

УДК 575.17 : 599.323.43 : 591.151 : 576.311.347

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ЦИТОХРОМА *b* мтДНК КРАСНОЙ ПОЛЕВКИ ПОПУЛЯЦИИ ПОЙМЫ р. БУЮНДА

В. В. Переверзева, А. Н. Лазуткин

*Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, г. Магадан
E-mail: pereverzeva@ibpn.ru*

Впервые проанализирован полиморфизм гена цитохрома *b* мтДНК в популяции красной полевки *Clethrionomys rutilus* (Pallas, 1779), населяющей пойму р. Буюнда, на разных стадиях численности зверьков. Рестрикционным анализом с использованием эндонуклеаз *Hinf*I, *Hae*III, *Rsa*I, *Bst*ENI выявлены 16 вариантов рестрикции (четыре из них – мономорфные), формирующие 7 рестрикционных гаплотипов гена цитохрома *b* мтДНК. Методом секвенирования мтДНК определены последовательности нуклеотидов в 6 гаплотипах мтДНК. В трех из них обнаружены дополнительные нуклеотидные замены, не выявляемые рестрикционным анализом. Полученные данные указывают на значительный полиморфизм анализируемого участка гена цитохрома *b* в исследуемой популяции, поддерживающийся на одном уровне независимо от флуктуаций численности животных.

Ключевые слова: ген цитохрома *b* (цит *b*) мтДНК, красная полевка, рестрикционный анализ, популяционно-генетические исследования, секвенирование ДНК.

В настоящее время приоритетным направлением биологических исследований является изучение биологического (в частности, генетического) разнообразия природных экосистем. Удобным объектом для изучения механизмов формирования и поддержания генетического разнообразия в природных популяциях служат наиболее массовые и широко распространенные виды мелких млекопитающих. На Северо-Востоке России в сообществах грызунов доминирует красная полевка. Быстрые темпы размножения (потомство приносят уже сеголетки) обуславливают высокую численность этих грызунов. В силу особенностей рельефа Северо-Восточный регион России очень интересен для популяционно-генетических исследований мелких млекопитающих и в том числе полевок. Такие географические преграды, как Охотско-Колымский водораздел, русла крупных рек, морские проливы, отделяющие острова Охотского моря от материка, влияют на уровень генетической изоляции между отдельными популяциями.

Исследование структуры гена цитохрома *b* (цит *b*) митохондриальной ДНК (мтДНК) использовалось рядом авторов в филогенетическом анализе, при котором сопоставлялись небольшие выборки из отдаленных популяций России, Северной Америки, Финляндии, Японии (Dekonenko et al., 2003; Cook et al., 2001, 2004; Conroy, Cook, 1999). Изменчивость гена цит *b* красной полевки, выявленная методом секвенирования у единичных экземпляров, изучалась при сравнении различных

видов мелких млекопитающих (Tegelstom, 1987; Suzuki et al., 1999; Iwasa et al., 2002; Defontaine et al., 2006; Абрамсон, 2007). Кроме того, хорошо изучены биология, экология и аллозимная изменчивость полевок Магаданской области (Чернявский, 1984; Курышев, 1990; Курышев, Курышева, 1991а, б; Засыпкин, Примаков, 1999, 2003; Примаков, Засыпкин, 2001). Однако объемные популяционно-генетические исследования изменчивости гена цит *b* мтДНК этого вида в Северо-Восточном регионе России не проводились. Исследование изменчивости гена цит *b* в различных популяциях полевок дополнит картину изученности этого вида в данной местности.

Цель работы – определить уровень полиморфизма участка гена цит *b* в одной из популяций красной полевки Северо-Востока России, обитающей в пойме р. Буюнда.

Задачи настоящей работы:

с помощью сопоставления частот рестрикционных гаплотипов мтДНК сравнить генетическую структуру данной популяции в год высокой и низкой численности этих животных;

определить последовательности нуклеотидов участка гена цит *b* в выявленных рестрикционных гаплотипах мтДНК.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В 2004 г., при высокой численности красных полевок, методом рестрикционного анализа установлен полиморфизм участка гена цит *b* у 105 грызунов. Среди изученных особей перезимовавших

зверьков 66 (30 самок и 36 самцов); сеголеток – 39 (22 самки и 17 самцов).

В 2005 г. при низкой численности красной полевки этим методом было исследовано 68 особей – зимовавших 27 (8 самок и 19 самцов), сеголеток – 41 (21 самка и 20 самцов).

Образцы замороженной в жидком азоте мышечной ткани красных полевок лизировали протеиназой K и очищали от белков насыщенным раствором NaCl. ДНК осаждали этанолом по модифицированному методу (Fleming, Cook, 2002). Перекрывающиеся участки гена цит b митохондриального генома амплифицировали с использованием двух пар праймеров:

1) CLETH: CLETH-16 (5'– AGAAARTAYCAT TCTGGYTТААТ; 3'– конец праймера соответствует 14940 паре нуклеотидов (п. н.) митохондриального генома мыши *Mus musculus* Linnaeus, 1758),

CLETH-37 (5'– ТАУААУАТААТУГАА АСНТГАА; *Mus musculus* 14457 п. н.) (CLETH);

2) VOLE: VOLE-23 (5'– ТАСААГАААСAGG АТСААААААСС; *Mus musculus* 14752 п. н.), VOLE-14 (5'– ТТТСАТТАСТGGТТТАСАА GAC; *Mus musculus* 15 309 п. н.) (VOLE) (Congro, Cook, 1999). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) подбирали эмпирически: денатурирующая стадия 94°C – 5 мин; затем 45 циклов: 94°C – 1 мин, 48°C – 1 мин, 72°C – 1 мин; заключительная стадия – 72°C – 5 мин. У 16 отловленных в 2004 г. и 4 добытых в 2005 г. полевок отсутствовала амплификация с праймерами VOLE. В связи с этим мтДНК этих зверьков не была задействована при анализе и выборка обследованных животных оказалась меньше количества отловленных. Поэтому в таблицах приведены частоты вариантов рестрикции и гаплотипов мтДНК в смещенных выборках, их реальная частота в популяции ниже. По-видимому, отсутствие амплификации с праймерами VOLE у ряда отловленных полевок возможно объяснить мутациями в сайтах, гомологичных праймерам. Амплифицированные участки обрабатывали эндонуклеазами рестрикции HinfI (G[^]ANTC), HaeIII (GG[^]CC), RsaI (GT[^]AC) и BstENI (GATC). Методом секвенирования установлены последовательности нуклеотидов участка гена цит b у 12 полевок: 3 с вариантом 1 мтДНК – В1; 3 – с В2; 2 – с В3; 2 – с 4 и по 1 – с В5 и В6. Очистка и подготовка к секвенированию проведены по стандартной методике набором реагентов DiatomTM DNA Clean-Up ООО «Лаборатория Изоген».

Секвенирование амплифицированных фрагментов мтДНК проведено по стандартной методике с использованием праймеров CLETH-37 (5'– ТАУААУАТААТУГАААСНТГАА) и VOLE-23 (5'– ТАСААГАААСAGGATCAААА ААСС) набора для циклического секвенирования ДНК Big Dye Terminator (Applied Biosystems, v. 3.1) и гене-

тического анализатора ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, США). Математическую обработку полученных данных проводили с использованием программ CHIRxC (Zaykin, Pudovkin, 1993) и MEGA-4 (Tamura et al., 2006).

Дендрограмма построена с помощью метода невзвешенных парно-групповых средних (UPGMA) с проведением бутстрэп-тестирования дистанций, рассчитанных с использованием бипараметрической модели (дистанций Кимуры) в филогенетическом тесте пакета программ MEGA-4. Генетические дистанции Кимуры посчитаны также с помощью пакета программ MEGA-4.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены частоты вариантов рестрикции CLETH и VOLE фрагментов. В данной популяции, как и в обследованных ранее (Переверзева, 2006), отсутствие полиморфизма по вариантам рестрикции как CLETH, так и VOLE HaeIII указывает на стабильность участков GG[^]CC в амплифицированном фрагменте гена цит b мтДНК красных полевок. Достоверных различий в частотах вариантов рестрикции между самками и самцами, а также между перезимовавшими полевками и сеголетками не выявлено (как для каждого года, так и при попарном сравнении всех обследуемых выборок 2004 и 2005 г.).

Методом секвенирования установлено, что с праймерами CLETH и VOLE в сумме амплифицируется фрагмент гена цит b с 14520 по 15310 п. н. мтДНК. Перекрывающийся участок двух амплифицированных фрагментов расположен между 14791 и 14956 п. н. Полученные методом секвенирования данные позволили детализировать расположение сайтов нуклеотидных замен в различных вариантах рестрикции.

На основании обнаруженных вариантов рестрикции (в дальнейшем учитываются только полиморфные) зарегистрировано 7 вариантов (гаплотипов) мтДНК (табл. 2). Несмотря на то что в год высокой численности полевок выявлено 7 вариантов (В1 – В7) мтДНК, а в год депрессии численности – 5 вариантов (В1 – В5), достоверных различий в частотах вариантов мтДНК между самками и самцами, а также между перезимовавшими полевками и сеголетками не выявлено как для каждого года, так и при попарном сравнении всех выборок 2004 и 2005 г.

Методом секвенирования установлены последовательности нуклеотидов участка гена цит b у 12 полевок – у 3 особей с вариантом 1 мтДНК (В1); у 3 – В2; у 2 – В3; у 2 – В4; у 1 – В5 и у 1 – В6. На рис. 1 представлена полная нуклеотидная последовательность В1 мтДНК.

В табл. 3 показаны нуклеотидные замены в найденных вариантах мтДНК.

Таблица 1. Частоты вариантов рестрикции цит b мтДНК в популяции красной полевки поймы р. Буюнда в 2004 и 2005 г.

Table 1. The mtDNA cyt b restriction variant frequencies in the red-backed vole population in the Buyunda R. flood-plain areas, in 2004 and 2005

Праймер	Эндонуклеазы рестрикции	Варианты рестрикции	Сайты рестрикции на карте мтДНК, п. н.	Частота в 2004 г.					Частота в 2005 г.				
				Зимовавшие		Сеголетки		Суммарная N = 105	Зимовавшие		Сеголетки		Суммарная N = 68
				самки N = 30	самцы N = 36	самки N = 22	самцы N = 17		самки N = 8	самцы N = 19	самки N = 21	самцы N = 20	
CLETH	HinfI	A	14668^14669	0,8667	0,9167	0,9545	1	0,9238	1	0,9474	0,9524	0,9500	0,9559
		B	14668^14669; 14830^14831	0,1333	0,0833	0,0455	0	0,0762	0	0,0526	0,0476	0,0500	0,0441
	HaeIII	A	14767^14768	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	RsaI	A	Нет рестрикции	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		B	14609^14610	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	BstENII	A	14748^14749	1	1	0,9545	0,9412	0,9619	0,8750	1	1	1	0,9853
B		Нет рестрикции	0	0	0,0455	0,0588	0,0381	0,1250	0	0	0	0,0147	
VOLE	HinfI	A	15007^15008; 15115^15116	0,7000	0,7500	0,6818	0,8235	0,7524	0,5000	0,8974	0,7619	0,8000	0,7647
		B	14830^14831; 15007^15008; 15115^15116	0,1333	0,0833	0,0455	0	0,0762	0	0,0526	0,0476	0,0500	0,0441
		C	15079^15080; 15115^15116	0	0,0278	0	0	0,0095	0	0	0	0	0
		D	15115^15116	0,1000	0,1389	0,2727	0,1765	0,1429	0,3750	0,1052	0,1429	0,1500	0,1471
		E	15007^15008	0,0667	0	0	0	0,0190	0,1250	0	0,0476	0,0500	0,0441
	HaeIII	A	15157^15158	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	RsaI	A	Нет рестрикции	1	0,9722	1	1	0,9905	1	1	1	1	1
		B	15111^15112	0	0,0278	0	0	0,0095	0	0	0	0	0
	BstENII	A	Нет рестрикции	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Таблица 2. Частоты рестриционных гаплотипов цит b мтДНК в популяции красной полевки поймы р. Буюнда в 2004 и 2005 г.

Table 2. The mtDNA cyt b restriction haplotype frequencies in the red-backed vole population in the Buyunda R. flood-plain areas, in 2004 and 2005

Гаплотип	Комбинация рестриционных вариантов	Частота в 2004 г.					Частота в 2005 г.				
		Зимовавшие		Сеголетки		Суммарная N = 105	Зимовавшие		Сеголетки		Суммарная N = 68
		самки N = 30	самцы N = 36	самки N = 22	самцы N = 17		самки N = 8	самцы N = 19	самки N = 21	самцы N = 20	
B1 – AAAAA	CLETH: HinfI, RsaI, BstENII; VOLE: HinfI, RsaI	0,7000	0,7500	0,6818	0,7647	0,7238	0,5000	0,8421	0,7619	0,7500	0,7500
B2 – AAADA	CLETH: HinfI, RsaI, BstENII; VOLE: HinfI, RsaI	0,1000	0,1389	0,2273	0,1176	0,1429	0,2500	0,1053	0,1429	0,1500	0,1471
B3 – BAABA	CLETH: HinfI, RsaI, BstENII; VOLE: HinfI, RsaI	0,1333	0,0833	0,0455	0	0,0762	0	0,0526	0,0476	0,05	0,0441
B4 – AAAEA	CLETH: HinfI, RsaI, BstENII; VOLE: HinfI, RsaI	0,0667	0	0	0	0,0190	0,125	0	0,0476	0,05	0,0441
B5 – AABDA	CLETH: HinfI, RsaI, BstENII; VOLE: HinfI, RsaI	0	0	0,0455	0,0588	0,0190	0,125	0	0	0	0,0147
B6 – AABCB	CLETH: HinfI, RsaI, BstENII; VOLE: HinfI, RsaI	0	0,0278	0	0	0,0095	0	0	0	0	0
B7 – AABAA	CLETH: HinfI, RsaI, BstENII; VOLE: HinfI, RsaI	0	0	0	0,0588	0,0095	0	0	0	0	0

Таблица 3. Нуклеотидные замены в выявленных вариантах мтДНК
Table 3. Nucleotide substitutions in established mtDNA variants

Галлотип	Сайты																							
	14549	14564	14620	14636	14639	14654	14702	14750	14822	14826	14828	14831	14897	14987	15005	15008	15083	15110	15116	15119	15132	15166	15273	
B1	A	G	G	C	G	A	T	A	T	T	A	G	A	T	G	A	T	A	A	A	C	T	T	C
B1a	A	G
B2	G
B3	G	A
B3a	A
B4	A	T	C	.	.
B4a	G	C
B5	G	G
B6	G	A	A	G	.	.	C	G	C	C	G	.	G	.	.	C	C	G	T

14520 TTTATAGGCT ATGTCCTACC ATGAGGACAAATATCCTTCT GAGGGGCTAC
 14570 AGTAATTACA AACSTATTAT CAGCCATCCCCTATATCGGC ACAACCSTAG
 14620 TAGAGTGAAT CTGAGGCGGG TTCTCAGTAGATAAAGCTAC CCTTACACGA
 14670 TTCTTCGCAT TCCACTTCAT CCTGCCTTTCATTATCACAG CCCTTGTCTT
 14720 CGTCCATCTA CTATTCCTAC ACGAAACAGGATCCAACAAC CCAACAGGCC
 14770 TAAATTCAGA CGCAGACAAA ATCCCCTTTCACCCCTACTA CACAATCAAA
 14820 GATTTCTTAG GGGTCCTAT CTTATTAATAGGTCTCATAA TTTTGGTATT
 14870 GTTTTTCCCA GATGTTCTCG GAGACCCAGATAATTACACT CCTGCAAATC
 14920 САТСААСАС ТССАГСАСАС АТТААССАГ ААТГАТАТТ ТСТТТТСАГТ
 14970 ТАСАГСАТСС ТАСАГСАТСС АТТААТТААА СТААААААА ТСТТТТСАГТ
 15020 ААТССАТСА АТССАТСС ТАААААААА АТССАТСС АТССАТСС АТССАТСС
 15070 ААААААААА АТТААТТААА АТТААТТААА АТТААТТААА АТТААТТААА
 15120 СТААААААА АТТААТТААА АТТААТТААА АТТААТТААА АТТААТТААА
 15170 АТТААТТАА АТТААТТАА АТТААТТАА АТТААТТАА АТТААТТАА
 15220 ТТААТТАА АТТААТТАА АТТААТТАА АТТААТТАА АТТААТТАА
 15270 АТТААТТАА АТТААТТАА АТТААТТАА АТТААТТАА АТТААТТАА

Рис. 1. Последовательность нуклеотидов в варианте B1 мтДНК
Fig. 1. The nucleotide sequence of mtDNA B1 variant

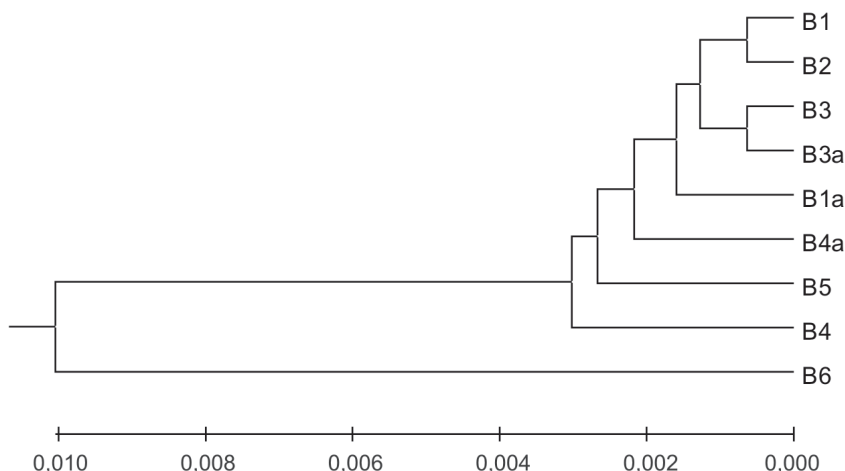


Рис. 2. UPGMA-дендрограмма, основанная на данных о нуклеотидных последовательностях в установленных вариантах мтДНК
Fig. 2. The UPGMA dendrogram underlain by nucleotide sequences in examined mtDNA variants

Таблица 4. Генетические дистанции между выявленными вариантами мтДНК
Table 4. Genetic distances between established mtDNA variants

Вариант мтДНК	B1	B1a	B2	B3	B3a	B4	B4a	B5
B1a	0,003							
B2	0,001	0,004						
B3	0,003	0,003	0,004					
B3a	0,001	0,004	0,003	0,001				
B4	0,004	0,006	0,005	0,006	0,005			
B4a	0,004	0,004	0,005	0,004	0,005	0,008		
B5	0,004	0,006	0,003	0,006	0,005	0,008	0,008	
B6	0,018	0,021	0,018	0,021	0,020	0,022	0,022	0,018

В результате секвенирования выявлено, что рестрикционный вариант В1 включает в себя два гаплотипических варианта гена цит b мтДНК: образцы от двух полевков были одинаковые по структуре, и этот вариант в дальнейшем обозначается В1. У третьей полевки с данным рестрикционным вариантом этот участок отличается от В1 двумя транзциями (пары А-Г) и в дальнейшем представлен как В1а. Рестрикционный вариант В2 у трех исследованных полевков оказался одинаковым. Рестрикционный вариант В3, по данным секвенирования, разделился на два гаплотипических варианта – В3 и В3а, различающихся одной транзцией (G-A). Секвенирование двух образцов рестрикционного варианта В4 выявило два гаплотипических варианта мтДНК – В4 и В4а, отличающихся шестью транзциями (тремя А-Г, двумя Т-С и одной С-Т).

На основании бипараметрической модели была построена UPGMA-дендрограмма (рис. 2). Полученные результаты филогенетического анализа свидетельствуют о том, что, несмотря на высокую частоту В1, исходным, по всей видимости является гаплотип В4.

Из табл. 4 видно, что В6 отличается от остальных гаплотипов на 1,8% (В1, В2 и В5); 2,0% (В3а); 2,1% (В1а и В3) и 2,2% (В4 и В4а). Отличие остальных гаплотипов между собой на порядок меньше:

на 0,1% отличаются от В1 гаплотипы В2 и В3а; от В3 – гаплотип В3а;

на 0,3% отличаются от В1 гаплотипы В1а и В3; от В1а – гаплотип В3; от В2 – гаплотипы В3а и В5;

на 0,4% отличаются от В1 гаплотипы В4, В4а и В5; от В1а – гаплотипы В2, В3а и В4а; от В3 – гаплотипы В2 и В4а;

на 0,5% отличаются от В2 гаплотипы В4 и В4а; от В3а – гаплотипы В4, В4а и В5;

на 0,6% от В1а отличаются гаплотипы В4 и В5; от В3 – гаплотипы В4 и В5;

на 0,8% от В4 отличаются гаплотипы В4а и В5; от В4а – гаплотип В5.

Для более конкретных утверждений по полиморфизму генетической структуры гена цит b необходимо провести секвенирование мтДНК большого объема выборки полевков, мтДНК которых в результате рестрикционного анализа были определены как В1, В2, В3, В4. Такая работа планируется в дальнейшем. Вполне возможно, что методом секвенирования будут установлены и другие варианты мтДНК, так как, по-видимому, группы В1, В3, В4, обнаруженные рестрикционным анализом, являются полиморфными.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом рестрикционного анализа амплифицированного участка гена цит b мтДНК (14520 – 15310 п. н.) 173 особей красной полевки популя-

ции поймы р. Буюнда с помощью эндонуклеаз рестрикции HinfI, HaeIII, RsaI, BstENI были выявлены 16 вариантов рестрикции, 4 из которых оказались мономорфными. На их основании зарегистрированы 7 гаплотипов мтДНК. Методом секвенирования установлены последовательности нуклеотидов у 12 полевков с шестью рестрикционными гаплотипами мтДНК, три из которых оказались полиморфными. Это позволило обнаружить новые сайты рестрикции, а также нуклеотидные замены, не определяемые рестрикционным анализом. Проведен филогенетический анализ выявленных гаплотипов мтДНК. Полученные результаты свидетельствуют о том, что полиморфизм анализируемого участка гена цит b поддерживается на одном уровне вне зависимости от флуктуаций численности полевков в исследуемой популяции.

Структурный полиморфизм обследованного участка гена цит b мтДНК популяции красных полевков поймы р. Буюнда позволяет использовать полученные данные при сравнительном анализе различных популяций этого вида. Планируемая в дальнейшем работа по выявлению с помощью секвенирования детальной генетической структуры как рассмотренной, так и других популяций красной полевки Северо-Востока России позволит детализировать популяционно-генетическую структуру обследуемого вида в этом регионе.

Выражаю благодарность к. б. н. М. В. Деренко (ИБПС ДВО РАН, г. Магадан) за помощь в проведении секвенирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 07-04-00069а).

ЛИТЕРАТУРА

Абрамсон Н. И. Филогеография: Итоги, проблемы, перспективы // Вестник ВОГиС. – 2007. – Т. 11, № 2. – С. 307–331.

Засыткин М. Ю., Примаков А. А. Новые данные по генетической изменчивости красной полевки (*Clethrionomys rutilus* Pallas, 1779) / VI съезд Териолог. о-ва (Москва, 13–16 апр. 1999 г.): тез. докл. – М., 1999. – С. 96.

Засыткин М. Ю., Примаков А. А. Пространственная гетерогенность популяций красной полевки (*Clethrionomys rutilus* Pallas, 1779) из Колымского бассейна, выявляемая методами биохимической генетики // Териологические исследования. Вып. 2. (Териолог. о-во РАН. Восточносиб. филиал). – СПб., 2003. – С. 22–32.

Курышев С. В. Растворимые белки сыворотки крови и гемоглобины красной и красно-серой полевков // Генетика. – 1990. – Т. 26, № 10. – С. 1822–1827.

Курышев С. В., Курышева Л. П. Оксидоредуктазы красной и красно-серой полевков // Генетика. – 1991а. – Т. 27, № 1. – С. 99–105.

Курышев С. В., Курышева Л. П. Ферментные белки различных классов красной и красно-серой полевков // Генетика. – 1991б. – Т. 27, № 3. – С. 480–486.

Переверзева В. В. Полиморфизм гена цитохрома b мтДНК в островных популяциях красных полевок (*Clethrionomys rutilus*) Охотского моря // Геология, география и биологическое разнообразие Северо-Востока России : Материалы Дальневост. регион. конф., посвящ. памяти А. П. Васьяковского и в честь его 95-летия (Магадан, 28–30 нояб. 2006 г.). – Магадан : СВНЦ ДВО РАН, 2006. – С. 387–390.

Примаков А. А., Засыпкин М. Ю. Новые данные по генетической изменчивости красной *Clethrionomys rutilus* Pallas, 1779 и красно-серой *Clethrionomys rufocanus* Sundervall 1846 полевок // Идеи, гипотезы, поиск... Вып. 8. Биолог. науки : сб. статей по материалам VIII науч. конф. аспирантов и молодых исследователей СМУ. – Магадан, 2001. – С. 39–41.

Чернявский Ф. Б. Млекопитающие крайнего северо-востока Сибири / отв. ред. В. Г. Кривошеев. – М. : Наука, 1984. – 388 с.

Conroy C. J., Cook J. A. MtDNA Evidence for Repeated Pulses of Speciation Within Arvicolinae and Murid Rodents // Journal of Mammalian Evolution. – 1999. – Vol. 6, No. 3. – P. 221–245.

Cook J. A., Bidlack A. L., Conroy C. J. et al. A phylogeographic perspective on endemism in the Alexander Archipelago of southeast Alaska // Biological Conservation. – 2001. – No. 97. – P. 215–227.

Cook J. A., Runck A. M., Conroy C. J. Historical biogeography at the crossroads of the northern continents: molecular phylogenetics of red-backed voles (Rodentia: Arvicolinae) // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2004. – No. 30. – P. 767–777.

Defontaine V., Osipova O., Henttonen H. et al. Phylogeography and Interspecific hybridization of bank voles (*Clethrionomys glareolus* and *rutilus*) in the Eurasian region // Hystrix It. J. Mammalogy (n. s.). – Supp. – 2006. – P. 42.

Dekonenko A., Yakimenko V., Ivanov A. et al. Genetic similarity of *Puumala* viruses found in Finland and western Siberia and of the mitochondrial DNA of their rodent hosts suggests a common evolutionary origin // Infection, Genetics and Evolution. – 2003. – No. 3. – P. 245–257.

Fleming M. A., Cook J. A. Phylogeography of endemic ermine (*Mustela erminea*) in southeast Alaska // Molecular Ecology. – 2002. – No. 11. – P. 795–807.

Iwasa M. A., Kartavtseva I. V., Dobrotvorsky A. K. et al. Local differentiation of *Clethrionomys rutilus* in northeastern Asia inferred from mitochondrial gene sequences // Mammalian biology. – 2002. – Vol. 67. – Issue 3. – P. 157–166.

Suzuki H., Iwasa M., Harada M. et al. Molecular phylogeny of red-backed voles in Far East Asia based on variation in ribosomal and mitochondrial DNA // Journal of Mammalogy. – 1999. – Vol. 80, No. 2. – P. 512–521.

Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. Phylogenetic and molecular evolutionary analyses were conducted using MEGA version 4. – 2006.

Tegelstrom H. Transfer of mitochondrial DNA from the northern red-backed vole (*Clethrionomys rutilus*) to the bank vole (*C. glareolus*) // Journal Molecular Evolution. – 1987. – Vol. 24. – P. 218–227.

Zaykin D. V., Pudovkin A. I. Two programmes to estimate significance of Chi-square values using pseudo-probability test // Journal of Heredity. – 1993. – Vol. 84. – P. 152–155.

Поступила в редакцию 16.12.2008 г.

THE mtDNA CYTOCHROME b GENE POLYMORPHISM IN RED-BACKED VOLE FROM THE BUYUNDA R. FLOOD-PLAINS

V. V. Pereverzeva, A. N. Lazutkin

This is the first analytical study of the mtDNA cytochrome b gene polymorphism in a red-backed vole *Clethrionomys rutilus* (Pallas, 1779), population inhabiting the Buyunda River flood-plain areas. Sixteen restriction variants including four monomorphic ones were established by virtue of a restriction analysis using endonucleases of HinfI, HaeIII, RsaI and BstENII; these form 7 restriction haplotypes of mtDNA cytochrome b gene. The mtDNA sequencing method was used to determine nucleotide sequences in 6 haplotypes. Three of the latter were reported to have additional nucleotide substitutions not established by restriction analysis. The results of this study testify to a significant polymorphism of the analyzed site of cytochrome b gene in the studied population, and it remains the same, irrespective of changes in the number of animals.

Key words: mitochondrial gene of cytochrome b (cyt b), red-backed vole, restriction analysis, population genetic study, DNA sequencing.