

## Apport de la génétique pour l'étude de la population de caïmans noirs (*Melanosuchus niger*) de Guyane



Diversité des habitats du caïman noir en Guyane: diversité de la population ?

---

Benoit de Thoisy  
Décembre 2002

## **REMERCIEMENTS**

Cette étude a été financée par la Diren Guyane (convention KWATA 57-20/70 en date du 25 / 09 /2001), avec la participation logistique et technique de la Réserve naturelle des marais de Kaw Roura.

Le travail en laboratoire a été effectué à l'Institut Pasteur de la Guyane, qui a mis gracieusement à disposition une structure adéquate; les Directeurs MM. Sarthou et Morvan en sont remerciés; ainsi que Anne Lavergne pour son aide technique et scientifique tout au long de ce travail.

M. Travis Glenn (Université de Georgie, USA) et M. Luciano Verdade (Université de São Paulo, Brésil) ont mis à disposition des résultats inédits de leurs travaux.

## **SOMMAIRE**

<b>Introduction</b>	p. 3
<b>Eléments fondamentaux</b>	p. 5
<b>Méthodes</b>	p. 6
- Analyses	p. 6
- Sites de prélèvements et nombre d'échantillons	p. 9
<b>Résultats</b>	p. 10
- criblage des microsatellites existants	p. 10
- diversités génétiques et structuration des populations	p. 11
<b>Conclusions</b>	p. 14
<b>Références</b>	p. 16

## INTRODUCTION

Après de nombreuses applications chez d'autres taxons (mammifères, poissons) [Taylor *et al.*, 1994; Taberlet *et al.*, 1997; Lavergne, 1998], les outils génétiques sont désormais de plus en plus utilisés au sein du groupe des Crocodiliens. Une session spéciale "ADN et Crocodiliens" s'est tenue à l'occasion du dernier colloque du Groupe des experts "crocodiliens" de l'Union Mondiale pour la Nature (Floride, octobre 2002). Des applications de génétique en phylogénie [Ray & Densmore, 2002], biogéographie [Farias *et al.*, 2002], gestion des populations captives [Verdade *et al.*, 2002], et connaissances de populations sauvages [de Thoisy *et al.*, 2002] y ont notamment été présentées.

En fonction des objectifs recherchés et des unités taxonomiques, spatiales et temporelles, étudiées, plusieurs outils déjà au point chez de nombreux taxons animaux et végétaux sont désormais à la disposition des travaux portant sur les Crocodiliens [Glenn, 2002]. Parmi les plus classiques,

- l'*ADN mitochondrial* est un outil de choix pour travailler au niveau de l'espèce. Il permet de comprendre comment les populations ont pu s'isoler les unes de autres, ou au contraire si elles sont en relation, et comment l'espèce a pu se distribuer, dans le temps et dans l'espace, sur son aire de répartition actuelle. Le travail présenté lors de ce dernier colloque a ainsi abordé la structure génétique de deux espèces de caïmans amazoniens: le caïman noir et le caïman à lunettes [Farias *et al.*, 2002].
- l'*ADN mirosatellite* est plus variable, et est utilisé pour travailler sur des échelles de temps et d'espace moins importantes. On cherche à évaluer la taille d'une population bien identifiée, l'origine précise des individus; la dynamique actuelle de la population: échanges génétiques (flux de reproducteurs), ségrégations, ... Dans le cas de l'étude de la population de Kaw, c'est ce dernier outil qui s'est donc imposé.

Suite aux premiers inventaires quantitatifs sur la réserve de Kaw [de Thoisy *et al.*, 2001], plusieurs interrogations se posaient. Par exemple, les comptages sur la rivière de Kaw ont mis en évidence des abondances très variables au cours de l'année: quelle est la taille effective de la population, à quoi correspondent ces variations ? La savane Angélique et l'Ilet Aïpoto sur l'Approuague sont des sites de nidification très importants: quelles sont les relations entre ces zones et une zone centrale très dépeuplée comme la rivière de Kaw ? En complément de l'étude écologique, une approche génétique utilisant les microsatellites, permet de répondre à certains points.

Il s'agit:

- 1) d'estimer la *diversité génétique* de cette population: une population à faible diversité génétique, du fait d'un nombre de reproducteurs insuffisants, risque un phénomène de dérive génétique qui mettrait en jeu à court terme sa viabilité;
- 2) de se rendre compte des *flux géniques* efficaces d'individus (à partir de la savane Angélique, qui pourrait servir de source, vers la rivière de Kaw par exemple, et à partir des îlets de l'Approuague, site de nidification important);
- 3) si possible, d'estimer *l'efficacité* (nombre de reproducteurs) de cette population, ce dernier paramètre dépendant de la qualité des marqueurs génétiques disponibles.

## ELEMENTS FONDAMENTAUX

L'ADN, support nucléaire des **gènes**, est composé de 4 unités chimiques, dites "bases". Un gène correspond à un enchainement précis (**séquence**) et spécifique de ces bases; les différentes "formes" (= séquences) qui peuvent exister pour un même gène sont les **allèles**; la position d'un gène sur le chromosome est le **locus**. A tout locus, un individu possède deux allèles, l'un hérité de sa mère, l'autre de son père. C'est la totalité de gènes qui caractérise l'individu: son espèce, les caractéristiques de sa population d'origine, ses caractères individuels. Une grande part de cet ADN a donc une fonction précise.

Sur la chaîne d'ADN, sont aussi dispersés des fragments dits "satellites" (mini- et microsatellites) qui sont dits "non codants", cela signifiant qu'il sont sans "signification" apparente, leur fonction est en fait inconnue. Ces fragments comprennent en région centrale des répétitions d'un motif de 1 à 5 paires de bases, pour une taille totale de plusieurs dizaines à quelques centaines de paires de bases (Figure 1).

```
TTTTCTTCTTT CTCCATTCTA GGCCTCATC ACATGCACAG AACATGCTTT  
GAGCATGTAT TGATAGGCTAT AAGTAACTTA GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT  
GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT GAAGTTACAT GTATTTAAGC  
TTCTGGATC
```

*Figure 1. Séquence d'un microsatellite défini chez l'alligator américain (Alligator mississippiensis). La partie en gras italique comprend 25 répétitions du motif GT. Les parties soulignées sont les amorces (cf. infra), les parties entre les amorces et les répétitions sont les régions "flanquantes".*

Du fait de cette non signification, ces fragments ne subissent aucune pression de sélection: ils sont ainsi généralement très polymorphes: de manière accidentelle, la répétition centrale telle qu'elle est présentée ci-dessus peut lors d'une réplication (lors de la multiplication ou de la division cellulaire), subir une **délétion** (un motif sera alors manquant, soit dans ce cas 24 répétitions du motif GT) ou une **insertion** (un motif répliqué en excès, soit 26 répétitions). Cela a pour conséquence, dans le premier cas, une diminution du poids de ce fragment, ou dans le second une augmentation. Ce sont, après isolement de ce fragment, ces différences de poids qui permettent de caractériser chaque individu.

## METHODES

### ***Préalable: relations avec les programmes de génétique des populations en cours***

Le travail de séquençage des microsatellites est très long. L'objet de cette étude n'étant pas de faire de la génétique fondamentale mais bien d'utiliser cet outil pour la connaissance de la population en place, les travaux préalablement effectués chez l'alligator américain (*Alligator mississippiensis*) et chez le caïman à museau plat (*Caiman latirostris*) ont servi de base à cette étude. Une équipe américaine (Université de Georgie) et une équipe brésilienne (Université de São Paulo) avaient déjà séquencé chez ces deux espèces plusieurs microsatellites, les amorces qu'ils avaient définies ont été utilisées chez le caïman noir, avec l'accord des responsables des travaux initiaux.

## **A- Analyses**

### **1) Obtention de l'ADN**

Le matériel biologique utilisé est une écaille caudale, prélevée par section sur la queue de l'animal (Figure 2), puis conservée dans l'alcool à 95°. Des essais comparatifs préalables avaient en effet montré que pour l'extraction d'ADN l'utilisation de fragments d'écailles donnait d'aussi bons résultats qu'une extraction à partir de sang, plus difficile à conserver sur le terrain [de Thoisy, 2002].

En laboratoire, cet échantillon est séché, subit un premier bain de protéase K / SDS, est broyé, puis un second bain pendant une nuit. Puis après un traitement par le phénol / chloroforme, puis par l'isoamyl, l'éthanol à 70° permet la précipitation et la récupération de l'ADN [Sambrock *et al.*, 1989].

### **2) Obtention des loci microsatellites**

La première étape est d'obtenir une très grande quantité du fragment utile, par la méthode de Polymerase Chain Reaction (**PCR**): à chaque échantillon d'ADN à caractériser sont ajoutés divers réactifs (eau, dNTP, tampon, polymérase), et un couple d'amorces. Une **amorce** est une séquence d'une vingtaine de paires de bases, située de part et d'autre du fragment microsatellite, et spécifique de ce dernier (Figure 1, page 5). A chaque cycle, les 2 brins d'ADN se séparent, et le fragment situé entre les 2 amorces est synthétisé: il y a ainsi une augmentation exponentielle de la quantité de fragment utile. Les séquences pour chacune de ces amorces ont été publiées dans le cas de l'alligator [Glenn *et al.*, 1998], et donc utilisables librement;

dans le cas du *C. latirostris*, elles ont été mises à disposition par l'équipe de São Paulo.

### **3) Révélations des loci microsatellites**

Pour tous les essais préalables (mise en évidence des microsatellites, optimisation des conditions de PCR: température, quantité d'ADN initiale), le produit de la PCR est mis à migrer par électrophorèse sur un gel d'agarose, avec un marqueur permettant de visualiser la présence, le cas échéant, du fragment recherché: si ce fragment était présent dans l'échantillon d'ADN à tester, il a normalement été répliqué, et est donc visualisé lors d'une exposition aux rayons ultraviolets (Figure 3).

Cette première étape a permis de voir quels microsatellites étaient retrouvés chez le caïman noir. Quand ce locus microsatellite est présent, la résolution en gel d'agarose n'est pour la suite pas suffisante pour distinguer les individus les uns des autres. Les différences attendues entre les différents animaux sont en effet minimes (une paire de bases en plus ou en moins), il est nécessaire d'augmenter la sensibilité. Pour cela, avant la PCR, l'une des amorces est marquée par un élément radioactif ( $^{33}\text{P}$ ), et le produit migre sur un gel de polyacrylamide révélé sur film photographique. La sensibilité de la lecture est augmentée et peut mettre en évidence de très légères variations de poids moléculaire, les fragments les plus lourds migrants moins vite (Figure 4). Tous les individus sont alors criblés, par microsatellite.

La lecture du gel permet, par microsatellite, de caractériser chaque individu: **homozygote** (le matériel génétique apporté par chacun des 2 ascendants est en fait le même allèle), ou **hétérozygote**: ces 2 fragments différents. La qualité d'un microsatellite est alors jugée sur le nombre d'allèles observés au sein de la population. Un microsatellite à 2 allèles ne permet en effet que peu de discrimination et se révèle très peu utile.

### **4) Analyses des résultats**

#### Déséquilibre de liaison

Pour chaque paire de loci, l'hypothèse d'un déséquilibre de liaison (fréquences alléliques non indépendantes entre 2 loci microsatellites, ce qui signifierait que les 2 loci donneraient une information redondante) a été testée par un test exact sur



tableau de contingence. Pour l'ensemble des loci, un test global (test de Bonferroni) a été effectué en combinant les probabilités.

### La diversité génétique globale

Les proportions de Hardy-Weinberg, relatives aux fréquences en hétérozyotes et homozygotes, renseignent sur le statut génétique de la population. Dans le cas de population présentant une trop forte proportion en individus homozygotes, le nombre de reproducteurs efficaces est faible, et il y a risque de consanguinité. La méthode des chaînes de Markov a été utilisée; l'ensemble des tests est réalisé en considérant l'hypothèse alternative de déficit en hétérozygotes.

Le coefficient de consanguinité est calculé par  $F = (H_0 - H) / H_0$

avec  $H$  = hétérozygotie observée,

$H_0$  = hétérozygotie obtenue si les croisements se faisaient au hasard (population panmictique).

### Analyses par sous-populations

Dans une population subdivisée, on distingue 3 niveaux de complexité: l'individu (I), la sous-population (S) et la population totale (T).

Les indices suivants considèrent:

$H_I$  : hétérozygotie observée d'un individu dans sa sous-population,

$H_S$  : hétérozygotie théorique d'un individu dans sa sous-population panmictique,

$H_T$  : hétérozygotie théorique d'un individu dans la population totale en panmixie.

Le coefficient de consanguinité  $F_{IS}$  est calculé à l'intérieur de la sous-population comme le  $F$  précédent, par  $F_{IS} = (H_S - H_I) / H_T$

L'index de fixation  $F_{ST}$  exprime la diminution de l'hétérozygotie liée à la divergence entre la sous-population et la population totale.  $F_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$ . Cet index est donc utilisé comme index de différenciation génétique entre les sous-populations. Pratiquement, la différenciation génétique entre 2 sous-populations a été testée, par locus, en utilisant un G-like exact test; l'estimation des probabilités exactes a été obtenue par la méthode des chaînes de Markov; le test global a été effectué par la méthode de Fisher.

Le nombre de **migrants** représente, par génération, le nombre de reproducteurs efficaces passant d'une sous-population à une autre.

## B- Sites de prélèvements et nombre d'échantillons

L'un des facteurs limitants à l'utilisation de microsattellites est la nécessité de disposer d'un grand nombre d'échantillons. Un total de 88 individus a été étudié. Trois zones, correspondants aux 3 "sous-populations" considérées, ont été définies en fonction des résultats des travaux de suivi écologique (Tableau 1 et Figure 5):

- la savane Angélique, avec des prélèvements effectués sur deux mares permanentes proches: "la mare IRD", et la "mare 2";
- la rivière de Kaw, avec des prélèvements effectués sur les 2/3 aval: de l'embouchure jusqu' au Dégrad;
- l'Approuague, avec l'essentiel des prélèvements effectués sur l'îlet Aïpoto.

Tableau 1. Sites de prélèvements et taille des échantillons

<i>sites</i>	<i>nombre d'individus prélevés</i>
1: rivière de Kaw	13
2: Approuague	39 à Aïpoto + 5 rive G de l'Approuague
3: savane Angélique	23 sur "mare 2", 13 sur mare IRD

## RESULTATS

### A- Criblage des loci microsatellites existants

Vingt et un loci microsatellites avaient été préalablement définis chez l'alligator; 18 ont été retrouvés chez le caïman noir.

- 11 étaient monomorphes;
- 3 ne présentent que 2 allèles, ce qui de fait apporte assez peu d'information, ces microsatellites n'ont pas été utilisés dans ce travail.
- 1, dit "R", présente 3 allèles
- 2, dits "G" et "I", présentent 4 allèles.

Huit locus microsatellites préalablement séquencés chez *Caiman latirostris* ont été testés, 6 se sont révélés monomorphes, et 2 polymorphes, à 5 (locus "6") et 7 (locus "8") allèles.

Ce sont donc 5 loci microsatellites qui ont été utilisés pour ce travail. Quoiqu'en nombre un peu insuffisant (8 à 9 sont généralement requis), ils permettent une première analyse, mais celle-ci devrait être affinée par l'ajout de 3 ou 4 loci supplémentaires. A ce stade du travail, le total de 23 allèles permet une bonne approche de la diversité de la population et des sous-populations, mais ne permettra pas un niveau de discrimination suffisamment important pour retrouver des lignées parentales.

### Déséquilibres de liaison

L'hypothèse de déséquilibre par paire de loci est donnée ci-dessous:

	<i>chi</i> <sup>2</sup>	<i>p</i>
locus G & locus R	18.367	0.00538
locus G & locus I	15.026	0.02006
locus R & locus I	7.948	0.24192
locus G & locus 6	11.661	0.06997
locus R & locus 6	11.080	0.08593
locus I & locus 6	5.327	0.50263
locus G & locus 8	16.408	0.01172
locus R & locus 8	0.781	0.99258
locus I & locus 8	6.960	0.32461
locus 6 & locus 8	7.772	0.25528

Prises globalement, les fréquences alléliques de ces différents allèles ne sont pas dépendantes les unes de autres, ce qui signifie que ces loci microsatellites ne sont pas liés, et peuvent donc être utilisés tous les 5.

## B- Diversités génétiques et structuration des populations

L'hypothèse d'un **déficit en hétérozygotes** n'est **pas significative**, tant pour l'ensemble de la population testée:  $F_{is} = -0.08$ ,  $p = 0.8173$ , que par locus et par sous-population (Tableaux 2a & 2b).

**La diversité génétique**, par locus et par sous-population, est donnée dans le tableau 3

L'**index de fixation global** est  $F_{st} = 0.054$ , avec une valeur de signification statistique positive ( $p < 10^{-5}$ ). Les **différenciations génotypiques** des sous-populations 2 à 2, et les valeurs statistiques  $p$  associées, sont données dans le tableau 4. Quoique faible, la structuration est significative entre l'Approuague d'une part et la savane et la rivière d'autre part, et n'est pas expliquée par un isolement par la distance.

Plusieurs **allèles privés** ont été identifiés: certains allèles sur les loci microsatellites G, R, 6 et 8 sont absents des populations de la rivière de Kaw et de l'Approuague. Les allèles privés permettent de calculer le nombre de migrants (Tableau 5). Ainsi, les échanges de reproducteurs entre les zones de Kaw (rivière et savane) et Approuague existent, mais sont deux à trois fois moins importants que ceux survenant entre la savane et la rivière.

Tableau 2a. Coefficient de consanguinité Fis et probabilité d'un déficit en hétérozygotes, par sous-population.

par sous-population	Fis	proba (valeur de $p$ )
savane	-0.013	0.1496
Approuague	-0.169	0.9914
rivière	-0.036	0.7822

Tableau 2b. Coefficient de consanguinité Fis et probabilité d'un déficit en hétérozygotes, par locus.

par locus	Fis	proba (valeur de $p$ )
G	-0.078	0.6424
R	-0.178	0.9551
I	-0.085	0.6899
6	-0.005	0.0993
8	-0.093	0.9078

Tableau 3. Diversité génétique, par locus et par sous-population

locus	savane	Approuague	Kaw
G	0.678	0.596	0.451
R	0.456	0.520	0.542
I	0.719	0.690	0.750
6	0.761	0.614	0.563
8	0.809	0.743	0.806

Tableau 4. Structuration de la population: index de fixation (Fst) et probabilités associées.

	Fst	valeur de $p$
rivière vs. savane	0.0224	0.0137
savane vs. Approuague	0.0676	<b>&lt; 0.01</b>
rivière vs. Approuague	0.0336	<b>0.03</b>

Tableau 5. Nombre de migrants Nm entre sous-populations, par génération.

	Nm
rivière vs. savane	10.92
savane vs. Approuague	3.45
rivière vs. Approuague	7.19

## CONCLUSIONS

Dans sa distribution originelle, le caïman noir était largement réparti sur le bassin amazonien, avec des populations périphériques comme celles du Guyana ou de la Guyane [Ross, 1998]. La pression de chasse du siècle dernier, essentiellement pour la peau [Smith, 1980], a fait que les populations ont été réduites de manière drastique et se sont peu à peu fragmentées.

La population de caïmans noirs de Guyane est ainsi certainement isolée. La population la plus proche serait celle présente à Cabo Orange au Brésil; cette population est très peu connue, les travaux viennent d'y débiter [R. da Silveira, comm. pers.], il n'est à l'heure actuelle possible d'en estimer les dynamiques. En Guyane, les premiers inventaires ont montré qu'au coeur d'un habitat dorénavant protégé, persistent des effectifs à priori importants, alors qu'en périphérie de cette zone sanctuaire les densités sont très affaiblies [Blanc & de Thoisy, 2001; de Thoisy *et al.*, 2001, 2002]. A l'échelle de la population guyanaise, les questions qui devaient se poser étaient de 2 ordres:

- (i) en terme de conservation, cette population est-elle suffisamment diversifiée et donc à priori viable ?
- (ii) en terme d'écologie, quelles sont à l'échelle de la population les dynamiques et flux d'individus ?

L'approche génétique mise en place a permis de donner les premiers éléments de réponse. Il serait cependant important de parfaire ce travail en augmentant le nombre de marqueurs utilisés, et en augmentant la taille des échantillons testés, sur la rivière de Kaw notamment, où la faiblesse de l'échantillon s'explique par des abondances très faibles, et par une grande craintivité des animaux, rendant difficiles les captures.

La forte diversité globale, l'absence de déficit en hétérozygotes, indiquent une population saine, et suffisamment nombreuse pour éviter tout risque important de consanguinité. Il sera cependant intéressant de comparer cette valeur à celle que l'on obtiendrait avec d'autres populations. Le potentiel reproducteur est donc bien présent. Le potentiel de restauration du caïman noir est par ailleurs désormais reconnu [Rebêlo & Magnusson, 1983; Uruena, 1990; da Silveira & Thorbjarnarson, 1999], ce qui a amené à revoir récemment son statut IUCN, l'espèce étant dorénavant considérée "à moindre risque". Les experts spécifient cependant que ce

statut reste dépendant du maintien de programmes de conservation. Sous réserve d'une gestion ferme, il est donc possible d'entrevoir à long terme la restauration de la population de Kaw, bien qu'à court terme, les récentes observations sur la rivière laissent plutôt prévoir une occupation de la niche écologique par le caïman à lunettes [Herron, 1991, 1994].

La structuration entre les populations de l'Approuague et de Kaw (savane Angélique et rivière) est significative, quoique peu marquée. Elle signifie que les échanges entre ces populations sont peu importants (Figure 6). Les Ilets Mantouni et Aïpoto étant des sites de reproduction, les individus étudiés dans ce travail n'ont été pour l'essentiel que des jeunes, et la population de l'Approuague reste en fait à identifier: il semble donc évident que la pointe Béhague abrite des caïmans noirs, également en en quantités importantes, comme en témoignent la diversité génétique et l'absence de consanguinité sur l'échantillonnage testé. Les récentes prospections sur la rivière Kourouaï n'ont pas permis de voir des caïmans noirs [de Thoisy, 2002b], il se pourrait que les corridors utilisés par les reproducteurs soient situés plus au Nord, plus en aval sur l'Approuague. A l'heure actuelle, la raison de l'intérêt de ces sites comme zone de nidification n'est pas connue.

De même, la signification écologique de la structuration entre les populations de Kaw et de l'Approuague est délicate à estimer. Cette structuration n'est pas significativement liée à la distance entre ces sous-populations, et il n'y a à priori pas d'obstacles physiques entre ces 2 zones. La structuration observée serait à comparer avec celle obtenue entre 2 populations beaucoup plus distinctes géographiquement (ex. Guyana, Equateur, ...).

En conclusion, il apparaît que:

- la population de caïmans noirs de la région de Kaw est diverse et à priori viable;
- la taille de la sous-population de la savane Angélique (données de comptage) et les flux identifiés (cette étude) laissent supposer que cette zone concentre certainement l'essentiel du potentiel reproducteur et du potentiel de restauration de l'espèce;
- la sous-population de l'Approuague est certainement davantage en relation une population située plus à l'Est, vers la Pointe Béhague;
- il serait nécessaire d'envisager une protection forte de l'habitat, qui prenne en compte ces flux et cette dynamique, et qui soit donc étendue vers l'Est.



## REFERENCES

- Blanc M, de Thoisy B. 2001. Black caiman (*Melanosuchus niger*) in the Kaw swamps natural reserve, French Guiana: a first year survey. *Crocodile Specialist Group Newsletter* 20: 30-31.
- Bruford MW, Wayne RK. 1994. Microsatellite and their application to population genetic studies. *Curr. Op. Gen. Devel.* 3: 939-943.
- da Silveira R, Thorbjarnarson JB. 1999. Conservation implications of commercial hunting of black and spectacled caimans in the Mamiraua sustainable development reserve, Brazil. *Biol. Cons.* 88: 103-109.
- Farias I, Hrbek T, Da Silveira R, Monjeló L, de Thoisy B, Thorbjarnarson J. 2002. Population genetic structure of the Amazonian Crocodilians: preliminary results. 16<sup>th</sup> Workshop of the IUCN/SSC Crocodile Specialists Group. Gainesville, Florida.
- Glenn TC. 2002. DNA tools and resources for Crocodilian research. 16<sup>th</sup> Workshop of the IUCN/SSC Crocodile Specialists Group. Gainesville, Florida.
- Glenn TC, Dessauer HC, Braun MJ. 1998. Characterization of microsatellite DNA loci in american alligators. *Copeia* 3: 591-601.
- Herron JC. 1991. Growth rates of black caiman *Melanosuchus niger*, and spectacled caiman *Caiman crocodilus* and the recruitment of breeders in hunted caimans populations. *Biol. Cons.* 55: 103-113.
- Herron JC. 1994. Body size, spatial distribution, and microhabitat use in the caimans, *Melanosuchus niger* and *Caiman crocodilus*, in a peruvian lake. *J. Herpetol.* 28: 508-513.
- Lavergne A. 1998. Biologie et structure génétique d'un opossum du genre *Didelphis* en forêt primaire de Guyane française. Thèse, Université de Montpellier II.
- Ross P. 1998. Crocodiles: an action plan for their conservation. IUCN, Gland, Suisse.
- Sambrook JE, Fritsch EF, Maniatis T. (eds). 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2<sup>nd</sup> edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

- Smith NJH. 1980. Caimans, capybaras, otters, manatees and man in Amazonia. *Biol. Cons* 19: 177-187.
- Ray D, Densmore L. 2002. Nuclear RAG-1 and mitochondrial control region sequences of the order Croodylia: phylogenetics implications with emphasis on the family Crocodylidae. 16<sup>th</sup> Workshop of the IUCN/SSC Crocodile Specialists Group. Gainesville, Florida.
- Rebêlo GH, Magnusson WE. 1983. An analysis of the effect of hunting on *Caiman crocodylus* and *Melanosuchus niger* based on the sizes of confiscated skins. *Biol. Cons.* 26: 95-104.
- Taberlet P, Camarra JJ, Griffin S, Uhrès E, Hanotte O, Waits LP, Dubois-Paganon C, Burke T, Bouvet J. 1997. Noninvasive genetic tracking of the endangered Pyrenean brown bear population. *Mol. Ecol.* 6: 869-876.
- Taylor AC, Sherwin WB, Wayne RK. 1994. Genetic variation of microsatellite loci in a bottlenecked species: the northern hairy-nosed wombat *Lasiorhinus krefftii*. *Mol. Ecol.* 3: 277-290.
- de Thoisy B. 2002a. Etude de la diversité génétique de la population de caïmans noirs (*Melanosuchus niger*, Alligatoridae) sur la réserve naturelle des marais de Kaw-Roura: utilisation de microsatellites. I - protocoles mis en oeuvre. Rapport intermédiaire, Kwata/Diren Guyane.
- de Thoisy B. 2002b. Données complémentaires sur la distribution du caïman noir en Guyane. Rapport Kwata/Diren Guyane.
- de Thoisy B, Blanc M, Joly A. 2001. Distribution, abundance, and habitat use of black caiman in the Kaw swamps, French Guiana: a preliminary report. *V° congreso sobre el manejo de fauna silvestre en America latina y Amazonia*. Cartagena, Colombia.
- de Thoisy B, Lavergne A, Blanc M, Joly A. 2002. Status of the French Guianan black caiman (*Melanosuchus niger*) population. 16<sup>th</sup> Workshop of the IUCN/SSC Crocodile Specialists Group. Gainesville, Florida.
- Uruena E. Black caiman in Guyana. *Crocodile Specialist Group Newsletter* 9:24.
- Verdade LM, Zucoloto RB, Vilela PMS, Coutinho LL. 2002. Genetics of *Caiman latirostris*. 16<sup>th</sup> Workshop of the IUCN/SSC Crocodile Specialists Group. Gainesville, Florida.

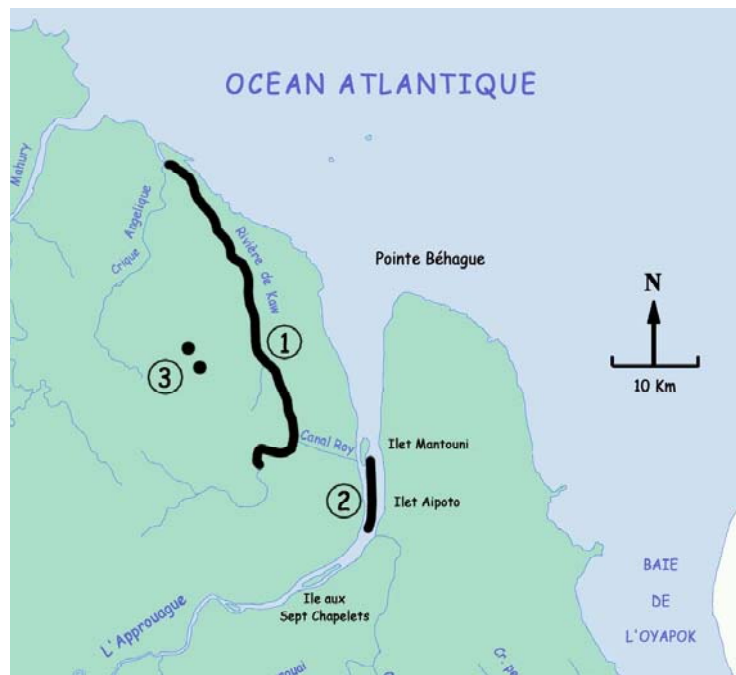


Figure 5. Localisation de la zone d'étude, et sites de prélèvements. Cartes A. Puthon



Figure 2. Section d'écaille caudale d'un caïman noir sur la rivière de Kaw.

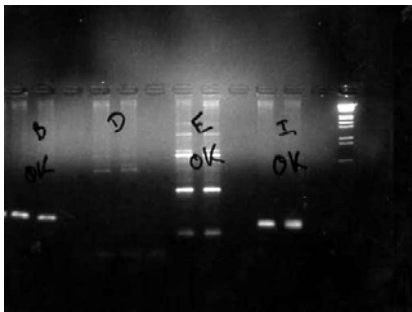


Figure 3. Gel d'agarose (révélation aux ultraviolets).

4 loci microsatellites (B, D, E, I) ont été recherchés sur 2 individus. Les loci B, E et I sont présents (bandes blanches). D, présent chez l'alligator, n'est pas retrouvé chez le caïman noir. (bandes blanches à droite: échelle de poids moléculaire)

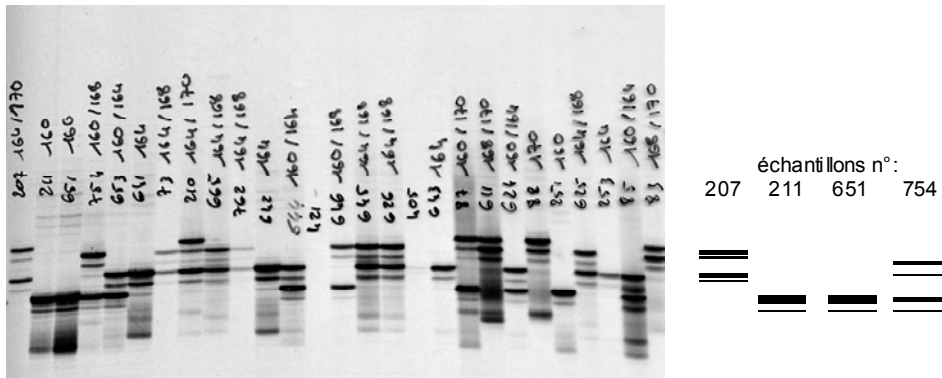


Figure 4. Lecture du gel acrylamide, après marquage radioactif et exposition photographique (24 heures). A droite: interprétation des 4 premiers échantillons:

- les éléments les plus lourds sont en haut (migration du haut vers le bas)
- barres d'intensité moyenne: allèles utiles, individu hétérozygote; barre de plus forte intensité: individu homozygote, un seul allèle en double. Barres de plus faibles intensité: "bruit de fond".

207: les 2 allèles sont les 1° et 3° bandes, poids moléculaires 164 et 170  
 211 et 651: individus homozygotes, l'allèle au poids 160 est en double.  
 754: hétérozygote, les 2 allèles sont 160 et 168.

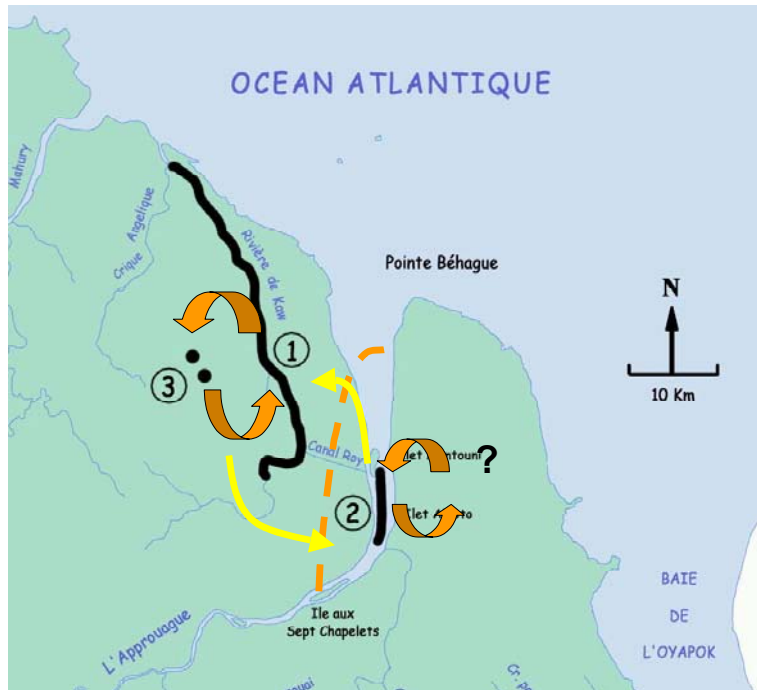


Figure 6. Structuration des populations et flux de reproducteurs.  
 en orange: principaux échanges; en jaune: échanges occasionnels.