

- RAUTENBACH, I. L. (1978): The mammals of the Transvaal. Ph. D. thesis, Univ. of Natal, Pietermaritzburg.
- ROWE-ROWE, D. T.; MEESTER, J. (In press): Biology of *Myosorex varius* in an African montane region. Acta Zool. Fennica.
- SCOTCHER, J. S. B.; CLARKE, J. C.; LOWRY, P. B. (1980): The effect of fire on herbage production and quality in Giant's Castle Game Reserve. Report to Nat. Prog. Env. Sciences, CSIR.
- SMITHERS, R. H. N. (1971): The mammals of Botswana. Nat. Mus. Rhod., Mus. Mem. 4, 1-340.
- TAYLOR, K. D.; GREEN, M. G. (1976): The influence of rainfall on diet and reproduction in four African rodent species. J. Zool., Lond. 180, 367-389.
- VLASÁK, P. (1980): Seasonal changes in the surface activity of the common shrew, *Sorex araneus*, (Insectivora). Věst. čs. Společ. zool. 44, 306-319.
- VOGEL, P. (1980): Metabolic levels and biological strategies in shrews. In: Comparative physiology: primitive mammals. Ed. by K. SCHMIDT-NIELSEN, L. BOLIS and C. R. TAYLOR, Cambridge: Univ. Press.

*Authors' addresses:* D. T. ROWE-ROWE, Natal Parks Board, Postbox 662, Pietermaritzburg, 3200 South Africa; and Prof. J. MEESTER, Dept. of Biological Sciences, University of Natal, Durban, 4001 South Africa

## Die Chromosomen von *Microtus arvalis* (Rodentia, Microtinae)

Von ROSWITHA GAMPERL

*Institut für Medizinische Biologie und Humangenetik der Universität Graz*

*Eingang des Ms. 21. 6. 1982*

### Abstract

#### *Chromosomal studies in Microtus arvalis (Rodentia, Microtinae)*

Studied C- and G-banded karyotypes of *Microtus arvalis* s. str. ( $2n = 46$ ) from different localities in Europe. Analysis of C-bands revealed large heterochromatic blocks in the centromeric region of several small metacentric autosomes, ranging in numbers from 18 to 22. Further polymorphisms due to pericentric inversions could be demonstrated by G-banding in chromosome pairs nos. 5, 9, 17 and 18. Chromosome homologies with other Microtinae species are discussed.

### Einleitung

Die Superspecies „*Microtus arvalis*“ umfaßt eine morphologisch ziemlich einheitliche Gruppe mit einem weiten Verbreitungsareal in Europa und Asien (CORBET 1978). Da wegen der geringen Unterschiede morphologische Kriterien zu einer Klassifizierung nicht immer ausreichen, wurden häufig Karyotypanalysen zur Abklärung taxonomischer Probleme herangezogen. Dabei zeigte sich, daß – im Gegensatz zu anderen Merkmalen – die Karyotypen nicht nur zwischen, sondern auch innerhalb der einzelnen Subspecies stark variieren. Während die diploide Chromosomenzahl der asiatischen und osteuropäischen Vertreter zwischen  $2n = 46$  und  $2n = 54$  schwankt (SAVIĆ et al. 1971; MALYGIN 1973; MALYGIN und ORLOV 1974; ŽIVKOVIĆ und PETROV 1974; ŽIVKOVIĆ et al. 1974; KRÁL 1976; BELCHEVA et al. 1977), wurden bisher aus Mittel- und Westeuropa nur Formen mit  $2n = 46$  beschrieben (NIETHAMMER und WINKING 1971; KRÁL et al. 1979). Es waren vor allem die unterschiedliche Chromosomenzahl und Kreuzungsversuche mit sterilen Hybriden, die MEJER et al. (1973) zu einer Abgrenzung der Form mit  $2n = 54$  als *Microtus subarvalis* von *Microtus arvalis* s. str. veranlaßten.

Auch innerhalb von *Microtus arvalis* s. str. ist der Karyotyp nicht stabil. Die Anzahl der akrozentrischen Chromosomenpaare variiert von 1 bis 12, wobei für europäische Vertreter hauptsächlich 4 Paare akrozentrischer Chromosomen angegeben werden (ORLOV und MALYGIN 1969; MALYGIN 1974; KRÁL und LYAPUNOVA 1975). Als Ursache für diesen Polymorphismus werden Umwandlungen von ursprünglich akrozentrischen zu meta- bis submetazentrischen Chromosomen durch perizentrische Inversionen vermutet. MATTHEY (1957, 1973) betrachtet innerhalb der Microtinae Karyotypen von  $2n = 54-56$  mit akrozentrischen Chromosomen als ursprünglich. Nach seinen Vorstellungen waren perizentrische Inversionen und Robertsonsche Fusionen die wesentlichsten Chromosomenveränderungen, die zu einer Reihe von Chromosomenformeln mit geringerer Chromosomenzahl und geringerer Anzahl von akrozentrischen Chromosomen führten. Diese beiden Haupttrends in der Evolution der Wühlmauschromosomen bzw. der Chromosomen überhaupt lassen sich also auch innerhalb der Superspecies „*Microtus arvalis*“ nachweisen. Nach Einführung der Bänderungsmethoden im letzten Jahrzehnt wurde neben der Robertsonschen Fusion und der perizentrischen Inversion ein weiterer häufig vorkommender Mechanismus der Chromosomenevolution erfaßt: die Veränderung in Gehalt und Verteilung von konstitutivem Heterochromatin, d. s. Chromosomenabschnitte, die sich mit Hilfe der C-Bändermethode durch stärkere Anfärbung darstellen lassen und im allgemeinen genetisch inaktiv sind, d. h. nicht transkribiert werden. Daraus ergibt sich, daß Veränderungen im Heterochromatingehalt kaum Auswirkungen auf die Lebensfähigkeit haben, zum Unterschied von Veränderungen im Euchromatingehalt. Die Folge davon ist, daß im Laufe der Evolution das Euchromatin zwar umverteilt, sonst aber relativ konstant erhalten bleibt, während es im Heterochromatin nicht nur zu Umverteilungen, sondern auch zu beträchtlicher Vermehrung oder Reduktion kommen kann.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Chromosomen europäischer Vertreter von *Microtus arvalis* ( $2n = 46$ ) mit Hilfe der Bänderungsmethoden genauer zu charakterisieren, um sie mit den Chromosomen anderer Wühlmausarten vergleichen zu können und dadurch die Chromosomenumbauten, die zur Bildung des Feldmausgenoms geführt haben, genauer bestimmen zu können.

## Material und Methoden

Die Chromosomenuntersuchungen wurden an Tieren von folgenden Fundorten durchgeführt: *Microtus arvalis arvalis* aus Neumarkt (Österreich) und Eifel bzw. Osnabrück (Deutschland), *Microtus arvalis asturianus* aus Spanien.

Für die Chromosomenpräparation wurden Fibroblastenkulturen aus Ohrbiopsien angelegt. Die Zellkulturen wurden in Eagle's Medium Earle BSS, das mit 20 % fötalem Kälberserum versetzt wurde, gehalten und nach kurzer Kulturdauer mit Colcemid unterbrochen. Nach 2stündiger Colcemideinwirkung wurden die Zellen einer Hypotoniebehandlung mit 0,28%iger KCl-Lösung unterzogen, anschließend mit einem Gemisch aus Methanol und Eisessig im Verhältnis 3 : 1 fixiert und auf nasse, fettfreie Objektträger aufgetropft. Getrocknete Präparate wurden entweder der G-Bänderfärbung (nach SUMNER et al. 1971) oder der C-Bänderfärbung (nach SUMNER 1972) unterzogen.

## Ergebnisse und Diskussion

Mit Hilfe der genannten Bänderungstechniken konnten mehrere Chromosomenvariationen nachgewiesen werden. Diese Unterschiede umfassen: perizentrische Inversionen der Chromosomenpaare Nr. 17 und 18 als Ursache der verminderten Anzahl von akrozentrischen Chromosomen bei *Microtus arvalis arvalis* aus Osnabrück, einen Polymorphismus der Chromosomen Nr. 5 und 9, der ebenfalls auf perizentrische Inversionen zurückzuführen ist und zu einer Änderung des Armverhältnisses führt, und Unterschiede in Anzahl und Verteilung der großen Heterochromatinblöcke im Zentromerenbereich. Einen Über-

blick über diese Unterschiede gibt die Tabelle, aus der für jeden der angeführten Fundorte ein eigenes Chromosomenmuster abgeleitet werden kann, während die drei Tiere aus Osnabrück und die beiden Exemplare aus Spanien untereinander übereinstimmende Karyogramme aufweisen. Daher könnte man – trotz der geringen Anzahl der zur Verfügung stehenden Tiere – annehmen, daß es sich dabei tatsächlich um populationsspezifische Merkmale handelt. Allerdings wäre es auch möglich, daß dieselben Variationen innerhalb einer Population, und zwar mit geringerer Häufigkeit, auftreten. Diese Frage kann aber erst durch weitere Untersuchungen an einer größeren Anzahl von Tieren abgeklärt werden. An dieser Stelle soll lediglich festgehalten werden, daß es solche Polymorphismen gibt.

## Tabelle

## Übersicht der Karyotypunterschiede

ssp.	Fundort	Anzahl der Tiere	Anzahl d. Heterochromatinblöcke	Anzahl d. akrozent. Chrom. ohne Heterochr.	Polymorphismus der Chromosomen Nr.			
					5	9	17	18
<i>M. a. arvalis</i>	Osnabrück	3	20	0	sm/sm	m/m	m/m	m/m
<i>M. a. arvalis</i>	Neumarkt	1	18	1	sm/sm	?/?	?/?	?/?
<i>M. a. arvalis</i>	Eifel	1	22	1	sm/st	?/?	a/a	a/a
<i>M. a. asturianus</i>	Spanien	2	20	2	st/st	sm/sm	a/a	a/a

a = akrozentrisch; m = metazentrisch; sm = submetazentrisch; st = subtelozentrisch

Abb. 1 zeigt einen Vergleich des G-Bändermusters von *Microtus arvalis arvalis* aus Osnabrück mit dem von *Microtus arvalis asturianus* aus Spanien. Es besteht weitgehende Übereinstimmung mit Ausnahme der Chromosomenpaare Nr. 5, 9, 17 und 18. Die beiden metazentrischen Chromosomenpaare Nr. 17 und 18 der Exemplare aus Osnabrück lassen sich durch perizentrische Inversionen von den entsprechenden akrozentrischen Chromosomenpaaren der ssp. *asturianus* ableiten. Das Chromosomenpaar Nr. 5 unterscheidet sich durch Umlagerung eines dunkel gefärbten Bandes in Zentromernähe. Dieses Band befindet sich bei den Osnabrücker Tieren auf dem kurzen Arm, bei der ssp. *asturianus* dagegen auf dem langen Arm. Ein dem langen Arm der submetazentrischen Form von Chromosom Nr. 5 entsprechendes G-Bändermuster findet man z. B. auch im Chromosom Nr. 1 von *Clethrionomys rufocanus* (GAMPERL 1982) oder im Chromosom Nr. 2 von *Microtus agrestis* (COOPER und HSU 1972). Ein Chromosom, das dem gesamten submetazentrischen Chromosom entspricht, ist bei *Microtus subterraneus* vorhanden, während sich bei *Arvicola terrestris* der kurze Arm von einem anderen Chromosom ableitet (eigene Ergebnisse). Daher erscheint es wahrscheinlicher, daß die submetazentrische Form dieses Chromosoms die ursprünglichere ist und die subtelozentrische Form, wie sie bei *Microtus arvalis asturianus* vorkommt, durch perizentrische Inversion daraus entstanden ist.

Ein weiterer Polymorphismus betrifft die großen Heterochromatinblöcke im Zentromerenbereich der kleinen Autosomen (Abb. 2–5). Während bei allen untersuchten Tieren die 5 großen Autosomenpaare und auch eine Reihe von den kleinen kein Heterochromatin zeigen, weisen die übrigen besonders große und intensiv gefärbte Heterochromatinblöcke in unterschiedlicher Zahl auf. Die Zahl variiert von 22 bei der ssp. *arvalis* aus der Eifel über 20 (ssp. *arvalis* aus Osnabrück und ssp. *asturianus*) bis 18 (ssp. *arvalis* aus Neumarkt). *Microtus arvalis asturianus* hat zwei akrozentrische Chromosomenpaare (Nr. 11 und 12) ohne Zentromerenheterochromatin, *Microtus arvalis arvalis* aus der Eifel und aus Neumarkt je eines (Nr. 11 bzw. Nr. 13) und *Microtus arvalis arvalis* aus Osnabrück keines. Da die Heterochromatinblöcke sowohl bei den akrozentrischen als auch bei den metazentrischen Chromosomen immer in gerader Zahl vorhanden sind, kann man annehmen, daß sie





Abb. 1. Vergleich der G-Bänder von *Microtus arvalis asturianus* (A) und *Microtus arvalis arvalis* aus Osnabrück (B)

jeweils auf homologen Chromosomen liegen. Diese ausgedehnten Heterochromatinblöcke, die an akrozentrische Chromosomen angelagert kurze Arme bilden, können ebenfalls zu einer Veränderung der ursprünglich akrozentrischen Chromosomen bzw. zu Problemen bei der Zuordnung führen.



Abb. 2. C-Bänderkaryogramm von *Microtus arvalis arvalis* (♀) aus der Eifel

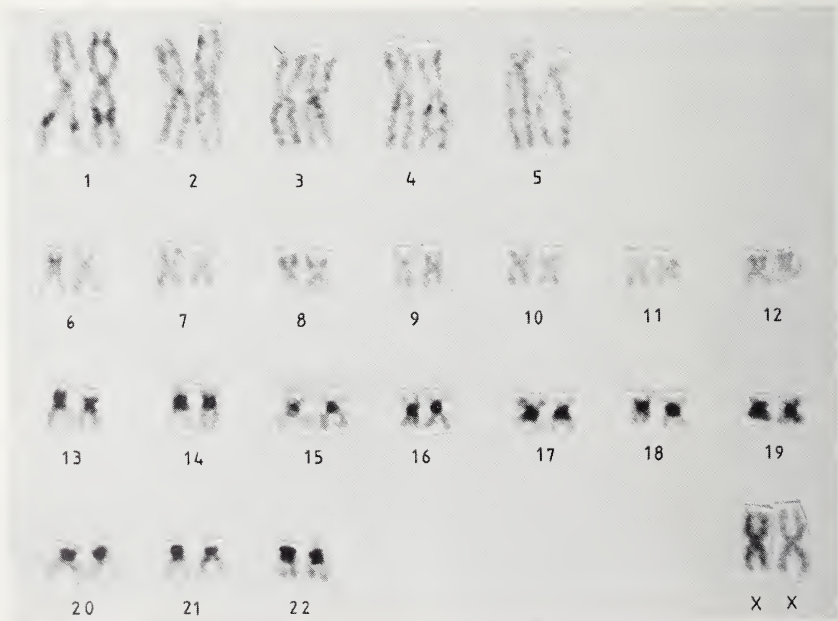


Abb. 3. C-Bänderkaryogramm von *Microtus arvalis arvalis* (♀) aus Osnabrück

Ein detaillierter Vergleich aller Chromosomen von *Microtus arvalis* mit denen anderer Wühlmausarten liegt nicht in der Absicht dieser Arbeit. Er würde sich auch wegen der vielen kleinen metazentrischen Chromosomen schwierig gestalten, da ihre G-Bänder durch die perizentrischen Inversionen gegenüber den ursprünglich akrozentrischen Chromosomen nicht nur stark verändert worden sind, sondern auch noch große Ähnlichkeiten zwischen einzelnen Chromosomenpaaren bestehen. Der Vergleich beschränkt sich daher auf die 5 großen Chromosomenpaare von *Microtus arvalis* s. str., die sich durch Robertsonsche Fusionen aus ursprünglich 20 akrozentrischen Chromosomen, wie sie noch im Karyotyp von *Clethrionomys rufocanus* vorhanden sind (GAMPERL 1982), ableiten lassen. Auch die Entstehung größerer meta- oder submetazentrischer Chromosomen bei einigen anderen Wühlmausarten, z. B. *Microtus subterraneus* ( $2n = 52$ , 1 großes metazentrisches und 1 großes submetazentrisches Chromosomenpaar) und *Microtus oeconomus* (FREDGA 1980) ( $2n = 30$ , hauptsächlich metazentrische Fusionschromosomen), läßt sich so erklären. Allerdings lassen sich die 4 großen metazentrischen Chromosomenpaare der Feldmaus nicht vollständig mit metazentrischen Chromosomen von *Microtus oeconomus* oder *Microtus subterraneus* homologisieren, da sich die neuentstandenen Chromosomen jeweils aus verschiedenen akrozentrischen Ausgangschromosomen zusammensetzen, eine Tatsache, die auf eine weitgehend unabhängige Entstehung des Feldmauskaryotyps vor allem gegenüber dem von *Microtus oeconomus* hinweist. Mit *Microtus subterraneus* hat die Feldmaus zumindest das submetazentrische Chromosom Nr. 5 gemeinsam, wobei es – wie schon oben erwähnt – intraspezifisch bei einigen der vorgestellten Tiere eine weitere Abänderung durch eine perizentrische Inversion erfahren hat. Auch die Entstehung des Chromosoms Nr. 3 kann nicht durch Robertsonsche Fusion allein erklärt werden. Es muß mindestens noch einen zusätzlichen Umbau durchgemacht haben. Der Karyotyp von *Microtus arvalis* s. str. setzt sich also nicht nur fast ausschließlich aus Chromosomen zusammen, die gegenüber den Ausgangschromosomen verändert wurden, sondern weist darüber hinaus an einigen Chromosomen (Nr. 3 und 5) noch zusätzliche Umstrukturierungen auf. Eine ähnliche Situation besteht auch bei anderen stark abgeleiteten Karyotypen, die hauptsächlich aus zweiarmigen Chromosomen bestehen (ELDER 1980).



Abb. 4. C-Bänderkaryogramm von *Microtus arvalis astuarianus* (♂)

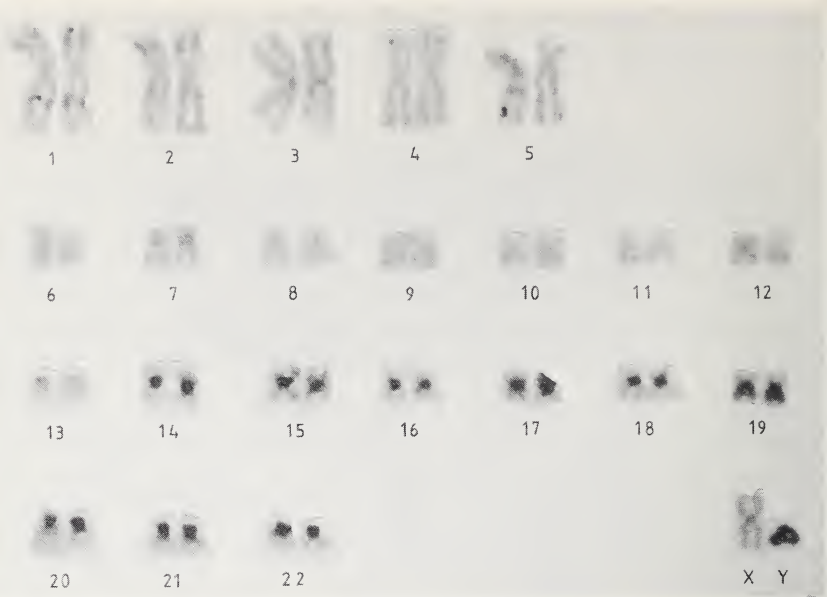


Abb. 5. C-Bänderkaryogramm von *Microtus arvalis arvalis* (♂) aus Neumarkt

Betrachtet man das C-Bändermuster der in dieser Arbeit vorgestellten Vertreter von *Microtus arvalis*, so wird auch hier ein deutlicher Unterschied gegenüber anderen Wühlmausarten offenbar (GAMPERL et al. 1982). C-Bänderstudien von weiteren Vertretern der Superspecies „*Microtus arvalis*“ wären notwendig, um herauszufinden, ob dieses bisher für Wühlmäuse einmalige Heterochromatinmuster auch bei anderen Vertretern vorkommt. Es wäre vor allem interessant zu wissen, ob das C-Bändermuster von *Microtus subarvalis* mit  $2n = 54$  Chromosomen ähnlich aussieht wie das anderer „primitiver“ Wühlmäuse, z. B. der Schneemaus (BELCHEVA et al. 1980) oder der Rötelmäuse (GAMPERL 1982), d. h. mit kleinen Heterochromatinblöcken an mehr oder weniger allen Chromosomen versehen ist, oder ob es ähnlich massive Blöcke an einigen kleinen Chromosomen aufweist wie bei den hier vorgestellten Individuen von *Microtus arvalis*. Weitere G- und C-Bänderuntersuchungen von Vertretern der Superspecies „*Microtus arvalis*“ könnten daher nicht nur dazu beitragen, eine lückenlose Abfolge der Chromosomenumbauten zu konstruieren, die zur Entstehung des Karyotyps von *Microtus arvalis* s. str. geführt haben, sondern auch zusätzliche Daten zur Veränderung im Gehalt und der Verteilung von Heterochromatin im Verlauf der Evolution liefern.

#### Danksagung

Für die Überlassung und Bestimmung der Tiere möchte ich mich besonders herzlich bedanken bei J. NIETHAMMER, Bonn, R. SCHRÖPFER, Osnabrück, und W. SIXL, Graz.

#### Zusammenfassung

G- und C-Bänderkaryogramme einiger europäischer Vertreter von *Microtus arvalis* s. str. ( $2n = 46$ ) werden beschrieben. Nach C-Bänderfärbung lassen sich ausgedehnte Heterochromatinblöcke in der Zentromerenregion einiger kleiner Autosomen darstellen. Die Zahl dieser Heterochromatinblöcke variiert bei den untersuchten Tieren von 18 bis 22. Weitere Chromosomenvariationen, die mit perizentrischen Inversionen erklärt werden können, liegen in den Autosomenpaaren Nr. 5, 9, 17 und 18 vor. – Homologien mit Chromosomen anderer Wühlmausarten werden diskutiert.



## Literatur

- BELCHEVA, R. G.; PESHEV, T. H.; PESHEV, D. T. (1980): Chromosome C- and G-banding patterns in a Bulgarian population of *Microtus guentheri* Danford et Alston (Microtinae, Rodentia). *Genetica* 52/53, 45–48.
- BELCHEVA, R. G.; PESHEV, T. H.; RADJABLI, S. I. (1977): Analysis of the chromosome set in the Bulgarian population of *Microtus arvalis*. *Zool. ŽH* 56, 315–317. (Russ.)
- COOPER, J. E. K.; HSU, T. C. (1972): The C-band and G-band patterns of *Microtus agrestis* chromosomes. *Cytogenetics* 11, 295–403.
- CORBET, G. B. (1978): The mammals of the palaeartic region. A Taxonomic review. *Brit. Mus. Nat. Hist.*
- ELDER, F. F. B. (1980): Tandem fusion, centric fusion, and chromosomal evolution in the cotton rats, genus *Sigmodon*. *Cytogenet. Cell Genet.* 26, 199–210.
- FREDGA, K.; PERSSON, A.; STENSETH, N. C. (1980): Centric fission in *Microtus oeconomus*. A chromosome study of isolated populations in Fennoscandia. *Hereditas* 92, 209–216.
- GAMPERL, R. (1982): Chromosomal evolution in the genus *Clethrionomys*. *Genetica* 57, 193–197.
- GAMPERL, R.; EHMANN, C.; BACHMANN, K. (1982): Genome size and heterochromatin variation in rodents. *Genetica* 58, 199–231.
- KRÁL, B. (1976): A species of the genus *Microtus* (Microtidae, Mammalia) new for the fauna of Bulgaria. *Zool. Listy* 24, 353–360.
- KRÁL, B.; LYAPUNOVA, E. A. (1975): Karyotypes of 46-chromosome *Microtus arvalis* (Microtidae, Rodentia). *Zool. Listy* 24, 1–11.
- KRÁL, B.; ZIMA, J.; HERZIG-STRASCHIL, B.; ŠTĚRBA, O. (1979): Karyotypes of certain small mammals from Austria. *Folia Zool.* 28, 5–11.
- MALYGIN, V. M. (1973): Karyotypes of *Microtus transcaspicus* and the role of karyological method in estimation of species independence of voles from the group *Microtus arvalis* (Rodentia, Cricetidae). *Zool. ŽH* 52, 791–794. (Russ.)
- MALYGIN, V. M. (1974): A comparative morphometric analysis of karyotypes in two geographical forms of 46-chromosome common vole, *Microtus arvalis*. *Zool. ŽH* 53, 769–778. (Russ.)
- MALYGIN, V. M.; ORLOV, V. N. (1974): Areas of 4 species of voles (superspecies *Microtus arvalis*) by karyological data. *Zool. ŽH* 53, 616–622. (Russ.)
- MATTHEY, R. (1957): Cytologie comparée, systématique et phylogénie des Microtinae (Rodentia-Muridae). *Rev. Suisse Zool.* 64, 39–71.
- MATTHEY, R. (1973): The chromosome formulae of eutherian mammals. In: *Cytotaxonomy and vertebrate evolution*. Ed. by A. B. CHIARELLI and E. CAPANNA. London-New York: Academic Press.
- MEJER, M. N.; MOROZ, I. M.; ORLOV, V. N.; SCHOLL, E. D. (1973): Zwillingsarten der Feldmaus, *Microtus arvalis* (Pallas). *Mitt. Zool. Mus. Berlin* 49, 387–402.
- NIETHAMMER, J.; WINKING, H. (1971): Die spanische Feldmaus (*Microtus arvalis asturianus* Miller, 1908). *Bonn. Zool. Beitr.* 22, 220–235.
- ORLOV, V. N.; MALYGIN, V. M. (1969): Two forms of the 46-chromosome *Microtus arvalis* Pall. In: *The mammals: Evolution, karyology, taxonomy, fauna*. Ed. by N. N. VORONTSOV. Novosibirsk: Acad. Sci. USSR. (Russ.)
- SAVIĆ, I.; SOLDATOVIĆ, B.; DULIĆ, B. (1971): Prilog poznavanju kariotipa vrste *Microtus arvalis* Pallas, 1779 (Rodentia, Microtidae) iz Vojvodine. *Arh. Biol. Nauka, Beograd* 23, 27P–28P.
- SUMNER, A. T. (1972): A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res.* 75, 304–306.
- SUMNER, A. T.; EVANS, H. J.; BUCKLAND, R. (1971): New technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature New Biol.* 232, 31–32.
- ŽIVKOVIĆ, S.; PETROV, B. (1974): Record of a vole of the *Microtus arvalis* group with 54 chromosomes (*Microtus subarvalis* Meyer, Orlov et Skholl, 1972) in Yugoslavia and comparison of its karyotype with that of *Pitymys felteni* Malec et Storch, 1963 (Rodentia, Mammalia). *Genetika* 6, 283–288.
- ŽIVKOVIĆ, S.; RIMS, D.; RUŽIĆ, A.; PETROV, B. (1974): Cytogenetical characteristics, taxonomic status and distribution of the voles with 46 and 54 chromosomes of the *Microtus arvalis* group in Yugoslavia (Rodentia, Mammalia). *Arh. Biol. Nauka, Beograd* 26, 123–124.

*Anschrift der Verfasserin:* Dr. ROSWITHA GAMPERL, Institut für Medizinische Biologie und Human-genetik der Universität Graz, Harrachgasse 21/8, A-8010 Graz, Österreich