiquent l'emplacement des NORs ; (b) métaphase en bandes CBG, les flèches indiquent les chromosomes métacentriques et submetacentriques, X : chromosome X, Y : chromosome Y.

Figure 5: *Lemniscomys barbarus* (a) RBG-karyotype, diamonds: NOR positions; (b) metaphase after CBG treatment, arrows : metacentric and submetacentric chromosomes, X: chromosome X, Y: chromosome Y.

Figure 6 : héli-caryotype en bandes RBG de *Mus musculus domesticus* (à gauche de chaque paire chromosomique) et *Mus spretus* (à droite de chaque paire chromosomique). Aucune différence caryotypique n'est observée en bandes RBG.

Figure 6: half-karyotypes in RBG bands from *Mus musculus domesticus* (on the left of each chromosomal pair) and *Mus spretus* (on the right of each chromosomal pair). No karyotypic variation was observed between the two species in RBG bands.

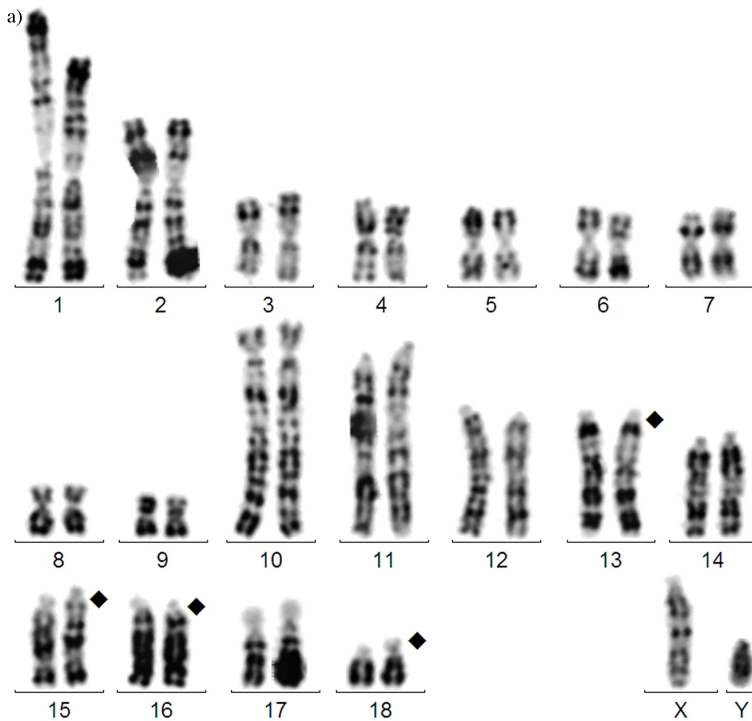
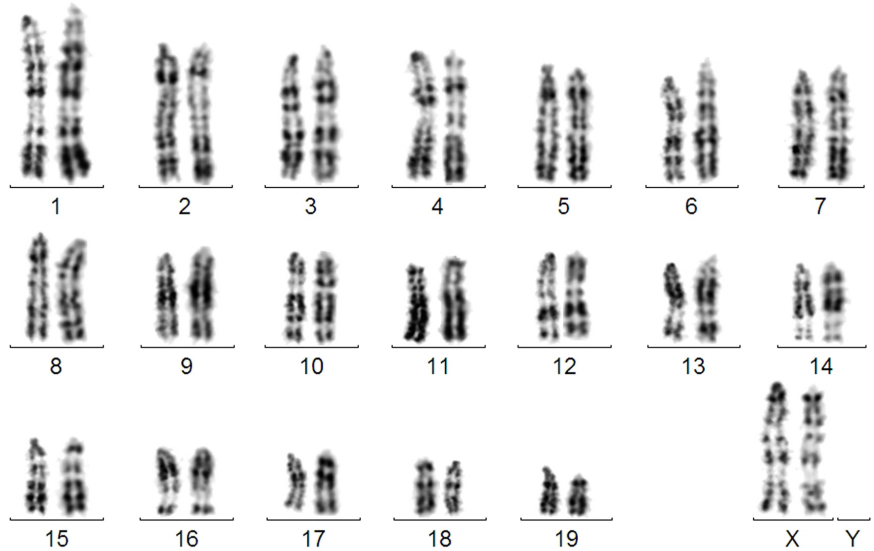
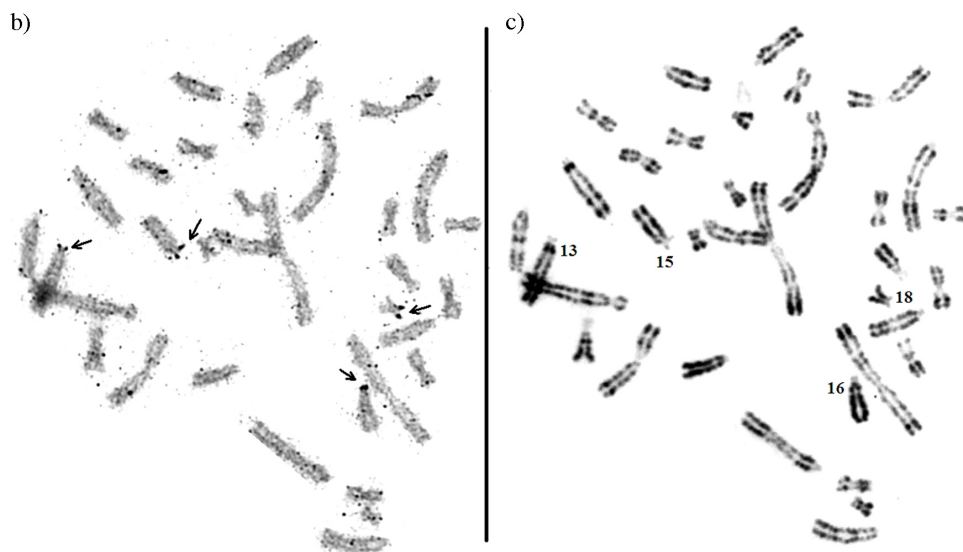


Figure 7 : *Rattus rattus* (a) caryotype en bandes RBG, les losanges indiquent l'emplacement des NORs ; (b) métaphase après un traitement NOR, les flèches indiquent la localisation des organisateurs nucléolaires ; (c) même métaphase en bandes RBG.

Figure 7: *Rattus rattus* (a) RBG-karyotype, diamonds: NOR positions; (b) metaphase after NOR treatment, arrows: NOR positions; (c) same metaphase in RBG bands.



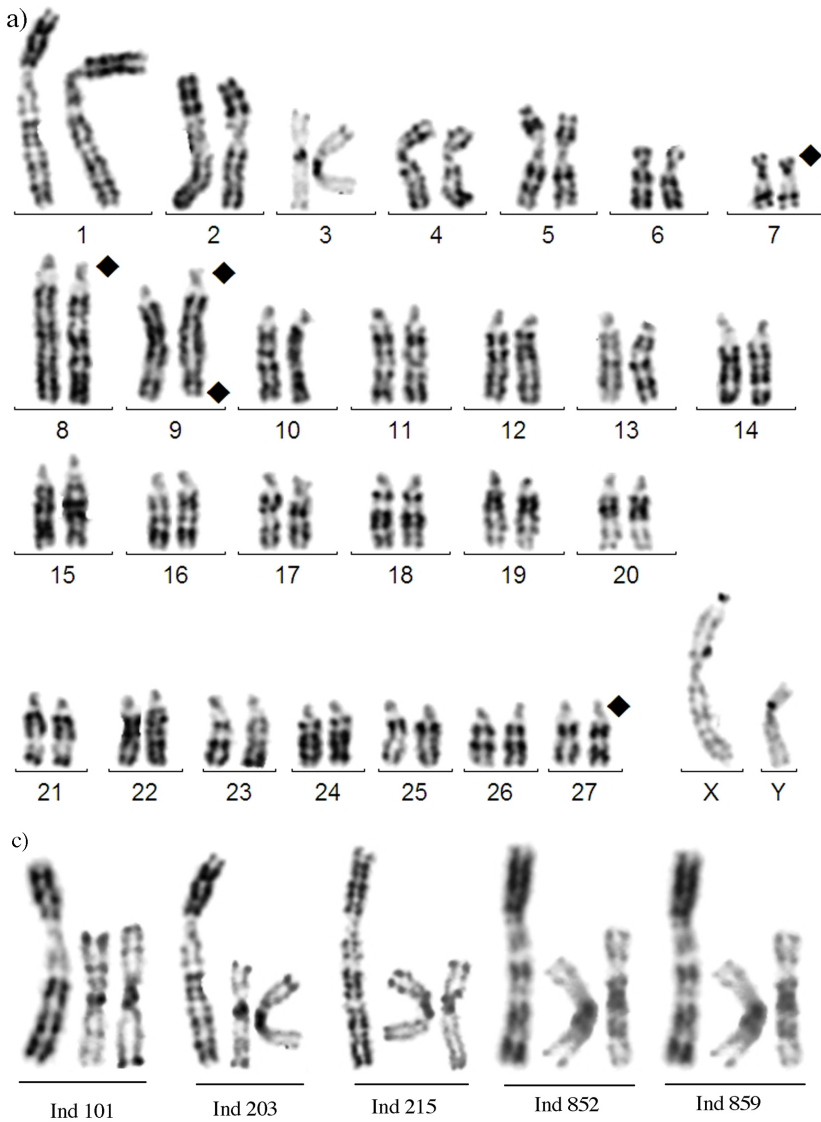


Figure 8: *Gerbillus campestris* (a) caryotype en bandes RBG, les losanges indiquent l'emplacement des NORs ; (b) métaphase en bandes CBG ; (c) comparaison en bandes RBG du chromosome 1 (à gauche de chaque triplet de chromosomes) et de la paire n° 3 (à droite de chaque triplet), chez les cinq individus (Ind).

Figure 8: *Gerbillus campestris* (a) RBG-karyotype, diamonds: NOR positions; (b) metaphase after CBG treatment; (c) comparison of chromosome 1 (on the left of each chromosomal triplet) and of chromosomal pair n°3 (on the right of each triplet) in RGB bands, in the five individuals (Ind).

Meriones shawii (Duvernoy, 1842)

La mérione de Shaw est une espèce très répandue en Afrique du Nord (du Maroc à l’Égypte). Dix-huit spécimens, huit mâles et dix femelles, provenant de cinq localités, ont été analysés. Ils présentent un caryotype, semblable à celui publié par Benazzou *et al.* (1982), à $2N = 44$, XX ou XY, composé de 16 paires d’autosomes méta- ou submétacentriques et de 5 paires d’acrocentriques (NFa = 74). Les chromosomes X et Y sont submétacentriques (Fig. 9a). Les chromosomes 21, X et Y, très pâles en bandes RBG, apparaissent au contraire très sombres en bandes GBG et CBG (Fig. 9a et 9b), preuve de leur richesse en hétérochromatine. Aucune différence entre les caryotypes des dix-huit individus n’a pu être observée, excepté pour la paire autosomique n° 21 et le chromosome Y, dont l’indice centromérique et la taille varient d’un individu à l’autre et entre chromosomes homologues pour le 21 (Fig. 9c). Ce polymorphisme chromosomique correspond à des variations

dans les quantités d’hétérochromatine et suggère que l’autosome n° 21 est un chromosome surnuméraire ou chromosome B. Les NORs sont localisés en position terminale sur le bras court du chromosome 12 et des acrocentriques 16, 17, 18, 19 et 20 ; un site secondaire est observé en position interstitielle sur le chromosome 5p (Fig. 10a). L’hybridation *in situ* avec la sonde télomérique montre la présence de sites télomériques interstitiels (ITS) hautement amplifiés en région péri-centromérique des chromosomes métacentriques et submétacentriques (Fig. 10c). Cette localisation anormale des séquences télomériques s’expliquent par une évolution de ce groupe due à des remaniements chromosomiques de type fusion robertsonienne (fusion de deux chromosomes acrocentriques par leurs régions centromériques) suivis par des phénomènes d’amplification locale des ITS, stabilisant la nouvelle structure chromosomique. Le même patron a été observé chez *M. unguiculatus* (De la Fuente *et al.* 2014).

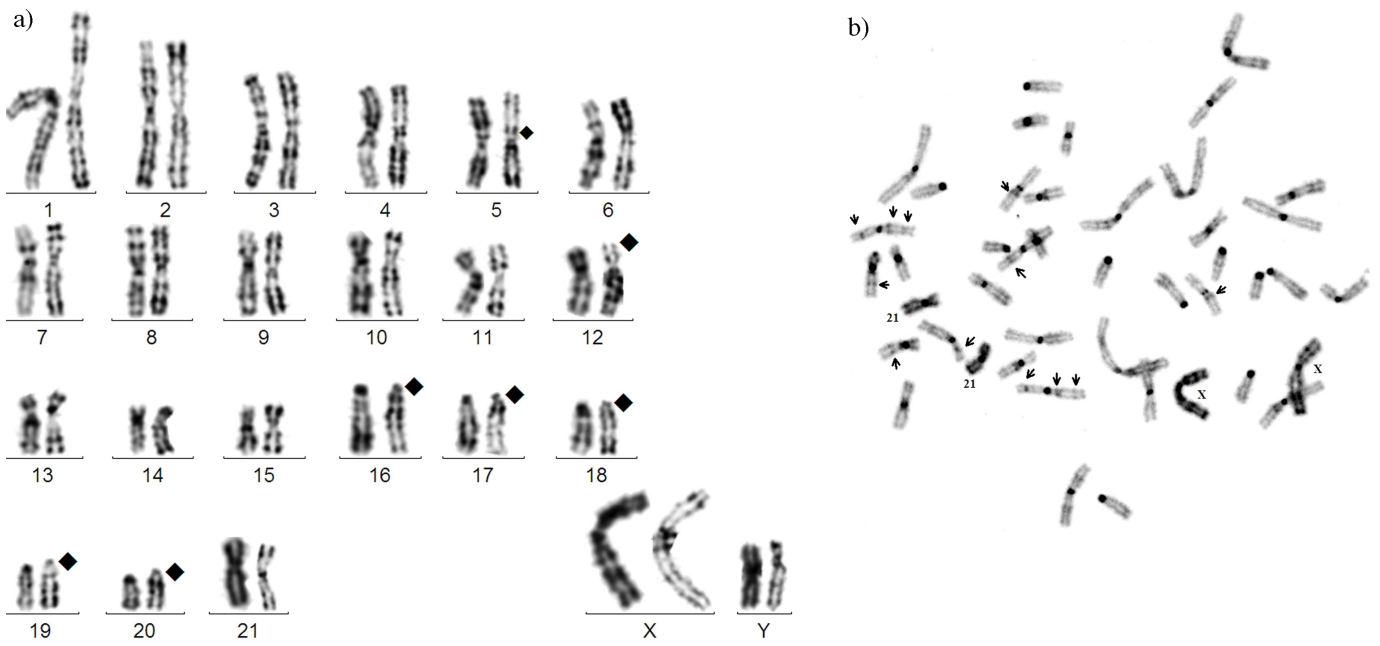


Figure 9 : *Meriones shawii* (a) hémi-caryotypes en bandes GBG (à gauche de chaque paire) et RBG (à droite de chaque paire), gros losanges : emplacement des NORs principaux, petit losange : emplacement d'un NOR secondaire ;

(b) métaphase en bandes CBG, les flèches indiquent les bandes C interstitielles, 21: chromosome 21, X : chromosome X ; (c) comparaison en bandes RBG du chromosome 10 (à gauche de chaque triplet de chromosomes) et de la paire n° 21 (à droite de chaque triplet), chez sept des individus (Ind). On remarque que la taille et l'indice centromérique du chromosome 21 varient.

Figure 9: *Meriones shawii* (a) half-karyotypes in GBG bands (on the left of each chromosomal pair) and RBG bands (on the right of each chromosomal pair), big diamonds: most recurrent NOR positions, Small diamond: secondary NOR position; (b) metaphase after CBG treatment, arrows : interstitial C+ bands, 21: chromosome 21, X: chromosome X; (c) comparison of chromosome 10 (on the left of each chromosomal triplet) and of chromosomal pair n° 21 (on the right of each triplet) in RBG, in the seven individuals (Ind). We can see that the length of chromosome 21 and its centromeric index vary.

CONCLUSION

Les caryotypes en bandes RBG et GBG de dix espèces de petits mammifères ont été établis et ont confirmé les identifications morphologiques. Les caryotypes en bandes pour deux des espèces (*E. rozeti* et *C. russula*) sont présentés pour la première fois. Des informations complémentaires sur l'organisation chromosomique des régions centromériques, télomériques et répétées ont été obtenues par cytogénétique classique et hybridation *in situ* en fluorescence pour certains spécimens.

Aucune espèce cryptique n'a pu être identifiée chez *G. campestris*, *M. shawii*, *M. spretus*, *A. sylvaticus*, *L. barbarus*, rongeurs pour lesquels nous avons plusieurs spécimens. La présence de séquences télomériques interstitielles chez *M. shawii* a pu être interprétée comme la trace d'évènements de fusions robertsoniennes survenues lors de l'évolution des *Meriones*. Enfin, la présence de chromosomes B chez *G. campestris* et *M. shawii*, comme chez d'autres espèces de mériones (*M. crassus* et *M. libycus*), soulève la question de leur rôle. L'étude de leur composition génomique permettrait d'élucider leur implication dans l'évolution de ces groupes.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le projet ANR-PEXT-004 MOHMIE pour le financement des expériences de cytogénomique ainsi que l'ensemble RBcell du MNHN pour le financement des cultures de cellules et le conditionnement des prélèvements dans la banque « Tissus et cellules cryopréservés de Vertébrés » ; les permis de capture et la collecte de matériel génétique ont reçu l'aval du Haut Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification (autorisation n° 15 HCEFLCD / DLCDPN / DPRN / CFF), dans le cadre d'une convention de collaboration entre l'Institut Scientifique de Rabat et le Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris ; Christiane Denys, coordinatrice des missions et responsable de l'ANR ; Emmanuelle Stoetzel, Arnaud Delapré, Violaine Nicolas, Aude Lalis, Aberhamane Mataame, Hicham El Brini, Sohaib Liefriid, Loubna Tifraouine, Léa Bourg, Makhlof Sekour, pour avoir effectué les prélèvements et le conditionnement des tissus sur le terrain ; C. Escudé (MNHN-UMR 7196 CNRS-INSERM) pour nous avoir gracieusement donné les sondes LNA télomérique et centromérique murine.

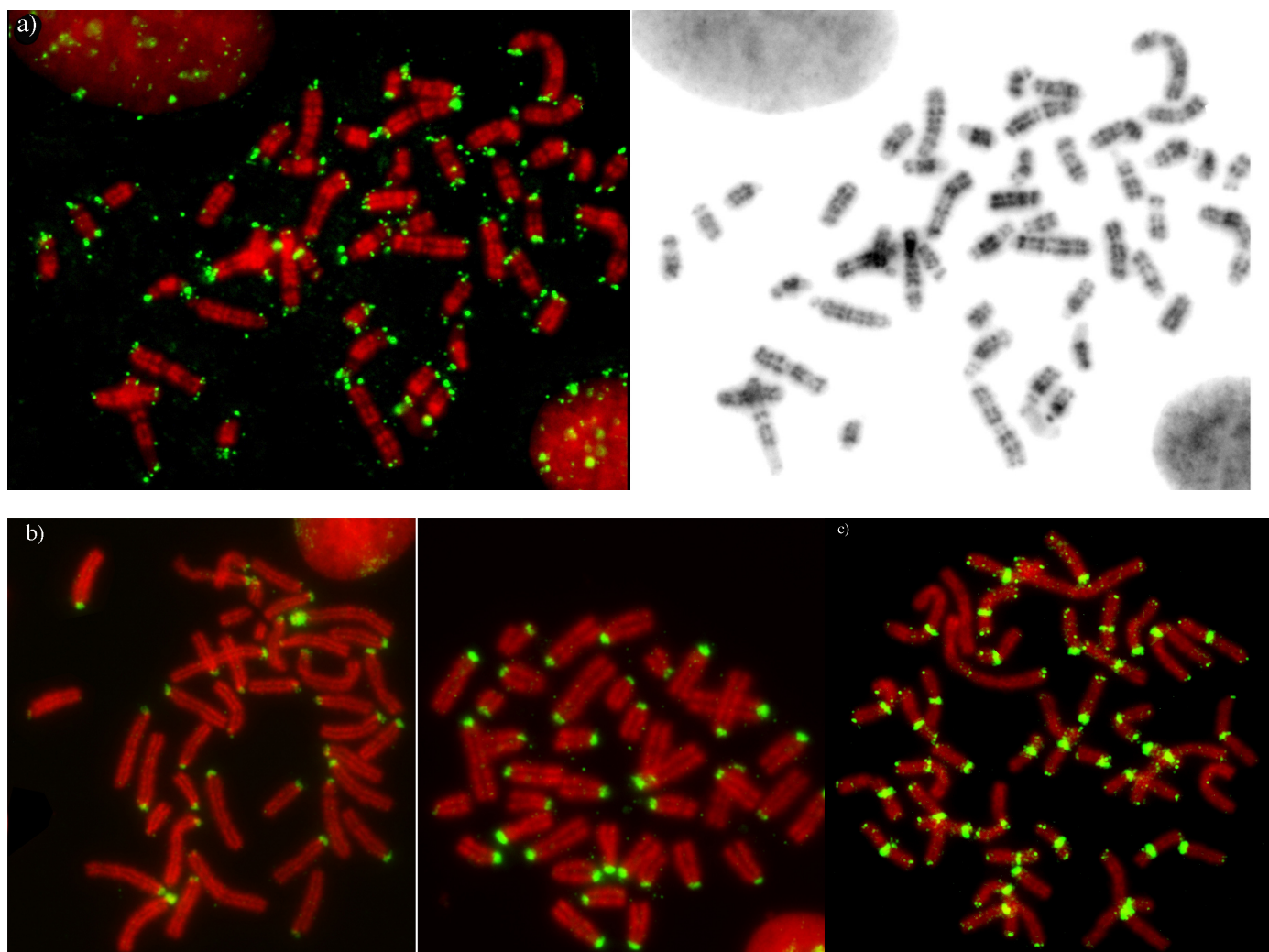


Figure 10 : (a) métaphase d'*Apodemus sylvaticus* après hybridation *in situ* avec la sonde télomérique. Gauche : la sonde télomérique est révélée en vert et les chromosomes sont colorés en orange par l'iodure de propidium (IP) ; droite : même métaphase en réverse-IP, permettant l'identification des chromosomes ; (b) métaphases (orange) après hybridation *in situ* avec la sonde satellite mineur de souris (vert) ; gauche : métaphase de *Mus musculus*, les signaux les plus importants correspondent aux centromères du chromosome X ; droite : métaphase de *Mus spretus* présentant des signaux centromériques de plus forte intensité ; (c) métaphase de *Meriones shawii* (orange) après hybridation *in situ* avec la sonde télomérique (vert), les signaux télomériques sont difficilement visibles à cause de la forte intensité des séquences télomériques interstitielles (ITS) péricentromériques.

Figure 10: (a) *Apodemus sylvaticus* metaphase after *in situ* hybridisation with the telomeric probe. Left: the telomeric probe is revealed in green and chromosomes in orange with propidium iodide (PI); right: the same metaphase in reverse-PI, allowing chromosomes identification; (b) metaphases (orange) after *in situ* hybridisation with the minor satellite probe of the mouse (green) ; left: *Mus musculus* metaphase, the brightest spots correspond to the centromere of the X chromosome, right: *Mus spretus* metaphase showing more intense centromeric spots; (c) *Meriones shawii* metaphase (orange) after *in situ* hybridisation with the telomeric probe (green), telomeric spots are very thin comparing to interstitial telomeric sequences (ITS) with pericentromeric position.

REFERENCES

- Abiadh A., Chetoui M., Lamine-Cheniti T. *et al.* 2010. Molecular phylogenetics of the genus *Gerbillus* (Rodentia, Gerbillinae): Implications for systematics, taxonomy and chromosomal evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(2), 513-518.
- Aulagnier S. & Thévenot M. 1986. *Catalogue des mammifères sauvages du Maroc*. Travaux de l'Institut Scientifique, Rabat, Série zoologie, 41.
- Benazzou T., Viegas Pequignot E., Petter F. *et al.* 1982a. Phylogénie chromosomique de 4 espèces de *Meriones* (Rongeur, Gerbillidae) *Annales de Génétique*, 25(11), 19-24.
- Benazzou T., Viégas-Péquignot E., Petter F. *et al.* 1982b. Phylogénie chromosomique des Gerbillinae. II. Etude de six *Meriones*, de *Taterillus gracilis* et de *Gerbillus tytonis*. *Annales de Génétique*, 25(4), 212-217.
- Cavagna P., Stone G. & Stanyon R. 2002. Black rat (*Rattus rattus*) genomic variability characterised by chromosome painting. *Mammalian Genome*, 13, 157-163.
- Cazaux B., Catalan J., Veyrunes F. *et al.* 2011. Are ribosomal clusters rearrangement hotspots? A case study in the genus *Mus* (Rodentia: Muridea). *BMC Evolutionary Biology*, 11, 124-137.
- Cazaux B., Catalan J., Justy F. *et al.* 2013. Evolution of the structure and composition of house mouse satellite DNA

- sequences in the subgenus *Mus* (Rodentia: Muridae): a cytogenomic approach. *Chromosoma*, 122(3), 209-20.
- Cheniti T.L., Haouas Z. & Ben Hamida J.C. 1985. Biosystematic study of mice of the genus *Mus*: karyotype and electrophoretic analysis of total proteins. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 62(3), 251-9.
- De la Fuente R., Manterola M., Viera A. et al. 2014. Chromatin organization and remodelling of interstitial telomeric sites during meiosis in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Genetics*, 197, 1137-1151.
- Delibes M., Hiraldo F., Arroya J.J. et al. 1980. Disagreement between morphotypes and karyotypes in *Eliomys* (Rodentia Gliridae) : the chromosomes of the Central Morocco Garden dormouse. *Säugetierkunde Mitteilungen.*, 28, 4, 289-292.
- Dobigny G., Aniskin V. & Volobouev V. 2002. Explosive chromosome evolution and speciation in the gerbil genus *Taterillus* (Rodentia, Gerbillinae): a case of two new cryptic species. *Cytogenetic and Genome Research*, 96(1-4), 117-24.
- Dutrillaux B. & Couturier J. (1981) *La pratique de l'analyse chromosomique*. Masson (eds), Paris, pp 87.
- Filipucci M.G., Civitelli M.V. & Capanna E. 1986. The chromosomes of *Lemniscomys barbarus* (Rodentia Muridae). *Bollettino di Zoologia*, 53, 355-358.
- Filipucci M.G., Rodino E., Nevo E. et al. 1988. Evolutionary genetics and systematics of the garden dormouse, *Eliomys wagneri*, 1840. II: Allozyme diversity and differentiation of chromosomal races. *Bollettino di Zoologia*, 55:47-54.
- Gamperl R. & Vistorin G. 1980. Comparative study of G- and C-banded chromosomes of *Gerbillus campestris* and *Meriones unguiculatus* (Rodentia, Gerbillinae). *Genetica*, 52/53, 93-97.
- Garagna S., Redi C.A., Capanna E. et al. 1993. Genome distribution, chromosomal allocation, and organization of the major and minor satellite DNAs in 11 species and subspecies of the genus *Mus*. *Cytogenetics and cell genetics*, 64(3-4), 247-55.
- Gerbault-Seureau M., Bonnet-Garnier A., Richard F. et al. 2004. Chromosome painting comparison of *Leontopithecus chrysomelas* (Callitricine, Platyrrhini) with man and its phylogenetic position. *Chromosome Research*, 12: 691-701.
- Gornung E., Cristaldi M. & Castiglia R. 2009. Comparative cytogenetic analysis of the "sylvaeus" group of *Apodemus* (Rodentia, Muridae): *A. sylvaticus* from Sicily and *A. flavicollis* from the central Apennines. *Acta Theriologica*, 54 (3), 267-275.
- Hutterer R. 1986. The species of *Crociodura* in Morocco. *Mammalia*, 50(4), 521-534.
- Kingdon J., Happold D., Butynski T. et al. 2013. Mammals of Africa, Vol I: Introductory chapters and Afrotheria. Bloomsbury publishing, London.
- Maddalena T. 1990. Systematics and biogeography of Afrotropical and Palaearctic shrews of the genus *Crociodura* (Insectivora Soricidae) : an electrophoretic approach. In : G. Peters & R. Hutterer (eds). Vertebrates in the tropics. Museum Alexander Koenig, Bonn, 297-308.
- Maddalena T. & Ruedi M. 1994. Chromosomal evolution in the genus *Crociodura* (Insectivore: Soricidae). In: (Merritt J.F., Kirkland G.L. & Rose K.R. (eds). Advances in the biology of shrews *Carnegie Museum of Natural History*, special publication, 18, 335-344.
- Matthey R. 1957. Cytologie et taxonomie du genre *Meriones*, Illiger (Rodentia – Muridae – Gerbillinae). *Sonderdruck aus Säugetierkunde Mitteilungen*. Band V, 4, 1957, 145-150.
- Matthey R. 1959. Formules chromosomiques de « Muridae » et de « Spalacidae ». La question du polymorphisme chromosomique chez les Mammifères. *Revue Suisse de Zoologie*, 66, 175-209.
- Matsubara K., Nishida-Umehara C., Tsuchiya K., et al. 2004. Karyotypic evolution of *Apodemus* (Muridae, Rodentia) inferred from comparative FISH analyses. *Chromosome Research* 12(4), 383-95.
- Moreno, S. & Delibes M. 1982. Notes on the Garden dormouse (*Eliomys*, Rodentia, Gliridae) of Northern Morocco. *Säugetierkunde Mitteilungen*, 30(3) : 212-215.
- Nadjafova R. S. 2008. Cytogenetic recognition of the common wood mouse, *Sylvaemus sylvaticus* s.l. (Mammalia : Rodentia : Muridae), in European Russia. *Comparative Cytogenetics*, 2, 1-6.
- Narayanswami S., Doggett N., Clarck L. et al. 1992. Cytological and molecular characterization of centromeres in *Mus domesticus* and *Mus spretus*. *Mammalian Genome*, 2, 186-194.
- Ndiaye A., Bâ K.H., Aniskin V. et al. 2012. Evolutionary systematics and Biogeography of endemic gerbils (Rodentia, Muridae) from Morocco : an integrative approach. *Zoologica Scripta*, 41(1), 11-28.
- Nicolas V., Bryja J., Akpatou B. et al. 2008. Comparative phylogeography of two sibling species of forest-dwelling rodent (*Praomys rostratus* and *P. tullbergi*) in West Africa: different reactions to past forest fragmentation. *Molecular Ecology* 17(23), 5118-5134.
- Nicolas V., Ndiaye A., Benazzou T. et al. 2014. Phylogeography of the North African Dipodil (Rodentia: Muridae) Based on Cytochrome b Sequences". *Journal of Mammalogy*, 95(2):241-253.
- Novà P. Reutter B.A., Rabovà M. et al. 2002. Sex chromosome heterochromatin variation in the wood mouse, *Apodemus sylvaticus*. *Cytogenetic and Genome Research*, 96, 186-190.
- Popescu P., Hayes H. & Dutrillaux B. 2000. *Techniques of animal cytogenetics*. INRA Eds, pp 260.
- Sannier J., Gerbault-Seureau M., Dutrillaux B. et al. 2011. Conserved but very different karyotypes in Gliridae and Sciuridae. *Cytogenetic and Genome Research*, 134(1), 51-63.
- Smit H.A., Robinson T. J., Watson J. et al. 2008. A New Species of Elephant-shrew (Afrotheria: Macroscelidea: *Elephantulus*) from South Africa. *Journal of Mammalogy*, 89 (5), 1257-1268.
- Stitou S., Burgos M., Zurita F. et al. 1997. Recent evolution of NOR-bearing and sex chromosomes of the North African rodent *Lemniscomys barbarus*. *Chromosome Research*, 5, 481-485.
- Sumner A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 75, 304-306.
- Thévenot M. & Aulagnier S. 2006. Mise à jour de la liste des mammifères du Maroc- Janvier 2006. *Go-South Bulletin*, 3: 6-9.
- Viégas-Péquignot E., Benazzou T., Prod'Homme M. et al. 1984. Characterization of a very complex heterochromatin in two *Gerbillus* species (Rodentia). *Chromosoma*, 89, 42-47.
- Viégas-Péquignot E., Petit D., Benazzou T. et al. 1986. Phylogénie chromosomique chez les Sciuridae, Gerbillidae et Muridae, et étude d'espèces appartenant à d'autres familles de rongeurs. *Mammalia*, 50 n° special, 164-202.
- Vogel P., Maddalena T. & Aulagnier S. 1988. Le caryotype de *Crociodura bolivari Morales Agacino, 1934* (Mammalia, Soricidae). *Revue Suisse de Zoologie*, 95, 779-783.
- Vogel P., Mehmeti A.M., Dubey S. et al. 2006. Habitat, morphology and karyotype of the saharan shrew *Crociodura*

- tarfayensis* (Mammalia : Soricidae). *Acta Theriologica*, 51, 353-361.
- Volobouev V., Vogt N., Viégas-Péquignot E. *et al.* 1995a. Characterization and chromosomal location of two repeated DNA in three species. *Chromosoma*, 104, 252-259.
- Volobouev V., Lombard M., Tranier M. *et al.* 1995b. Chromosome-banding study in Gerbillinae (Rodentia). I. Comparative analysis of *Gerbillus poecilops*, *G. henleyi* and *G. nanus*. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 33, 54-61.
- Volobouev V., Aniskin V., Lecompte E. *et al.* 2002. Patterns of karyotype evolution in complexes of sibling species within three genera of African murid rodents inferred from the comparison of cytogenetic and molecular data. *Cytogenetic and Genome Research*, 96 (1-4), 261-75.
- Wilson D. E. & Reeder D. M. 2005. *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*, 3rd ed. Johns Hopkins University Press, 2142 p.