

БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ

УДК 597.585.1.591.69.575.174.015.3

МОРФОЛОГИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ РЕЧНОГО ОКУНЯ *PERCA FLUVIATILIS* (PERCIDAE) РЕЧНЫХ И ОЗЕРНЫХ ЭКОСИСТЕМ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

О. Н. Жигилева, А. Г. Егорова, А. В. Сарьянова

ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет»,
625003, Россия, г. Тюмень

Изучена морфологическая и генетическая изменчивость речного окуня *Perca fluviatilis* (Linnaeus, 1758) из водоемов Западной Сибири — рек Таз, Надым, Ханаяха, Кирилл-Высъягун, Айкаёган, Пышма, Алабуга, озер Янтарное, Большое Антьятское и Кашикуль. Во всех исследованных популяциях окуня преобладали самки в соотношении 1 : 1,2–2. Наблюдалась тенденция сдвига возрастного состава в сторону преобладания особей старших возрастных групп в направлении с севера на юг. Закономерного изменения морфометрических показателей окуня в широтном направлении не выявлено. Размерные показатели окуней выше в реках по сравнению с озерами. Дана оценка экологического благополучия популяций окуня по показателю флуктуирующей асимметрии. Доля асимметричных особей в популяциях окуня варьировала от 64 % в р. Кирилл-Высъягун до 95 % в оз. Янтарное. Состояние малых рек ЯНАО и ХМАО (Кирилл-Высъягун, Айкаёган и Ханаяха) можно оценить как условно нормальное, несмотря на то, что они протекают по территории нефтяных месторождений. В водных объектах г. Надыма (р. Надым, оз. Янтарное) и пос. Тазовского, а также в оз. Большое Антьятское и р. Пышма в Тюменском районе качество среды оценивается как значительное отклонение от нормы. В изученных водоемах юга Тюменской области (оз. Кашикуль и р. Алабуга) показатели окуней соответствовали начальному и среднему уровням отклонения от нормы. В популяциях окуня Обь-Иртышского бассейна выявлен низкий уровень изменчивости по аллозимным маркерам и средний — по ДНК-маркерам. Генетическая изменчивость окуня имеет децентрализованный характер, более 30 % изменчивости приходится на межпопуляционную составляющую. Аллозимные маркеры могут быть использованы для дифференциации географически удаленных популяций окуня. Полиморфизм по нейтральным ДНК-маркерам позволяет дифференцировать популяции окуня из разных озер и рек одного и того же речного бассейна.

Ключевые слова: речной окунь; *Perca fluviatilis*; флуктуирующая асимметрия; генетическая изменчивость; изоферменты; ДНК-маркеры; ISSR; Западная Сибирь

Введение

Речной окунь *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758 — широко распространенный представитель окуневых рыб, играющий значительную роль в трофических отношениях в водоемах как хищник и кормовой объект других видов рыб. Особенно велика роль окуня в северных районах Евразии, где он часто доминирует в ихтиоценозах. В водоемах Европы

и Азии имеет промысловое значение. В связи с расширением ареала, в ряде районов окунь приобрел статус инвазивного вида [1]. Вследствие экологической пластичности, он может обитать в водоемах разного типа, в том числе находящихся под значительным антропогенным прессом, поэтому нередко используется как индикатор экологического благополучия [2–5].

В связи с активным промысловым использованием и инвазивным статусом вида,

© О. Н. Жигилева, А. Г. Егорова, А. В. Сарьянова

большой интерес представляет разработка генетических маркёров популяционной принадлежности особей для выявления источников поставки биологической продукции или источников инвазий. Однако, несмотря на большое практическое значение окуня, изучению его генетических особенностей посвящено не так много работ [6; 7]. Популяционно-генетическая структура вида изучалась в ряде водоемов Европы [8–11], Прибалтийском регионе [12], Китае [13]. Описана сложная внутривидовая структура, в частности способность окуня формировать в пределах одного водоема генетически и морфологически дифференцированные субпопуляции [14–18]. Данные о генетической изменчивости и дифференциации популяций речного окуня в водоемах Сибири отсутствуют.

Цель данной работы — изучить особенности морфологии и генетической изменчивости окуня, обитающего в реках и озерах Западной Сибири.

Материалы и методы исследования

Отлов окуня производился в 2014–2016 гг. в 7 реках и 3 озерах (рис. 1). Суммарный объем выборки составил 308 особей, в том числе 22 — р. Таз, 40 — из р. Надым, 40 — оз. Янтарное, 16 — из р. Ханаяха, 37 — из р. Кирилл-Высъягун, 37 — р. Айкаёган, 45 — оз. Большое Антъятское, 40 — р. Пышма, 9 — оз. Каишкуль и 22 — р. Алабуга. В оз. Большое Антъятское и р. Пышма орудием лова служили разноячейные сети, в остальных водоемах использовали матчевую поплавочную удочку крючкового наживного типа и спиннинг с блесной.

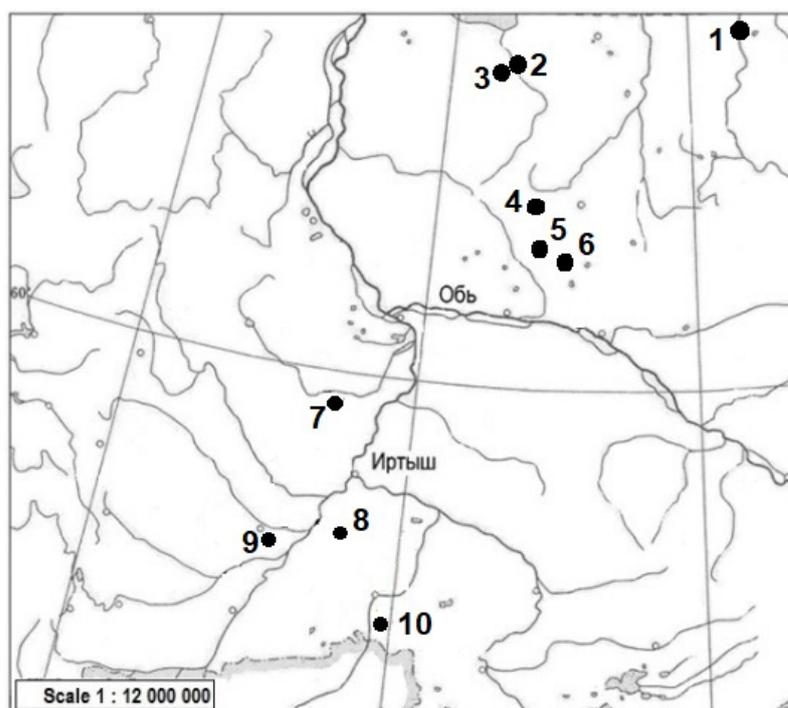


Рисунок 1 — Места отлова окуня:

- 1 — р. Таз (пос. Тазовский Ямало-Ненецкого автономного округа — ЯНАО, 67°28' с. ш. 78°43' в. д.),
- 2 — р. Надым (Надымский район ЯНАО, 65°55' с. ш. 72°57' в. д.),
- 3 — оз. Янтарное (Надымский район ЯНАО, 65°51' с. ш. 72°60' в. д.),
- 4 — р. Ханаяха (Пуровский район ЯНАО, 63°31' с. ш. 75°02' в. д.),
- 5 — р. Кирилл-Высъягун (ХМАО-Югра, Сургутский район, 62°13' с. ш. 74°29' в. д.),
- 6 — р. Айкаёган (ХМАО-Югра, Сургутский район, 62°01' с. ш. 75°30' в. д.),
- 7 — оз. Большое Антъятское (Кондинский район ХМАО-Югра, 59°38' с. ш. 67°28' в. д.),
- 8 — оз. Каишкуль (с. Юргинское Тюменской области, 56°50' с. ш. 67°20' в. д.),
- 9 — р. Пышма (Тюменский район, 56°58' с. ш. 65°52' в. д.),
- 10 — р. Алабуга (пос. Новоселезнёво Казанского района Тюменской области, 55°40' с. ш. 69°12' в. д.)

Морфологические исследования рыб проводили по 12 признакам, рекомендованным для окуневых рыб: длина всей рыбы, длина рыла, диаметр глаза (горизонтальный), заглазничный отдел головы, длина головы, высота головы у затылка, наибольшая и наименьшая высота тела, антедорсальное расстояние, длина хвостового стебля; наибольшая высота первого (ID) и второго (IID) спинного плавников [19].

Для оценки показателей флуктуирующей асимметрии использовали пять признаков: число чешуй в боковой линии, число лучей в брюшных плавниках, число лучей в межжаберной перегородке, число жаберных тычинок на первой жаберной дуге, число лучей в грудных плавниках. Рассчитывали долю асимметричных особей в разных популяциях окуня и величину интегрального показателя стабильности развития рыб. Для оценки отклонений состояния организма от условной нормы, а также качества среды, в которой он обитает, по величине интегрального показателя стабильности развития рыб использована пятибалльная шкала [20].

Генетическую изменчивость изучали методом аллозимного анализа и полимеразной цепной реакции последовательностей, ограниченных простыми повторами (ISSR-PCR, от англ. — inter simple sequence repeats) [21; 22]. ISSR относятся к мультилокусным, нейтральным ДНК-маркерам, отражающим изменчивость генома в целом. Они позволяют раскрывать больший объем генетической изменчивости, чем аллозимные маркеры. ДНК экстрагировали из мышечной ткани, фиксированной в 70%-м этаноле, методом щелочного лизиса [23]. Для ISSR-PCR использовали 2 праймера: (AG)₈G (UBC 809), (AG)₈T (UBC-807), апробированных в качестве маркеров для популяционной дифференциации других видов рыб [24]. Амплификацию проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей буфер (0.01 М трис-НСl, 0.05 М КCl, 0.1 % Triton X-100), 4 мМ MgCl₂, 0.2 мМ каждого из dNTPs, 1 мкл раствора тотальной ДНК, 2.5 мМ праймера и 0.2 ед/мкл Taq-полимеразы (Fermentas), в следующем режиме: 94 °С — 7 мин; затем 40 циклов 94 °С —

30 с, 52 (56) °С — 45 с, 72 °С — 2 мин; 72 °С — 7 мин. ПЦР-фрагменты разделяли в 2%-м агарозном геле. Длины фрагментов определяли с помощью маркера молекулярных масс ДНК 100 bp (Fermentas).

Для аллозимного анализа использовали образцы скелетной мускулатуры, которые хранили при -40 °С. Белки экстрагировали стандартным способом с использованием трис-НСl буфера, рН = 8.0. Разделение смеси белков проводили в 7,5%-м полиакриламидном геле, с использованием трис-ЭДТА-боратной буферной системы. Изучено пять белковых систем: неспецифические эстеразы (EST 3.1.1.1, 3.1.1.2), лактатдегидрогеназа (LDH 1.1.1.27), аспаратаминотрансфераза (ААТ 2.6.1.1), супероксиддисмутаза (SOD 1.15.1.1) и неферментные белки мышц — миогены (MY). Гистохимическое выявление белков проводили в соответствии с рекомендациями [25]. Лocus нумеровали последовательно, начиная с наибольшей электрофоретической подвижности. При обозначении аллелей электрофоретическую подвижность наиболее часто встречаемой фракции принимали за 100.

Популяционно-генетические характеристики: частоты генов и генотипов, долю полиморфных локусов (P_{95} %), среднюю наблюдаемую (H_o) и ожидаемую (H_e) гетерозиготность, показатель генетического разнообразия Нея (h), наблюдаемое (n_a) и эффективное число аллелей (n_e), индекс генетического сходства (I_N) и генетическую дистанцию Нея (D_N), межпопуляционную составляющую генетической изменчивости (F_{ST}/G_{ST}), поток генов (N_m) — рассчитывали с использованием программы POPGEN [26].

Результаты исследования

Во всех исследованных популяциях окуня преобладали самки в соотношении 1 : 1,2–2 (табл. 1). Возрастной состав окуня представлен особями от 1+ до 6+, основу всех выборок составили особи возраста 2+...3+. В водных объектах ЯНАО высок удельный вес особей младших возрастных групп (1+), а особи старших возрастов (6+) выявлены только в р. Пышма и оз. Большое Антъятское (табл. 1).

Таблица 1 — Соотношение полов и возрастной состав окуня из разных водоемов, %

Водоем	Соотношение самцов и самок	Возраст, лет					
		1+	2+	3+	4+	5+	6+
р. Таз	1 : 1,4	0	36	32	23	9	0
р. Надым	1 : 1,7	24	38	26	10	2	0
оз. Янтарное	1 : 1,4	18	40	20	15	7	0
р. Ханаяха	1 : 2,3	17	17	33	25	8	0
р. Кирилл-Высъягун	1 : 1,3	37	27	27	9	0	0
р. Айкаёган	1 : 2,0	3	74	16	7	0	0
оз. Большое Антъятское	1 : 1,3	0	30	35	11	11	13
оз. Каишкуль	1 : 1,3	0	56	33	11	0	0
р. Пышма	1 : 1,2	0	24	31	14	12	19
р. Алабуга	1 : 1,2	0	32	41	27	0	0

По основным морфометрическим показателям закономерного изменения морфологии окуня в широтном направлении не выявлено. Однако размерные показатели окуней были выше в реках по сравнению с озерами (табл. 2).

Для выявления отклонений и оценки стабильности развития окуня определяли величину флуктуирующей асимметрии (ФА) билатеральных морфологических признаков. При ее исследовании установили, что доля асимметричных особей в разных популяциях окуня варьировала от 64 % до 91 %, а средняя

частота асимметричного проявления на признак — от 0,22 до 0,44. На основании интегрального показателя стабильности развития рыб каждому водному объекту был присвоен балл экологического состояния. В реках Кирилл-Высъягун, Айкаёган и Ханаяха величина интегрального показателя стабильности развития окуня составила 0,22–0,25. Это соответствует I баллу по пятибалльной шкале оценки отклонений состояния организма от условной нормы. Состояние этих малых рек ЯНАО и ХМАО можно оценить как условно нормальное.

Таблица 2 — Основные морфометрические показатели окуня возраста 2+ ($x \pm m_x$)

Признак	р. Таз	р. Надым	оз. Янтарное	р. Ханаяха	р. Кирилл-Высъягун	р. Айкаёган	оз. Большое Антъятское	оз. Каишкуль	р. Пышма	р. Алабуга
Масса рыбы, г	99,6 ± 6,5	74,7 ± 7,4	52,5 ± 4,1	59,5 ± 2,5	51,7 ± 4,9	46,0 ± 1,5	67,3 ± 4,1	59,0 ± 5,8	74,8 ± 5,3	87,1 ± 6,1
Длина тела, мм	184,7 ± 6,4	164,2 ± 5,2	152,3 ± 2,9	104,5 ± 0,5	94,7 ± 0,9	110,7 ± 1,6	174,0 ± 5,7	157,6 ± 4,3	167,9 ± 5,1	182,6 ± 5,8
Длина головы, мм	46,8 ± 2,3	42,6 ± 1,5	38,5 ± 0,8	47,0 ± 1,0	45,3 ± 2,7	39,4 ± 0,5	41,2 ± 1,9	44,3 ± 3,4	41,8 ± 1,3	41,2 ± 0,9
В % длины тела										
Длина головы	25,6 ± 1,7	25,9 ± 0,4	25,3 ± 0,2	29,4 ± 0,5	29,6 ± 0,6	27,5 ± 0,5	23,7 ± 0,7	28,1 ± 2,1	24,9 ± 0,5	22,7 ± 0,8
Высота головы	21,9 ± 2,3	17,4 ± 0,6	17,7 ± 0,3	20,5 ± 1,2	20,5 ± 0,9	18,8 ± 0,4	17,3 ± 1,1	21,6 ± 2,8	17,9 ± 0,7	18,8 ± 0,7
Наибольшая высота тела	27,4 ± 1,5	23,9 ± 0,5	22,0 ± 0,3	24,3 ± 1,2	24,8 ± 0,3	24,9 ± 0,2	21,1 ± 0,9	26,5 ± 2,4	21,6 ± 0,8	23,3 ± 0,5
Наименьшая высота тела	8,3 ± 0,7	6,5 ± 0,4	6,4 ± 0,1	7,5 ± 0,3	7,2 ± 0,2	7,46 ± 0,1	7,0 ± 0,6	8,3 ± 1,1	7,3 ± 0,5	8,1 ± 0,4

Окончание табл. 2

Признак	р. Таз	р. Надым	оз. Янтарное	р. Ханаяха	р. Кирилл-Высъягун	р. Айкаёган	оз. Большое Антъятское	оз. Каишкуль	р. Пышма	р. Алабуга
Длина хвостового стебля	19,8 ± 1,6	16,5 ± 0,5	17,9 ± 0,2	17,7 ± 0,7	16,8 ± 0,9	19,38 ± 0,4	16,5 ± 1,0	18,6 ± 1,4	17,8 ± 0,5	18,4 ± 0,5
Антердорсальное расстояние	27,4 ± 1,4	27,3 ± 0,5	25,9 ± 0,1	29,9 ± 0,3	29,9 ± 1,0	27,6 ± 0,3	24,7 ± 1,0	28,4 ± 2,5	25,5 ± 0,3	23,6 ± 1,2
Высота ID	11,7 ± 0,7	12,5 ± 0,4	12,1 ± 0,2	14,7 ± 0,1	14,2 ± 0,4	12,99 ± 0,3	11,6 ± 0,3	13,2 ± 1,1	11,8 ± 0,2	11,2 ± 0,6
Высота IID	9,4 ± 0,6	9,4 ± 0,2	9,6 ± 0,1	10,9 ± 0,4	10,1 ± 0,4	9,3 ± 0,3	9,0 ± 0,4	10,7 ± 1,1	9,6 ± 0,2	9,6 ± 0,6
В % длины головы										
Длина рыла	33,7 ± 2,1	26,4 ± 1,6	25,1 ± 0,2	30,9 ± 1,7	31,9 ± 1,3	26,6 ± 0,5	28,2 ± 1,5	28,4 ± 1,9	27,5 ± 2,1	36,8 ± 1,7
Диаметр глаза	19,9 ± 0,6	19,6 ± 0,5	21,2 ± 0,5	20,8 ± 1,0	19,2 ± 1,0	21,4 ± 0,3	20,6 ± 0,8	18,3 ± 0,5	20,9 ± 0,7	21,3 ± 0,7
Заглазничный отдел головы	46,6 ± 2,5	53,4 ± 1,4	54,0 ± 0,8	48,5 ± 2,7	49,6 ± 0,4	51,6 ± 0,7	51,2 ± 1,6	53,4 ± 2,0	51,6 ± 2,4	41,9 ± 2,3

В водных объектах г. Надыма (р. Надым, оз. Янтарное) и пос. Тазовского, а также в оз. Большое Антъятское и р. Пышма качество среды оценивается как существенное (значительное) отклонение от нормы, поскольку соответствует IV баллу экологиче-

ского состояния. В оз. Каишкуль и р. Алабуга показатели ФА окуней были промежуточные и соответствовали II (начальные (незначительные) отклонения от нормы) и III баллу (средний уровень отклонения от нормы) (табл. 3).

Таблица 3 — Показатели флуктуирующей асимметрии окуня

Водоем	Процент асимметричных особей	Интегральный показатель стабильности развития рыб	Балл экологического состояния*
р. Таз	90,9 ± 6,1	0,44	IV
р. Надым	92,5 ± 4,2	0,44	IV
оз. Янтарное	95,0 ± 3,5	0,43	IV
р. Ханаяха	66,7 ± 13,6	0,22	I
р. Кирилл-Высъягун	63,6 ± 14,5	0,24	I
р. Айкаёган	80,7 ± 7,1	0,25	I
оз. Большое Антъятское	80,4 ± 5,9	0,39	IV
оз. Каишкуль	77,8 ± 13,9	0,31	II
р. Пышма	88,1 ± 5,0	0,43	IV
р. Алабуга	77,3 ± 8,9	0,37	III

* Баллы соответствуют качеству среды: I — условно нормальное; II — начальные (незначительные) отклонения от нормы; III — средний уровень отклонения от нормы; IV — существенное (значительное) отклонение от нормы, по пятибалльной шкале [20].

Генетическая изменчивость и дифференциация популяций окуня, обитающего в водоемах Западной Сибири, были изучены с использованием двух видов генетических мар-

кёров. Методом аллозимного анализа было изучено 15 локусов (*LDHA*, *LDHB*, *AAT*, *ME*, *SOD1*, *SOD2*, *MY1-5*, *EST-1-4*), полиморфизм выявлен по локусам *EST-2*, *SOD-1*, *LDHA*,

ME, *MY1* и *MY3*. Во всех случаях полиморфизм обусловлен наличием двух кодоминантных аллелей, кроме локуса *MY1*, по которому полиморфизм связан с наличием 0-аллеля.

Несмотря на большое число полиморфных локусов, уровень аллозимного полиморфизма окуня был низким, так как в разных выборках полиморфны были разные системы (табл. 4).

Таблица 4 — Частоты аллелей изоферментных локусов и показатели аллозимной изменчивости речного окуня

Локус	Аллель	оз. Янтарное (<i>n</i> = 19)	р. Алабуга (<i>n</i> = 19)	р. Пышма (<i>n</i> = 20)	оз. Большое Антьятское (<i>n</i> = 20)
<i>EST2</i>	100	0,579	1,000	1,000	0,700
	93	0,421	0	0	0,300
<i>LDHA</i>	100	1,000	1,000	0,925	1,000
	90	0	0	0,075	0
<i>SOD1</i>	100	0,210	0,895	1,000	1,000
	90	0,790	0,105	0	0
<i>ME</i>	100	1,000	1,000	0,950	1,000
	95	0	0	0,050	0
<i>MY1</i>	100	1,000	1,000	0,975	0,800
	0	0	0	0,025	0,200
<i>MY3</i>	100	1,000	1,000	0,875	0,750
	98	0	0	0,125	0,250
$P_{95\%}$		0,133	0,067	0,133	0,200
H_0		0,007	0,000	0,030	0,040
H_E		0,056	0,013	0,034	0,076
n_a		1,13	1,07	1,26	1,20
n_c		1,11	1,02	1,03	1,12

По локусам *LDHA* и *MY1* выявлены редкие аллельные варианты в выборке из р. Пышма. Полиморфизм по локусам мигронов выявлен у окуня из р. Пышма и оз. Большое Антьятское, по эстеразам — из озер Большое Антьятское и Янтарное. Отклонение от равновесия Харди — Вайнберга выявлено в популяции окуня оз. Янтарное по локусу *EST2* ($p < 0,001$), р. Алабуга — по локусу *SOD1* ($p < 0,001$), р. Пышма — по локусу *ME* ($p < 0,001$), оз. Большое Антьятское — по локусам *EST2* и *MY1* ($p < 0,001$). Во всех случаях наблюдался дефицит гетерозиготных генотипов.

В целом доля полиморфных локусов у окуня составила 0,400, средняя наблюдаемая гетерозиготность (H_0) была равна 0,0197, ожидаемая (H_E) — 0,0658. Показатели изменчивости по отдельным выборкам были существенно ниже и варьировали в пределах: $P_{95\%} = 0,067$ –0,133; $H_0 = 0,000$ –0,007; $H_E = 0,013$ –0,076. Самые высокие показате-

ли изменчивости наблюдались у окуня из оз. Большое Антьятское, самые низкие — из р. Алабуга (см. табл. 4).

Генетические дистанции Нея между популяциями окуня варьировали в пределах 0,002–0,059 и были наибольшими между окунем из оз. Янтарное и другими водоемами (табл. 5). Показатель генетического сходства (I_N) между популяциями окуня оз. Янтарное и р. Алабуга был равен 0,9557, генетическая дистанция (D_N) — 0,0453. Эти популяции разделены значительным географическим расстоянием (более 1500 км) и принадлежат разным речным бассейнам. Наименьшие генетические дистанции ($D_N = 0,0024$) были между выборками окуня рек Пышма и Алабуга, принадлежащих к бассейну Иртыша и разделенных незначительным расстоянием. Дендрограмма генетических дистанций хорошо согласуется с взаимным расположением исследованных водоемов (рис. 2).

Таблица 5 — Показатели генетической дифференциации окуня по данным разных методов

Вид маркёра	F_{ST} (G_{ST})	N_m	I_N	D_N
Аллозимы	0,327	0,51	0,942–0,998	0,002–0,059
ISSR*	0,311	1,11	0,740–0,996	0,004–0,301

* ISSR (от англ. inter simple sequence repeats) — последовательности, ограниченные простыми повторами.

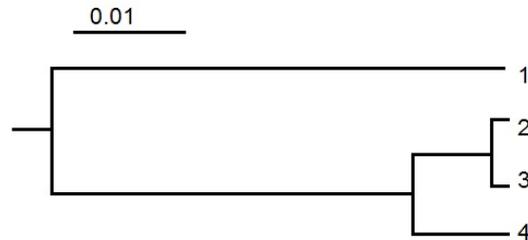


Рисунок 2 — Дендрограмма генетических дистанций Нея по аллозимным локусам речного окуня из разных водоемов:

1 — оз. Янтарное; 2 — р. Алабуга; 3 — р. Пышма; 4 — оз. Большое Антъятское

Методом ISSR-PCR с двумя видами праймеров было проанализировано 7 выборок и получено 26 бэндов (рис. 3). В отличие от аллозимов, по ДНК-маркёрам показатели изменчивости окуня были выше. Доля полиморфных ISSR-бэндов составила 100 %,

генетическое разнообразие Нея (h) — 0,31. В отдельных популяциях окуня показатели полиморфизма варьировали в широких пределах: доля полиморфных бэндов — от 0,539 до 0,962, генетическое разнообразие Нея (h) — 0,19–0,33 (табл. 6).

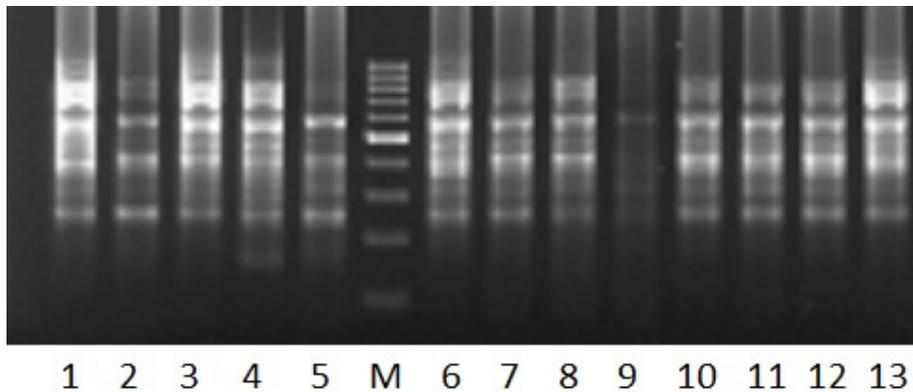


Рисунок 3 — Электрофореграмма ISSR-паттернов речного окуня с праймером UBC-807: 1–13 — разные особи; М — маркер молекулярных масс ДНК 100 bp. (2%-й агарозный гель)

Таблица 6 — Показатели полиморфизма ISSR окуня из разных водоемов

Водоем	n	P	h	n_a
р. Таз	22	0,962	0,33	1,96
р. Надым	30	0,643	0,24	1,19
оз. Янтарное	30	0,786	0,29	1,19
оз. Большое Антъятское	20	0,923	0,33	1,92
оз. Каишкуль	9	0,731	0,24	1,73
р. Пышма	20	0,962	0,32	1,96
р. Алабуга	22	0,539	0,19	1,54
<i>Всего</i>	153	1,000	0,31	2,00

Несмотря на значительную разницу в уровнях генетической изменчивости, показатели генетической дифференциации по данным двух методов были сопоставимы. Исключение составили индексы Нея, размах колебаний которых по ISSR-маркёрам был больше, чем по аллозимным данным (см. табл. 5). Особенно эти показатели различались для географически удаленных и изолированных озерных популяций. Так, наименьшие индексы сходства и максимальные генетические дистанции выявлены для популяций изолированного оз. Каишкуль и наиболее удаленных рек Таз и Алабуга.

Обсуждение результатов

Характер аллозимного полиморфизма, а также уровни генетической изменчивости по изоферментным маркёрам в популяциях окуня, обитающего в водоемах Западной Сибири, соответствовали таковым, описанным в литературе. Сопоставимый относительно низкий уровень аллозимного полиморфизма был установлен в популяциях окуня из водоемов Швеции, Ирландии, Шотландии, побережья Балтийского моря [27], а также в швейцарских озерах [8]. По сравнению с другими видами рыб Обь-Иртышского бассейна, генетическая структура которых изучена нами по тем же генетическим маркёрам [24; 28], окунь имеет самый низкий уровень аллозимного полиморфизма. По-видимому, мономорфизм по аллозимным локусам характерен для данного вида рыб. Причина низкого уровня аллозимного полиморфизма окуня не понятна, тем более что низкий биохимический полиморфизм этого вида резко контрастирует с широкой морфологической изменчивостью, фенотипическим разнообразием, например по окрасочным морфам, а также высокой экологической пластичностью [29].

Несмотря на низкий уровень аллозимной изменчивости, генетическая дифференциация между популяциями окуня хорошо выражена. Показатель межпопуляционной составляющей генетической изменчивости высокий ($F_{ST} = 0,327$) и свидетельствует о децентрализованном характере генетического полиморфизма этого вида. Наличие отно-

сительно редко встречающихся в некоторых популяциях аллелей позволяет использовать их в качестве маркёров популяционной принадлежности.

Дефицит гетерозиготных генотипов, который наблюдался как по отдельным локусам, так и в среднем, может быть обусловлен эффектом Валунда и свидетельствует о наличии у окуня исследуемых водоемов скрытой внутривидовой структуры. Указания на формирование окунем в пределах одного водоема репродуктивно изолированных группировок имеются в литературе [14; 30]. Субпопуляции могут быть генетически изолированы при наличии контрастных экологических условий даже при отсутствии видимых барьеров и незначительных расстояний [31; 32], а также в экологически гомогенной среде малых озер [33]. Механизмы такой внутривидовой генетической дифференциации пока не известны и требуют дальнейших исследований.

В отличие от аллозимов, уровень изменчивости нейтральных ДНК-маркёров сопоставим с аналогичными показателями других видов рыб Обь-Иртышского бассейна [24]. Данные об изменчивости ISSR-маркёров окуня в литературе отсутствуют, однако есть указания на высокий уровень полиморфизма этого вида по другим нейтральным ДНК-маркёрам. Так, значительный полиморфизм по микросателлитам описан у окуня из Китая [13] и Прикаспийского региона [34], по IRAP-маркёрам — из Прибалтики [12]. Высокий уровень генетической дифференциации популяций окуня выявлен по RAPD и мтДНК [9–11]. В то время как аллозимные маркёры могут быть использованы для дифференциации географически удаленных популяций окуня, полиморфизм по нейтральным ДНК-маркёрам позволяет дифференцировать близко расположенные популяции, например из разных озер и рек одного и того же речного бассейна.

Заключение

В целом состояние популяций речного окуня изученных частей Обь-Иртышского бассейна можно оценить как удовлетвори-

тельное. При этом наблюдается значительная вариабельность морфологических признаков окуня из разнотипных водоемов, которая подтверждает представление о высокой экологической пластичности этого вида. Большое значение для формирования морфологического облика рыб имеет тип водоема (озеро или река), причем, судя по размерным характеристикам, в речных экосистемах складываются более благоприятные условия для развития рыб.

В то же время существенное влияние на окуня оказывает и уровень антропогенной нагрузки, который в ряде исследованных водоемов (р. Надым, оз. Янтарное, оз. Большое Антьятское и р. Пышма) настолько большой, что оказывает дестабилизирующее влияние на морфогенез рыб. Данные об уровнях флуктуирующей асимметрии окуня могут быть использованы для проведения мониторинга состояния водных объектов и степени благополучия среды для других, более ценных в промысловом отношении видов рыб.

Высокие уровни дифференциации популяций окуня позволяют использовать данные об изменчивости генетических маркёров для идентификации популяционной принадлежности рыб, в том числе, с практической целью — установления источников происхождения рыбной продукции или источников биологических инвазий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Closs G.P., Ludgate B., Goldsmith R.J. Controlling European perch (*Perca fluviatilis*): lessons from an experimental removal // Proceedings of a workshop hosted by department of conservation “Managing invasive freshwater fish in New Zealand”. Hamilton, 2001. P. 37–48.
- Кашулин Н. А., Лукин А. А., Амундсен П. А. Рыбы пресных вод субарктики как биоиндикаторы техногенного загрязнения. Апатиты, 1999. 142 с.
- Ericson G., Liewenborg B., Lindesjö E., Näf C., Balk L. DNA adducts in perch (*Perca fluviatilis*) from a creosote contaminated site in the River Ångermanälven, Sweden // Aquat. Toxicol. 1999. V. 45, № 2–3. P. 181–193.
- Georgieva E., Yancheva V., Velcheva I. et al. Histological alterations under metal exposure in gills of European perch (*Perca fluviatilis* L.) from Topolnitsa Reservoir (Bulgaria) // Arch. Biol. Sci. Belgrade, 2015. V. 67, № 2. P. 729–737.
- Стерлигова О. П., Ильмаст Н. В., Савосин Д. С. Окунь *Perca fluviatilis* (Percidae) разнотипных водоемов Карелии // Уч. зап. Петрозаводского гос. ун-та. Общая биология. 2016. № 2 (155). С. 57–62.
- Pukk L., Gross R., Vetemaa M., Vasemägi A. Comparative population genetic analysis of brackish- and freshwater populations of Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.): implication for fish forensics // Front. Mar. Sci. Conference Abstract “XV European Congress of Ichthyology”, 2015, Porto, Portugal.
- Khadher S.B., Fontaine P., Milla S. et al. Genetic characterization and relatedness of wild and farmed Eurasian perch (*Perca fluviatilis*): possible implications for aquaculture practices // Aquaculture Reports. 2016. V. 3. P. 136–146.
- Heldstab H., Katoh M. Low genetic variation in perch (*Perca fluviatilis* L.) from three major European drainage systems in Switzerland // Aquat. Sci. 1995. V. 57, № 1. P. 14–19.
- Nesbo C.L., Mohammed O.A., Jakobsen K.S. Heteroplasmy, length and sequence variation in the mtDNA control regions of three percoid fish species (*Perca fluviatilis*, *Acerina cernua*, *Stizostedion lucioperca*) // Genetics. 1998a. V. 148. P. 1907–1919.
- Nesbo C.L., Mohammed O.A., Jakobsen K.S. Genetic differentiation among stationary and anadromous perch (*Perca fluviatilis*) in the Baltic Sea // Hereditas. 1998b. V. 129. P. 241–249.
- Nesbo C.L., Fossheim T., Vollestad L.A., Jakobsen K.S. Genetic divergence and phylogeographic relationships among European perch (*Perca fluviatilis*) populations reflect glacial refugia and postglacial colonization // Mol. Ecol. 1999. V. 8. P. 1387–1404.
- Fokina O., Grauda D., Rashal I. Genetic diversity of two perch *Perca fluviatilis* populations of the Latgale region // Proceedings of the 10th International Scientific and Practical Conference “Environment. Technology. Resources”. V. II. 2015, Rezekne, Latvia. P. 96–98.
- Yang X.X., Wang C.H., Wang J. et al. Isolation and characterization of 12 polymorphic microsatellite loci in Eurasian perch (*Perca*

- fluviatilis* L.) // Conserv. Genet. Resour. 2009. V. 1, № 1. P. 229.
14. Gerlach G., Schardt U., Eckmann R., Meyer A. Kin-structured subpopulations in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) // Heredity. 2001. V. 86, № 2. P. 213–221.
 15. Heynen M., Hellstrom G., Magnhagen C., Borcharding J. Does morphological variation between young-of-the-year perch from two Swedish lakes depend on genetic differences? // Ecol. Freshwat. Fish. 2010. V. 19. P. 163–169.
 16. Bartels P., Hirsch P.E., Svanback R., Eklov P. Water transparency drives intra-population divergence in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) // Plos One. 2012. V. 7, № 8: e43641.
 17. Roch S., Behrmann-Godel J., Brinker A. Genetically distinct colour morphs of European perch *Perca fluviatilis* in Lake Constance differ in susceptibility to macroparasites // J. Fish Biol. 2015. V. 86, № 2. P. 854–863.
 18. Rowinski P.K., Mateos-Gonzalez F., Sandblom E., et al. Warming alters the body shape of European perch *Perca fluviatilis* // J. Fish Biol. 2015. V. 87, № 5. P. 1234–1247.
 19. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищевая пром-сть, 1966. 377 с.
 20. Оценка стабильности развития живых организмов по уровню асимметрии морфологических структур: метод. рекомендации по выполнению оценки качества среды по состоянию живых существ. М.: Министерство природных ресурсов Российской Федерации. Государственная служба охраны окружающей среды (Росэкология), 2003. 25 с.
 21. Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J. et al. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // Nucl. Acids Res. 1990. V. 18. P. 6531–6535.
 22. Zietjiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. V. 20. P. 176–183.
 23. Bender W., Pierre S., Hognes D.S. Chromosomal walking and jumping to isolate DNA from Ace and rosy loci of bithorax complex in *Drosophila melanogaster* // J. Mol. Biol. 1983. V. 168. P. 17–33.
 24. Zhigileva O.N., Baranova O.G., Pozhidaev V.V. et al. Comparative analysis of using isozyme and ISSR-PCR markers for population differentiation of cyprinid fish // Turkish J. Fish. Aquat. Sci. 2013. V. 13, № 1. P. 159–168.
 25. Корочкин Л. И., Серов О. А., Пудовкин А. И. и др. Генетика изоферментов. М.: Наука, 1977. 278 с.
 26. Yeh F.C., Yang R., Boyle T. POPGENE // Univ. Alberta and Centre Int. Forestry Res. 1999. (http://www.ualberta.ca/~fyeh/popgene_download.html. Version 1.31)
 27. Gyllensten U., Ryman N., Stahl G. Monomorphism of allozymes in perch (*Perca fluviatilis* L.) // Hereditas. 1987. V. 102. P. 57–61.
 28. Жигилева О. Н., Ожирельев В. В., Броль И. С., Пожидаев В. В. Популяционная структура трех видов рыб (Cypriniformes: Cyprinidae), обитающих в реках Обь-Иртышского бассейна, по данным изоферментного анализа // Вопр. ихтиологии. 2010. Т. 50, № 6. С. 811–820.
 29. Olsson J., Eklov P. Habitat structure, feeding mode and morphological reversibility: factors influencing phenotypic plasticity in perch // Evolutionary Ecology Research. 2005. V. 7, № 8. P. 1109–1123.
 30. Faulks L., Svanbäck R., Eklöv P., Östman Ö. Genetic and morphological divergence along the littoral-pelagic axis in two common and sympatric fishes: Perch, *Perca fluviatilis* (Percidae) and roach, *Rutilus rutilus* (Cyprinidae) // Biological Journal of the Linnean Society. 2015. V. 114, № 4. P. 929–940.
 31. Bergek S., Björklund M. Cryptic barriers to dispersal within a lake allow genetic differentiation of Eurasian perch // Evolution. 2007. V. 61, № 8. P. 2035–2041.
 32. Behrmann-Godel J., Gerlach G. First evidence for postzygotic reproductive isolation between two populations of Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) within Lake Constance // Frontiers in Zoology. 2008. V. 5, № 1. P. 3.
 33. Bergek S., Sundblad G., Björklund M. Population differentiation in perch *Perca fluviatilis*: environmental effects on gene flow? // J. Fish Biol. 2010. V. 76, № 5. P. 1159–1172.
 34. Gharibkhani M. The genetic structure and phylogenetics of pikeperch (*Sander lucioperca*) Anzali and Amirkolaye wetlands and perch (*Perca fluviatilis*) populations in Aras Dam and south-west of the Caspian Sea: PhD Thesis. Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, 2009. 195 p.

**THE MORPHOLOGY AND GENETIC VARIATION
OF THE EURASIAN PERCH *PERCA FLUVIATILIS* (PERCIDAE)
IN THE FLUVIAL AND LACUSTRINE ECOSYSTEMS OF WESTERN SIBERIA**

O.N. Zhigileva, A.G. Yegorova, A.V. Saryapova

Tyumen State University,
625023, Russia, Tyumen

*The morphological and genetic variation of the Eurasian perch *Perca fluviatilis* (Linnaeus, 1758) from the water bodies of Western Siberia — Rivers Taz, Nadym, Khanayakha, Kirill-Vysyagun, Aikayogan, Pyshma, Alabuga and lakes Yantarnoye, Bolshoye Antyatskoye and Kaishkul — is discussed. In all the investigated perch populations, females prevailed in the ratio 1 : 1.2–2. A tendency was observed for a shift of the fish age towards domination of the older age groups in the direction from North to South. No regularity in the change of the morphometric parameters of the perch in the latitudinal direction was found. The size of the perch was found to be larger in the rivers, compared to the lakes. The ecological well-being of the perch populations was evaluated based on the fluctuating asymmetry parameter. The proportion of asymmetric fish in the perch populations varied from 64% in the River Kirill-Vysyagun to 95% in Lake Yantarnoye. The state of the small rivers of the Yamal-Nenetsky autonomous district and of the Khanty-Mansiysky autonomous district (Kirill-Vysyagun, Aikayogan and Khanayakha) may be characterized as conditionally normal, although they flow on the territories of oil fields. In the water bodies of the city of Nadym (River Nadym, Lake Yantarnoye) and of the settlement of Tazovskoye, in Lake Bolshoye Antyatskoye and in the River Pyshma in the Tyumen district, the quality of the environment was evaluated as significantly deviating from the norm. In the investigated water bodies of the south of the Tyumen region (Lake Kaishkul and the River Alabuga), the perch characteristics corresponded to the initial and medium levels of deviation from the norm. In the perch populations of the Ob-Irtysh basin, a low level of genetic variation was revealed based on allozyme markers, and a medium level — based on DNA markers. Genetic variation of perch has a decentralized character: the inter-population component accounts for more than 30% of the variation. Allozyme markers may be used for differentiating geographically remote perch populations. Polymorphism according to neutral DNA-markers allows differentiation of perch populations from different lakes and rivers belonging to the same river basin.*

Key words: river perch; *Perca fluviatilis*; fluctuating asymmetry; genetic variation; allozyme; DNA-marker; ISSR; Western Siberia

REFERENCES

1. Closs G.P., Ludgate B., Goldsmith R.J. Controlling European perch (*Perca fluviatilis*): lessons from an experimental removal. Proceedings of a workshop hosted by department of conservation “Managing invasive freshwater fish in New Zealand”. Hamilton, 2001; 37–48.
2. Kashulin N.A., Lukin A.A., Amundsen P.A. [Fish of subarctic fresh waters as indicators of man-made pollution]. Apatites, 1999. 142 p. (In Russ.)
3. Ericson G., Liewenborg B., Lindesjö E., Näf C., Balk L. DNA adducts in perch (*Perca fluviatilis*) from a creosote contaminated site in the River Ångermanälven, Sweden. Aquat. Toxicol. 1999; 45(2–3): 181–193.
4. Georgieva E., Yancheva V., Velcheva I., et al. Histological alterations under metal exposure in gills of European perch (*Perca fluviatilis* L.) from Topolnitsa Reservoir (Bulgaria). Arch. Biol. Sci. Belgrade, 2015; 67(2): 729–737.
5. Sterligova O.P., Ilmast N.V., Savosin D.S. [Bass *Perca fluviatilis* (Percidae) in different types of water bodies of Karelia]. Scholarly notes of Petrozavodsk State University. General biology. 2016; 2(155): 57–62. (In Russ.)
6. Pukk L., Gross R., Vetemaa M., Vasemägi A. Comparative population genetic analysis of brackish- and freshwater populations of Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.): implication for fish forensics. Front. Mar. Sci. Conference Abstract “XV European Congress of Ichthyology”, 2015, Porto, Portugal.

7. Khadher S.B., Fontaine P., Milla S., et al. Genetic characterization and relatedness of wild and farmed Eurasian perch (*Perca fluviatilis*): possible implications for aquaculture practices. *Aquaculture Reports*. 2016; 3: 136–146.
8. Heldstab H., Katoh M. Low genetic variation in perch (*Perca fluviatilis* L.) from three major European drainage systems in Switzerland. *Aquat. Sci.* 1995; 57(1): 14–19.
9. Nesbo C.L., Mohammed O.A., Jakobsen K.S. Heteroplasmy, length and sequence variation in the mtDNA control regions of three percid fish species (*Perca fluviatilis*, *Acerina cernua*, *Stizostedion lucioperca*). *Genetics*. 1998a. 148: 1907–1919.
10. Nesbo C.L., Mohammed O.A., Jakobsen K.S. Genetic differentiation among stationary and anadromous perch (*Perca fluviatilis*) in the Baltic Sea. *Hereditas*. 1998b. 129: 241–249.
11. Nesbo C.L., Fossheim T., Vollestad L.A., Jakobsen K.S. Genetic divergence and phylogeographic relationships among European perch (*Perca fluviatilis*) populations reflect glacial refugia and postglacial colonization. *Mol. Ecol.* 1999; 8: 1387–1404.
12. Fokina O., Grauda D., Rashal I. Genetic diversity of two perch *Perca fluviatilis* populations of the Latgale region. *Proceedings of the 10th International Scientific and Practical Conference “Environment. Technology. Resources”*. V. II. 2015, Rezekne, Latvia. 96–98.
13. Yang X.X., Wang C.H., Wang J., et al. Isolation and characterization of 12 polymorphic microsatellite loci in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.). *Conserv. Genet. Resour.* 2009; 1(1). 229 p.
14. Gerlach G., Schardt U., Eckmann R., Meyer A. Kin-structured subpopulations in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.). *Hereditas*. 2001; 86(2): 213–221.
15. Heynen M., Hellstrom G., Magnhagen C., Borchering J. Does morphological variation between young-of-the-year perch from two Swedish lakes depend on genetic differences? *Ecol. Freshwat. Fish.* 2010; 19: 163–169.
16. Bartels P., Hirsch P.E., Svanback R., Eklov P. Water transparency drives intra-population divergence in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Plos One*. 2012; 7(8): e43641.
17. Roch S., Behrmann-Godel J., Brinker A. Genetically distinct colour morphs of European perch *Perca fluviatilis* in Lake Constance differ in susceptibility to macroparasites. *J. Fish Biol.* 2015; 86(2): 854–863.
18. Rowinski P.K., Mateos-Gonzalez F., Sandblom E., et al. Warming alters the body shape of European perch *Perca fluviatilis*. *J. Fish Biol.* 2015; 87(5): 1234–1247.
19. Pravdin I.F. [Manual for fish research]. Moscow. 1966. 377 p. (In Russ.)
20. [Assessment of life organisms stability by the level of asymmetry of morphological structures: methodological recommendations for assessing the environment quality by the state of live organisms]. Moscow: Ministry of Natural Resources of the Russian Federation. State Service of Environmental Protection (Rosecologiya), 2003. 25 p. (In Russ.)
21. Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., et al. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 1990; 18: 6531–6535.
22. Zietjiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*. 1994; 20: 176–183.
23. Bender W., Pierre S., Hognes D.S. Chromosomal walking and jumping to isolate DNA from Ace and rosy loci of bithorax complex in *Drosophila melanogaster*. *J. Mol. Biol.* 1983; 168: 17–33.
24. Zhigileva O.N., Baranova O.G., Pozhidaev V.V., et al. Comparative analysis of using isozyme and ISSR-PCR markers for population differentiation of cyprinid fish. *Turkish J. Fish. Aquatic. Sci.* 2013; 13(1): 159–168.
25. Korochkin L.I., Serov O.A., Pudovkin A.I., et al. [Genetics of isoenzymes]. Moscow: Nauka, 1977. 278 p. (In Russ.)
26. Yeh F.C., Yang R., Boyle T. POPGENE. Univ. Alberta and Centre Int. Forestry Res. 1999. (http://www.ualberta.ca/~fyeh/popgene_download.html. Version 1.31)
27. Gyllensten U., Ryman N., Stahl G. Monomorphism of allozymes in perch (*Perca fluviatilis* L.). *Hereditas*. 1987; 102: 57–61.
28. Zhigileva O.N., Ozhireliev V.V., Brol' I.S., Pozhidaev V.V. [Population structure of the three types of fish (Cypriniformes: Cyprinidae) which dwell in Ob-Irtysh basin rivers, by the data of Isoenzyme analysis]. *Ichthyology Journal*. 2010; 50(6): 811–820. (In Russ.)
29. Olsson J., Eklov P. [Habitat structure, feeding mode and morphological reversibility: factors influencing phenotypic plasticity in perch].

- Evolutionary Ecology Research. 2005; 7(8): 1109–1123.
30. Faulks L., Svanbäck R., Eklöv P., Östman Ö. Genetic and morphological divergence along the littoral-pelagic axis in two common and sympatric fishes: Perch, *Perca fluviatilis* (Percidae) and roach, *Rutilus rutilus* (Cyprinidae). Biological J. of the Linnean Society. 2015; 114(4): 929–940.
 31. Bergek S., Björklund M. Cryptic barriers to dispersal within a lake allow genetic differentiation of Eurasian perch. Evolution. 2007; 61(8): 2035–2041.
 32. Behrmann-Godel J., Gerlach G. First evidence for postzygotic reproductive isolation between two populations of Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) within Lake Constance. Frontiers in Zoology. 2008; 5(1): 3.
 33. Bergek S., Sundblad G., Björklund M. Population differentiation in perch *Perca fluviatilis*: environmental effects on gene flow? Journal of Fish Biology. 2010; 76(5): 1159–1172.
 34. Gharibkhani M. The genetic structure and phylogenetics of pikeperch (*Sander lucioperca*) Anzali and Amirkolaye wetlands and perch (*Perca fluviatilis*) populations in Aras Dam and south-west of the Caspian Sea: PhD Thesis. Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, 2009. 195 p.

Об авторах

Жигилева Оксана Николаевна,
доктор биологических наук,
профессор кафедры экологии и генетики
ФГАОУ ВО «Тюменский государственный
университет»
625003, г. Тюмень, ул. Володарского, 6
(3452) 59-74-94; zhigileva@mail.ru

Егорова Анна Геннадьевна,
магистрант кафедры экологии и генетики
ФГАОУ ВО «Тюменский государственный
университет»
625003, г. Тюмень, ул. Володарского, 6
anna_egorova93@inbox.ru

Сарьянова Анжелика Вячеславовна,
бакалавр кафедры экологии и генетики
ФГАОУ ВО «Тюменский государственный
университет»
625003, г. Тюмень, ул. Володарского, 6
lika.mail.ru.95@mail.ru

About the authors

Zhigileva Oksana Nikolaevna,
Doctor of Biological Sciences
Professor of the Department of Ecology
and Genetics
Tyumen State University
6 Volodarskogo Str., Tyumen, 625003
+7 3452 59-74-94; zhigileva@mail.ru

Yegorova Anna Gennadijevna,
Master of the Department of Ecology and Genetics
Tyumen State University
6 Volodarskogo Str., Tyumen, 625003
anna_egorova93@inbox.ru

Saryanova Anzhelika Vyacheslavovna,
Bachelor of the Department of Ecology
and Genetics
Tyumen State University
6 Volodarskogo Str., Tyumen, 625003
lika.mail.ru.95@mail.ru