

LES POPULATIONS DE RATS NOIRS INSULAIRES DE L'OUEST DE L'EUROPE. ESSAI PRÉLIMINAIRE DE CARACTÉRISATION GÉNÉTIQUE (CARYOTYPE ET ADN MITOCHONDRIAL)

*A first insight into the genetic structure (karyotype and mtDNA)
of the insular black rats of western Europe*

R. LIBOIS*, J. TORRICO*(¹), M.G. RAMALHINHO**, J. MICHAUX*,
R. FONS***, M.L. MATHIAS****

* Unité de recherches zoogéographiques, Institut de Zoologie,
Université de Liège, Quai Van Beneden, 224020 Liège, Belgique

(¹) : Adresse actuelle : c/Nataniel Aguirre, 37, Casilla 4995, Santa Cruz, Bolivia

** Museu nacional de Historia natural, Rua da Escola Politecnica, 58, 1200 Lisboa, Portugal

*** Observatoire Océanologique, Laboratoire Arago, Université P.-et-M.-Curie (Paris 6)
et CNRS URA 2156, 66650 Banyuls-sur-Mer, France

**** Departamento de Zoologia e Antropologia, Faculdade de Ciencias,
Universidade de Lisboa, Bloco C2, Campo Grande, 1700 Lisboa, Portugal

RATTUS RATTUS
ADN MITOCHONDRIAL
ÎLES
EUROPE DE L'OUEST

RÉSUMÉ. – L'arrivée du Rat noir (*Rattus rattus*) en Europe est récente et remonte à l'époque romaine seulement. Ce rongeur s'est largement répandu sur le continent mais aussi sur les îles où il fut introduit par l'Homme. Dans certains cas, les populations insulaires se distinguent morphologiquement par leur plus grande taille. L'origine de ces peuplements insulaires est anthropique mais la provenance géographique des immigrants n'est pas connue. L'étude de 52 Rats noirs provenant de différentes îles méditerranéennes (Sicile, Sardaigne, Corse, Lavezzi, Elbe, Porquerolles) et atlantiques (Açores, Ré, Oléron) permet d'aborder ce problème. Leur caryotype a été déterminé et leur ADN mitochondrial isolé pour être comparé à celui de souches continentales européennes (Espagne) et africaines (Tunisie, Bénin). Après digestion de l'ADN par les endonucléases HAE III et RSA I, les patrons de restriction obtenus montrent une très grande similitude. L'un d'entre eux isole toutefois tous les animaux africains des autres, laissant entendre une colonisation de l'Europe et de l'Afrique par des lignées différentes.

RATTUS RATTUS
MTDNA
ISLANDS
WESTERN EUROPE

ABSTRACT. – The colonisation of Europe by the black rat (*Rattus rattus*) dates back only to the Roman times. This rodent is now widespread all over the continent as well as on many islands where it was introduced by man. In some instances, insular populations are morphologically differentiated by their greater size. In order to study the possible origin of these insular populations, rats were caught on many Mediterranean (Sicily, Sardinia, Lavezzi, Corsica, Elba, Porquerolles) and Atlantic islands (Ré, Oléron, Azores) and compared to animals from continental Europe (Spain), and Africa (Tunisia, Benin). Their karyotype was determined and their mtDNA restriction patterns studied using the HAE III and RSA I endonucleases and a polyacrylamide gel electrophoresis. These patterns appear very similar to each other though one of them is specific to the African animals, probably indicating that Europe and Africa were colonised by different strains.

INTRODUCTION

Le Rat noir (*Rattus rattus*) est un rongeur originaire du sud ou du sud-est asiatique. Son apparition en Europe est récente puisqu'elle ne

remonte qu'à l'époque romaine. Présent voici environ 10 000 ans sur la côte méditerranéenne de l'Égypte à la Syrie (Tchernov, 1986), il a atteint la Méditerranée occidentale entre le IV^e et le II^e siècle avant notre ère. Des restes datés de cette époque sont signalés en Corse par Vigne (1994),

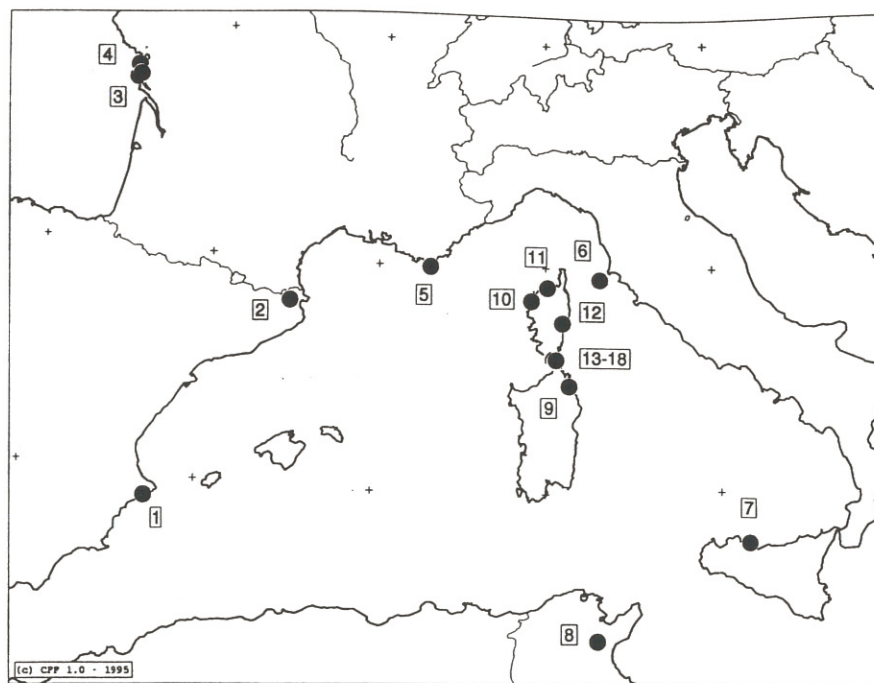


Fig. 1. – Localisation des sites de capture de Rats noirs dans le bassin méditerranéen occidental. Les numéros correspondent à ceux du tableau I.

Map showing the sampling points in the western Mediterranean area. Numbers refer to those in table I.

aux Baléares par Sanders & Reumer (1984) et à Pompéi par Hirst (1953). La colonisation de l'Europe non méditerranéenne s'est effectuée progressivement, dès la période antique, via les axes commerciaux de l'époque : côtes, fleuves ou voies romaines (Audoin-Rouzeau et Vigne, 1994). Sa grande expansion en Europe ne remonte toutefois qu'au Moyen-Âge central (XI^e-XIII^e s.), époque d'urbanisation et de poussée démographique humaine.

La recherche de nouvelles frontières au monde connu a poussé les navigateurs de plus en plus loin. Enhardis par de nouvelles techniques de construction navale et par les progrès en matière de navigation en haute mer, ils ont « découvert » et colonisé des îles et des rivages de plus en plus lointains. Le Rat les y a suivis, devenant une des espèces de Rongeurs les plus largement répandues, avec deux autres Muridés anthropophiles, le Rat brun (*Rattus norvegicus*) et la Souris domestique (*Mus musculus*).

A partir du foyer moyen-oriental (De Bruyn, 1980-81), peut-on imaginer deux axes de colonisation du bassin méditerranéen, l'un passant par l'Égypte et intéressant l'Afrique, l'autre passant par les voies commerciales reliant les côtes nord et les différentes îles ?

En ce qui concerne les Açores, il semble que les Carthaginois furent les premiers à découvrir l'archipel, suivis par d'autres navigateurs, arabes et italiens. Aucune installation ne fut cependant définitive avant l'arrivée, au XV^e s., de colons tantôt flamands (Terceira, Faial, Flores, São Jorge), tantôt portugais (São Miguel, Santa Maria, Pico, Faial, São Jorge, Flores, Corvo) (Frutuoso, 1978, 1983). Ces derniers y firent régulièrement escale au retour des côtes du Golfe de Guinée. La question se pose dès lors de savoir d'où proviennent les Rats noirs de l'archipel.

Les populations résultant de ces colonisations multiples dérivent-elles de souches différentes ? Se sont-elles génétiquement différenciées, notamment sur les îles où l'on sait qu'elles ont développé des caractères morphologiques particuliers, comme c'est le cas de nombreuses populations insulaires de Rongeurs (Van Valen, 1973 ; Lomolino, 1985 ; Granjon et Cheylan, 1990) ? Les études biométriques de Orsini et Cheylan (1988) et de Granjon & Cheylan (1990) montrent en effet que les Rats noirs des petits îlots méditerranéens sont affectés par du gigantisme insulaire et non ceux des grandes îles, ce qui a également été constaté chez le Mulot sylvestre, *Apodemus sylvaticus* (Angerbjörn, 1986 ; Libois et Fons, 1990 ; Libois *et al.*, 1993 ; Michaux *et al.*, 1996).

Tabl. I. – Localités de récolte et caractéristiques génétiques des animaux étudiés. Les chiffres entre parenthèses se réfèrent au nombre d'animaux étudiés. Pour les caryotypes, le premier désigne le nombre d'individus dont le caryotype a été déterminé, le second celui dont les caryotypes ont été utilisés dans les comparaisons cytométriques.

Sampling localities and genetic characteristics of the black rats. The numbers in brackets refer to sample size. When two numbers appear (karyotypes), the first indicates the number of rats whose karyotype was determined and the second, the number of karyotypes used in cytometrical studies.

Localités		Station n° (cfr fig. 1)	Nb. chromosomique 2 N	mt-DNA (types)
Stations continentales				
Europe				
Espagne	Altea (Alicante)	1	?	AW (2)
	Figueras (Gerona)	2	?	AW (1)
Portugal		-	38 (5,5)	?
Afrique				
Bénin	Cotonou	-	38 (2,2)	AZ(2)
	Sèhouè	-	38 (1,0)	AZ(1)
Tunisie	Zaghouan	8	?	AZ(1)
Stations insulaires				
Açores				
	Sao Miguel (île)	-	38 (5,5)	AW(2)
	Terceira (île)	-	38 (9,9)	AW(2)
Oléron	St. Pierre	3	38 (1,1)	AW(2)
Ré	Ste Marie	4	38 (2,2)	AW(2)
Porquerolles		5	38 (1,1)	AW(1)
Elbe		6	?	AW (3), AY (2)
Sicile	San Vitto	7	?	AW(1)
Sardaigne	San Antonio	9	?	AW(1)
Corse	Galeria	10	38 (3,1)	AX (1), BX (3)
	Ogliastro	11	38 (5,3)	AW (3), BW (2)
	Ghisonaccia	12	38 (1,0)	AW(2)
	Bonifacio	13	38 (4,3)	AW(4)
	Santa Manza	14	?	AW(1)
Lavezzi	Cavalo (îlot)	15	?	AW(3)
	Lavezzu (îlot)	16	38 (1,1)	AW(3)
	Piana (îlot)	17	?	AW(3)
	Ratino (îlot)	18	38 (4,2)	AW (3), AX (1)

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les piègeages (pièges Sherman ou Manufrance) ont été volontairement très dispersés dans l'espace afin d'avoir plus de chances de mettre en évidence d'éventuelles variations. Nous avons également choisi de travailler d'une part dans un contexte relativement ancien de colonisation par le Rat, à savoir le bassin méditerranéen occidental et, d'autre part, dans un contexte nettement plus récent, celui de l'archipel des Açores, isolé au milieu de l'Atlantique.

Les animaux continentaux étudiés proviennent d'Europe (Portugal, Espagne : Figueras et Altea), d'Afrique du Nord (Tunisie : Zaghouan) et du Golfe de Guinée (Bénin : Cotonou et Sèhouè, resp. 6°22'N, 2°25'E et 6°54'N, 2°17'E). Les souches insulaires ont été capturées à Porquerolles, en Corse, en Sicile, en Sardaigne, à Elbe et sur 4 îlots de l'Archipel des Lavezzi (Cavalo, Lavezzu, Piana et Ratino) ainsi que dans l'Archipel des Açores (Terceira 38°45'N, 27°15'W et Saõ Miguel 37°45'N, 25°30'W), à Ré et Oléron (fig. 1).

Nous avons déterminé le caryotype de 44 individus et isolé l'ADN mitochondrial de 52 individus pour les caractériser sur le plan génétique.

Les caryotypes ont été obtenus après injection intrapéritonéale de colchicine, extraction de la moelle des fémurs dans une solution hypotonique de KCl, centrifugation de la suspension et fixation du culot à l'aide d'un mélange (3 : 1) de méthanol et d'acide acétique glacial (Baker *et al.*, 1970). Les préparations ont été colorées au Giemsa 4%.

L'extraction de l'ADN mitochondrial repose sur l'isolement, par centrifugations différentielles, d'un culot de mitochondries provenant d'un broyat d'organes : rein, foie, cœur, rate. Ces mitochondries sont ensuite lysées en phase alcaline et leur ADN est purifié selon la méthode classique au phénol avec précipitation par l'alcool éthylique en milieu salin (Palva et Palva, 1985). Une fois purifié, l'ADN est incubé en présence d'un enzyme de restriction qui permet d'obtenir un certain nombre de fragments de restriction. Pour chacun des individus, nous avons utilisé deux de ces enzymes, en l'occurrence RSA I (GTAC) et HAE III (GGCC) qui livrent chacun environ 15 à 20 fragments de restriction. Selon Ferris *et al.* (1983a et b) et Tegelström et Jaarola (1989), l'examen d'environ 40 sites de restriction peut suffire à obtenir une bonne estimation de la divergence. Les fragments ainsi obtenus sont soumis à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide (Tegelström, 1986) et révélés par une technique de coloration directe au nitrate d'argent (Guillemette et Lewis, 1983). Les patrons de restriction peuvent alors être comparés entre eux au moyen de l'indice de similarité de Dice à partir duquel le taux de divergence des séquences nucléotidiques de Nei et Li (1979) peut être calculé.

RÉSULTATS

Tous les caryotypes déterminés comptent 38 chromosomes (Tabl. I). Ce nombre diploïde correspond au caryotype « océanien » défini par

Tabl. II. – Valeurs des indices de Dice (sous la diagonale) et de Nei & Li (au-dessus de la diagonale) calculées entre les six types d'ADN mitochondrial trouvés chez les Rats noirs.

Dice's (under the diagonal) and Nei & Li's (above) indice values calculated between the six mtDNA types evidenced in the black rats.

	AW	AX	AY	AZ	BW	BX
AW	#	0,645	0,491	0,324	0,672	1,352
AX	0,926	#	0,474	0,990	1,352	0,672
AY	0,942	0,945	#	0,491	1,193	1,144
AZ	0,962	0,889	0,943	#	1,028	1,733
BW	0,923	0,852	0,868	0,885	#	0,645
BX	0,852	0,923	0,873	0,815	0,926	#

Yosida *et al.* (1969,1971, 1974) et par Yosida (1971) et dériverait du caryotype ancestral « asiatique » à $2N = 42$ par fusions robertsoniennes. Le type océanien est celui qui est le plus répandu à travers le monde. L'étude de la variation de la longueur relative et de l'index centromérique des chromosomes nous indique qu'il n'y a aucune différence significative entre les individus conti-

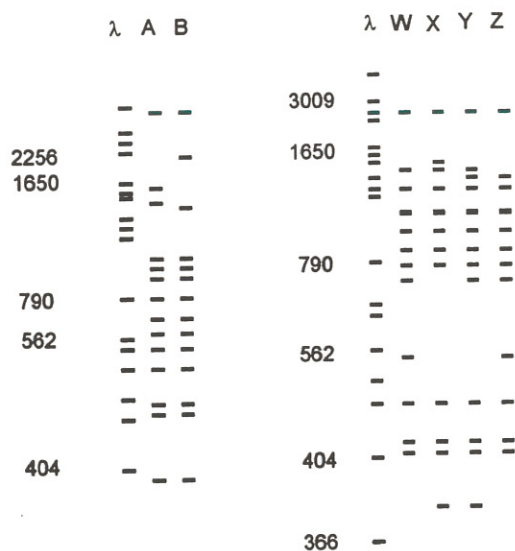


Fig. 2. – A gauche, patrons de restriction de l'ADN mitochondrial de Rats noirs (A et B) obtenus après digestion par l'endonuclease HAE-III. Le marqueur (l) est l'ADN du phage I digéré par l'enzyme BGL-I. A droite, patrons de restriction de l'ADN mitochondrial de Rats noirs (W, X, Y et Z) obtenus après digestion par l'endonuclease RSA-I. La piste (l) est l'ADN du phage I digéré par l'enzyme BGL-I.

On the left, black rat mt-DNA restriction patterns obtained with the HAE-III endonuclease (A and B). The l lane contains l phage DNA digested with BGL-I to produce fragment size markers. On the right, black rat mt-DNA restriction patterns obtained with the RSA-I endonuclease (W, X, Y and Z). The l lane contains l phage DNA digested with BGL-I to produce fragment size markers.

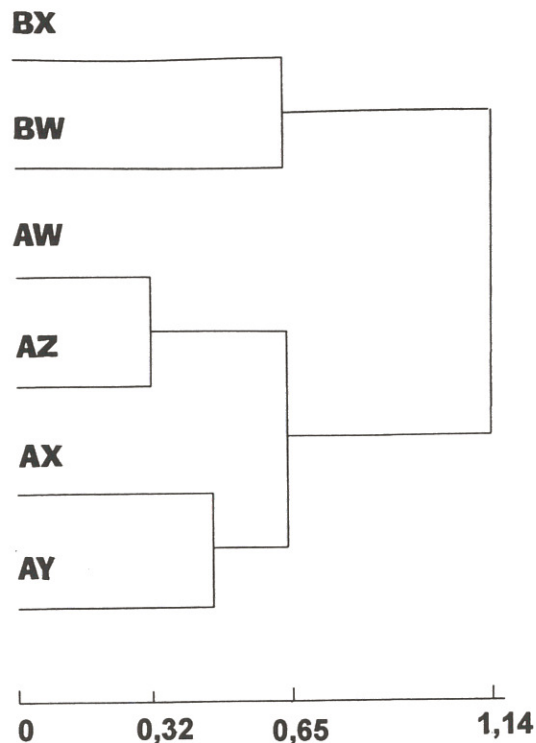


Fig. 3. – Dendrogramme UPGMA du coefficient de Nei et Li (en pourcentage de divergence nucléotidique) pour les six types d'ADN mitochondriaux obtenus.

UPGMA cluster analysis dendrogram of the six mt-DNA types. The units are in percentage of nucleotide sequence divergence computed according to Nei and Li, 1979.

nentaux européens ou africains et ceux des îles, tant atlantiques que méditerranéennes. Il est donc vraisemblable que le statut taxonomique des populations dont sont issus nos échantillons soit le même partout. Cependant, d'autres types d'altérations sont actuellement recherchées.

En ce qui concerne l'ADN mitochondrial, l'enzyme HAE III a livré 2 patrons qui diffèrent entre eux par seulement 2 fragments (Fig. 2, gauche). Le patron A, le plus fréquent est trouvé dans toutes les stations alors que le patron B apparaît dans deux localités de Haute Corse : Galeria et Ogliastru (embouchure de l'Ostriconi) (Tabl. I).

L'enzyme RSA I a livré 4 patrons différents, W, X, Y et Z (Fig. 2, droite). Le patron Z est propre à tous les individus africains, qu'ils soient de Tunisie ou du Bénin. Y est particulier à l'île d'Elbe. X n'est trouvé qu'en Corse ainsi qu'à Ratino des Lavezzi et W est très largement répandu dans tous les échantillons européens : Espagne, Açores, îles atlantiques françaises, Porquerolles, Elbe, Sardaigne, Sicile, Corse et îlots des Lavezzi. Les patrons W, Y et Z sont par ailleurs très semblables entre eux, ne différant que pour 2 fragments.

Le dendrogramme UPGMA (Fig. 3) représentant la matrice des indices de similarité éclaire les différences entre types d'ADN mitochondrial. Elles varient de 0,32 % entre AZ et AW et 1,73 % entre AZ et BX. Les 2 types comprenant le patron B forment un premier groupe constitué à 0,65 % de divergence. Il ne comprend que des individus corses. Le second groupe réunit les autres types de DNA à des niveaux de divergence faibles : 0,32 % entre individus africains (AZ) et européens (AW); 0,47 % entre le type AY de l'île d'Elbe et les types AX de Corse. Les deux groupes ainsi constitués se rattachent à un niveau de divergence assez faible également puisqu'il atteint à peine 1,2 % (Tabl. II).

DISCUSSION - CONCLUSIONS

Tous les niveaux de divergence génétique mis en évidence par l'étude de l'ADN mitochondrial demeurent largement en deçà des valeurs habituellement observées entre espèces (plus de 10 %) ou entre sous-espèces (de l'ordre de 4 à 5 %). En fait, elles sont de l'ordre de ce que l'on observe couramment entre individus appartenant à une même métapopulation, voire à une même population. Brown et Simpson (1981), avec d'autres enzymes de restriction, ont obtenu des valeurs comparables (entre 0,2 et 2,3 %) pour des Rats d'Amérique du Nord et de Porto-Rico, certains types d'ADN mitochondrial parmi les plus distants (2,1 %) étant partagés par des animaux issus d'une même région (Floride). L'existence de lignées très différentes sur le plan génétique a cependant été mise en évidence par les mêmes auteurs qui ont trouvé que les Rats noirs de Sri Lanka constituaient au moins une sous-espèce à la fois distincte de la sous-espèce nominale de Floride ou de Californie (taux de divergence de 5,3 %) et de la souche d'Extrême-Orient (9,6 % de divergence), elle-même différente de la nominale (de 3,4 à 4,5 % de divergence).

Du point de vue de leurs patrons de restriction, les populations de Rats noirs d'Europe de l'Ouest testées ici sont très semblables entre elles. Le niveau de divergence est extrêmement faible mais, rapporté à l'échelle du temps, il indique néanmoins que certains des Rats qui ont envahi l'Europe appartenaient à des lignées mitochondriales distinctes puisque leur divergence remonte au moins à plusieurs dizaines de milliers d'années si l'on se réfère à l'horloge moléculaire de Wilson *et al.* (1985) : 120 000 ans au moins entre les clones AY et AW tous deux présents sur Elbe; plus de 330 000 ans entre AX et BW; tous deux présents en Corse.

Entre les Rats africains et les européens, la divergence est faible également (0,32 % pour la plupart). Toutefois, le fait que tous les individus

africains partagent le patron Z et que ce patron Z ne se trouve que chez eux, pourrait indiquer une colonisation de ce continent par une souche différente de celles qui ont envahi l'Europe. Des recherches complémentaires, portant sur un plus grand nombre d'individus et sur d'autres régions, notamment l'Égypte et le Proche-Orient demeurent indispensables pour vérifier cette hypothèse. Si elle se confirmait, cela signifierait que le peuplement des Açores s'est bien effectué à partir de l'Europe et non via les côtes africaines.

La présence dans une même région, parfois à la même station de capture, de patrons de restriction différents a déjà été mise en évidence chez le Mulot (*Apodemus sylvaticus*) par Michaux *et al.* (1996) et n'a donc rien de surprenant. Cela indique clairement que la colonisation n'est pas le fait d'un petit nombre d'individus ayant tous la même origine. Elle a pu se faire à plusieurs reprises ou par un stock d'animaux initialement non homogène.

Notre étude montre enfin qu'au vu des faibles divergences génétiques observées, il serait téméraire d'élever certaines populations étudiées au rang de sous-espèce en dépit de caractères morphologiques particuliers : différences de coloration, taille plus grande (Açores : Ramalinho *et al.*, sous presse; îlots corses : Granjon et Cheylan, 1990; Vigne *et al.*, 1993) ou plus petite (Corse : Orsini et Cheylan, 1988; Afrique : données personnelles).

REMERCIEMENTS - Nous remercions les responsables et le personnel du Parc National de Port-Cros, du Conservatoire Botanique de Porquerolles, des Réserves naturelles de Scandola et des îles Lavezzi et Cerbicales. Nous remercions également le Dr M. Sara pour son aide en Sicile et en Tunisie, Nicodème Chabi et le Prof. Kora (ISBA, Cotonou) pour l'accueil dans leur laboratoire ainsi que M.R. Anciaux, Antoine et Eusèbe pour leur collaboration au Bénin. Les échantillons des Açores ont été réunis avec la collaboration de J.P. Clara, M. Collares-Pereira, G. Ferraz de Carvalho, J. Matos, M.M. Oom, F. Petrucci-Fonseca et M. Santos-Reis (programme STRIDE - projet de recherche 447/92 - JNICT) et grâce aux crédits de mission accordés par le FNRS au premier auteur. Pour la réalisation de l'étude génétique, nous avons bénéficié d'un financement du FRFC (2.4547.89) et de la bienveillance du Prof. R. Matagne qui nous a accueilli dans son laboratoire. Cette étude s'est également poursuivie dans le cadre des accords de coopération scientifique (Relations internationales) entre les Universités P.-et-M.-Curie de Paris VI (France) et de Liège (Belgique) et le Parc National de Port-Cros.

BIBLIOGRAPHIE

- ANGERBJÖRN A., 1986. Gigantism in island populations of wood mice (*Apodemus sylvaticus*) in Europe. *Oikos* 47 : 47-56.

- AUDOIN-ROUZEAU F. et J.D. VIGNE, 1994. La colonisation de l'Europe par le rat noir (*Rattus rattus*). *Rev. Paléobiol.* **13** : 125-145.
- BAKER R., M. HAIDUK, L. ROBBINS, A. CADENA & B. KOOP, 1970. Chromosomal studies of South American bats and their systematic implications. *Spec. Publ. Pymatuning lab. Ecol.* **6** : 303-327.
- BROWN G.G. and M.V. SIMPSON, 1981. Intra and interspecific variation of the mitochondrial genome in *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus*: restriction enzyme analysis of variant mitochondrial DNA molecules and their evolutionary relationships. *Genetics* **97** : 125-143.
- DE BRUYN T., 1980-81. Huisrat (*Rattus rattus*) en bruine rat (*Rattus norvegicus*) in archeozoologische context. *Mém. Fac. Sc. Rijksuniv. Gent*, 75 p.
- FERRIS S.D., R.D. SAGE, C.M. HUANG J.T. NIELSEN U. RITTE & A.C. WILSON, 1983 a. Flow of mitochondrial DNA across a species boundary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **80** : 2290-2294.
- FERRIS S.D., R.D. SAGE, E.M. PRAGER U. RITTE & A.C. WILSON, 1983(b). Mitochondrial DNA evolution in mice. *Genetics* **105** : 681-721.
- FRUTUOSO G., 1978. Livro sexto das saudades da terra. Instituto cultural de Ponta Delgada (Açores), 300 p.
- FRUTUOSO G., 1983. Livro terceiro das saudades da terra. Instituto cultural de Ponta Delgada (Açores), 432 p.
- GUILLEMETTE J.G. and P.N. LEWIS, 1983. Detection of subnanogram quantities of DNA and RNA on native and denaturing polyacrylamide and agarose gels by silver staining. *Electrophoresis* **4** : 92-94.
- GRANJON L. et G. CHEYLAN, 1990. Différenciation biométrique des rats noirs (*Rattus rattus*) des îles ouest-méditerranéennes. *Mammalia* **54** : 213-231.
- HIRST L.F., 1953. The conquest of plague. A study of the evolution of epidemiology. Oxford.
- LIBOIS R. et R. FONS, 1990. Le mulot (*Apodemus sylvaticus*) des îles d'Hyères : un cas de gigantisme insulaire. *Vie Milieu* **40** : 217-222.
- LIBOIS R.M., R. FONS et D. BORDENAVE, 1993. Mediterranean small mammals and insular syndrome : biometrical study of the long tailed field mouse (*Apodemus sylvaticus*) (*Rodentia, Muridae*) of Corsica. *Bonn. zool. Beitr.* **44** : 147-163.
- LOMOLINO M.V., 1985. Body size of mammals on islands : the island rule reexamined. *Amer. Natur.* **125** : 310-316.
- MICHAUX J.R., M.G. FILIPPUCCI, R.M. LIBOIS, R. FONS and R.F. MATAGNE, 1996. Biogeography and taxonomy of *Apodemus sylvaticus* (the Italian woodmouse) in the Tyrrhenian region : enzymatic variations and mitochondrial DNA restriction pattern analysis. *Heredity* **76** : 267-277.
- ORSINI P. et G. CHEYLAN, 1988. Les rongeurs de Corse : modification de taille en relation avec l'isolement en milieu insulaire. *Bull. Ecol.* **19** : 411-416.
- NEI M. and W.L. LI, 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A.* **76** (10) : 5269-5273.
- PALVA T.K. and E.T. PALVA, 1985. Rapid isolation of animal mitochondrial DNA by alkaline extraction. *F.E.B.S. Letters* **192** (2) : 267-270.
- RAMALHINHO M.G., M.L. MATHIAS, M.M. SANTOS-REIS, R. LIBOIS, R. FONS, F. PETRUCCI-FONSECA, M.M. OOM and M. COLLARES-PEREIRA. First approach on the skull morphology of the black rat (*Rattus rattus*) from Terceira and São Miguel islands (Azores archipelago). *Vie Milieu*. **46** : 3/4.
- SANDERS E.A.C. and J.W.F. REUMER, 1984. The influence of prehistoric and Roman migrations on the vertebrate fauna of Menorca (Spain). *Brit. Archaeol. Rep. Internat. Ser.* **229** : 119-144.
- TCHERNOV E., 1986. Commensal animals and Human sedentism in the Middle-East. *Brit. archaeol. Rep., Intl. Ser.* **202** : 91-115.
- TEGELSTRÖM H., 1986. Mitochondrial DNA in natural populations : an improved routine for the screening of the genetic variation based on sensitive silver staining. *Electrophoresis* **7** : 226-229.
- TEGELSTRÖM H. and JAAROLA M., 1989. Genetic divergence in mitochondrial DNA between the wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) and the yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*). *Heredity* **111** : 49-60.
- VAN VALEN L., 1973. Pattern and the balance of nature. *Evol. Theory* **1** : 31-49.
- VIGNE J.D., 1994. Les transferts anciens de mammifères en Europe occidentale : histoires, mécanismes et implications dans les sciences de l'homme et les sciences de la vie. In Des animaux introduits par l'homme dans la faune de l'Europe. Colloques d'Histoire des connaissances zoologiques, n° 5. Edités par L. Bodson, Université de Liège, 15-38.
- VIGNE J.D., G. CHEYLAN L. GRANJON et J.C. AUF-FRAY, 1993. Evolution ostéométrique de *Rattus rattus* et de *Mus musculus domesticus* sur de petites îles : comparaison de populations médiévales et actuelles des îles Lavezzi (Corse) et de Corse. *Mammalia* **57** (1) : 85-98.
- WILSON, A.C., R.L. CANN, S.M. CARR M. GEORGE, U.B. GYLLENSTEIN, K.M. HELM-BY-CHOWSKI, R.J. HIGUCHI, S.R. PALUMBI, E.M. PRAGER, R.D. SAGE and M. STONEKING, 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biol. J. Linn. Soc.* **26** : 375-400.
- YOSIDA, T.H., 1971. Karyotypic differences of black rats, *Rattus rattus*, collected in various localities of East and Southeast Asia and Oceania. *Chromosoma* **33** : 252-267.
- YOSIDA, T.H., K. TSUCHIYA, H. IMAI & K. MORIWAKI, 1969. New chromosome type of black rat, *Rattus rattus*, collected in Oceania and hybrids between Japanese and Australian rats. *Jap. J. Genet.* **44** : 89-91.
- YOSIDA, T.H., H. KATO, K. TSUCHIYA & K. MORIWAKI, 1971. Karyotypes and serum transferrin patterns of hybrids between Asian and Oceanian black rats, *Rattus rattus*. *Chromosoma* **34** : 40-50.
- YOSIDA, T.H., H. KATO, K. TSUCHIYA, T. SAGAI & K. MORIWAKI, 1974. Cytogenetical surgery of black rats, *Rattus rattus*, in Southwest and central Asia, with special regard to the evolution of relationship between three geographical types. *Chromosoma* **45** : 99-109.

Reçu le 10 mai 1996 ; received May 10, 1996

Accepté le 12 septembre 1996 ; accepted September 12, 1996