

DOI: 10.24143/2073-5529-2017-4-136-143
УДК 575.86:574.9

Ю. С. Никулина, Е. А. Боровикова, Ю. А. Носков, М. Д. Туманов

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЩУКИ *ESOX LUCIUS* L. В УСЛОВИЯХ НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ^{1,2}

Впервые выполнен анализ нуклеотидных последовательностей двух участков митохондриальной ДНК (мтДНК): участка гена первой субъединицы цитохром *c*-оксидазы (Co-1) и контрольной области, или D-петли, для щуки (*Esox lucius*) из озер Щучьих (№ 1–3) и оз. Безымянное (Республика Коми). Система озер Щучьих находится под воздействием нефтяного загрязнения. Озеро Безымянное является более благополучным в этом отношении и выступает в рамках исследования как контрольный водоем без загрязнения нефтью наряду с данными литературы и базы данных GenBank (NCBI). Для исследованных популяций характерен низкий уровень генетического полиморфизма, который, однако, согласно литературным данным, выше такового щуки из озер Польши. Для каждого взятого на анализ фрагмента мтДНК описано по два гаплотипа; один из вариантов D-петли выявлен впервые. С использованием собственных данных и информации из базы данных GenBank для Co-1 и D-петли щук проведен филогеографический анализ. Наиболее интересными оказались результаты в случае последовательностей Co-1, которые были объединены в три группы с довольно четкой географической приуроченностью. Первая группа объединяет гаплотипы из водоемов Греции, Турции, Македонии (южная филогенетическая линия). Вторая группа включает варианты *E. lucius* преимущественно Центральной Европы, а третья – варианты, обнаруженные в водоемах Северной Европы (Скандинавский п-ов), и гаплотипы из популяций озер Коми (северная линия), что позволяет говорить о большей близости *E. lucius* исследованного региона популяциям именно Северной Европы. Среднее значение *p*-расстояний для контрольного региона и Co-1 фрагмента мтДНК между последовательностями щуки из озер Республики Коми и североευропейских водоемов составило 0,5 и 0,3 % соответственно. Различий в уровне полиморфизма между выборками из озер, подвергавшихся нефтяному загрязнению, и водоемов из благополучных в этом плане районов на данном этапе исследования не выявлено.

Ключевые слова: щука, митохондриальная ДНК, Республика Коми, филогения.

Введение

Нефтяное загрязнение является одним из ведущих факторов антропогенного воздействия на водные экосистемы. Углеводороды нефти, попадая в водоем, влияют на все этапы жизненного цикла гидробионтов, в том числе и рыб. В случае рыб, помимо непосредственного токсического воздействия, углеводороды нефти приводят в негодность нагульные участки и нерестилища, затрудняют, а чаще всего нарушают миграции рыб, вызывают массовые заболевания, ослабляя общую устойчивость их организма [1]. Кроме того, различные химические загрязнители, включая компоненты буровых растворов, поверхностно активные вещества, детергенты и дисперсанты влияют на выработку сигнальных веществ, синтезируемых в организме рыб и выделяемых с целью передачи информации другим особям того же вида, и неблагоприятно сказываются на хемосенсорном и половом поведении, нарушают пищевые реакции рыб [2]. Даже ничтожные концентрации нефти (0,1 мг/л) придают рыбе привкус и запах, неустранимые ни при какой технологической обработке, делая ее непригодной в качестве пищи [3].

Основным путем поступления углеводородов в водоемы являются аварийные разливы в процессе добычи и транспортировки нефти. В России одна из крупнейших аварий произошла в 1994 г. в Усинском районе Республики Коми, в результате которой произошла утечка более 200 тыс. т нефтесодержащей жидкости [4]. Через несколько лет после аварии в районе загрязнения стала отмечаться рыба с отклонениями в строении тела. Наиболее часто описывалась щука (*Esox lucius*) со значительно укороченной верхней челюстью [5].

¹ Авторы выражают благодарность И. С. Ворошиловой и Д. П. Карабанову за обсуждение рукописи и ценные замечания к ней.

² Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации № МК-5336.2016.4.

В 2004–2005 гг. в районе загрязнения проводилась очистка воды и донных отложений от нефти. Было отмечено существенное снижение концентрации нефтепродуктов в донных отложениях, что способствовало появлению бентосных организмов, увеличению линейных показателей и темпа роста рыб [6]. В 2016 г. были проведены повторные исследования, которые показали эффективность очистки водоемов для гидробионтов в целом [7].

Целью исследования, результаты которого изложены в предлагаемой статье, стало изучение генетического полиморфизма щуки из районов, подвергавшихся нефтяному загрязнению.

Материалы и методы исследований

Материал для исследований был собран в летний период 2016 г. в озерах Щучье (№ 1–3) и оз. Безымянное (рис. 1). Система озер Щучьих расположена в Усинском районе Республики Коми, за Северным Полярным кругом. Она представляет собой термокарстовые слабопроточные озера, связанные между собой ручьями, и является истоком р. Воргаэль. В данном регионе развита добыча нефти, что ведет к загрязнению водных экосистем. Так, согласно данным исследований 2004–2005 гг., концентрация нефтепродуктов в донных отложениях оз. Щучье № 1 достигает 5 г/кг, в воде – 0,3–0,6 мг/л [4, 8]. Для первого показателя нормативы ПДК находятся на стадии разработки – предлагается принять норму 1 г/кг; ПДК для нефтепродуктов в воде составляет 0,1 мг/л (ГОСТ 1843-52). Оз. Щучье № 2 выступает как накопитель нефтяного загрязнения, поступающего по ручью из оз. Щучье № 1 [8].

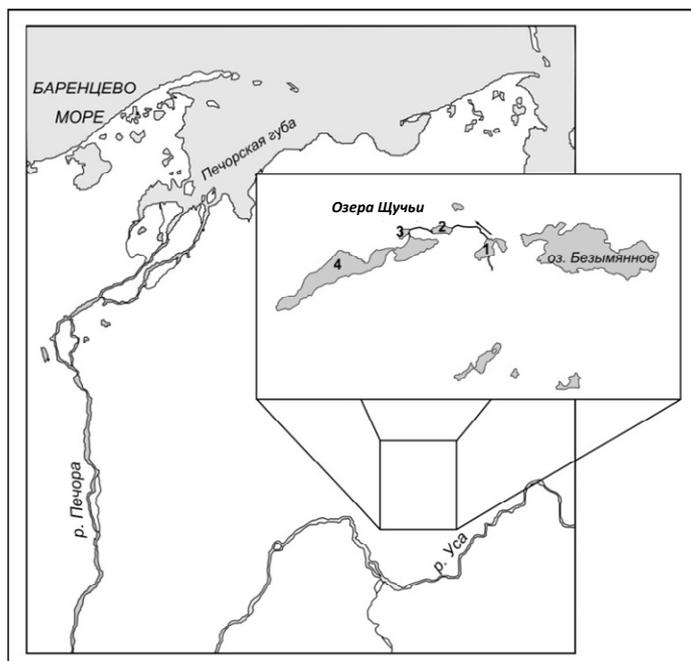


Рис. 1. Схема озер Щучьих и оз. Безымянное

Озеро Безымянное служило в работе в качестве фонового, не затронутого нефтяным загрязнением. О благополучном состоянии экосистемы этого водоема свидетельствуют данные исследований зоопланктонных и бентосных сообществ [8], концентрация нефтепродуктов в донных отложениях оставила 0,7 г/кг (устное сообщение Ю. А. Носкова). Кроме того, как контроль (без загрязнения нефтепродуктами) рассматривались водоемы Европы, сведения о полиморфизме популяций щуки которых взяты из литературы и базы данных GenBank Национального центра биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information (NCBI), США).

Отлов рыбы проводился ставными сетями с размерами ячеи 18 и 24 мм и длиной 50 м. За период полевых работ было отобрано 102 экз. рыб, из которых 14 экз. были щуки: 10 экз. отловлено в озерах Щучьих и 4 экз. – в оз. Безымянное. Остальной улов составляли плотва (*Rutilus rutilus*) и окунь (*Perca fluviatilis*). Весь ихтиологический материал был подвергнут биологическому анализу по общепринятым методикам [9, 10]. Дальнейший генетический анализ был проведен для 14 экз. шук.

Для анализа полиморфизма митохондриальной ДНК (мтДНК) щуки использовали кусочки ткани (белая мышца), фиксированные 96 %-ным этанолом (1:5). Клеточную ДНК выделяли с использованием набора реагентов ДНК-Экстран-2 (ЗАО «Синтол», Москва). Последовательность нуклеотидов определяли для двух участков мтДНК: фрагмента гена первой субъединицы цитохром *c*-оксидазы (Co-1) и части некодирующего региона, включающего точки начала транскрипции и репликации мтДНК – контрольной области, или D-петли. Синтез, или амплификацию, Co-1 проводили путем полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием праймеров F-COI-E1 и R-COI-E1 [11] в 25 мкл однократного буфера для амплификации (НПО «СибЭнзим», Новосибирск): 60 mM трис-HCl (pH 8,5 при температуре 25 °C); 25 mM KCl; 1,5 mM MgCl₂; 10 mM 2-меркаптоэтанол; 0,1 % Тритон X-100. Смесь содержала также 100–200 нг тотальной клеточной ДНК; по 0,25 пмоль каждого из двух праймеров; по 200 нмоль каждого из четырех дезоксирибонуклеотидов и 0,5–1,0 единиц активности (ед. а.) *Taq*-ДНК полимеразы. Сверху, для предотвращения испарения в ходе ПЦР, на смесь наслаивали минеральное масло. Программа амплификации включала этапы: денатурацию ДНК при температуре + 95 °C – 5 мин; 32 цикла синтеза фрагмента: + 95 °C – 1 мин, + 53 °C – 50 с и + 72 °C – 1 мин 15 с; заключительная достройка концов фрагмента: + 72 °C – 5 мин [12, с модификацией].

Для амплификации D-петли использовали праймеры CDLD и PIDL [13]. Реакционная смесь объемом 25 мкл включала: 200 нг тотальной клеточной ДНК, 2,5 мкл 10-кратного буфера (НПО «СибЭнзим»), по 2 пмоль каждого праймера, по 200 нмоль каждого из четырех дезоксирибонуклеотидов и 1 ед. а. *Taq*-ДНК полимеразы. Для предотвращения испарения также использовали минеральное масло. Программа амплификации включала следующие этапы: начальный этап денатурации ДНК при температуре + 95 °C – 2 мин; 40 циклов синтеза фрагмента: + 94 °C – 55 с; + 50 °C – 55 с и + 72 °C – 1 мин 25 с; заключительная достройка концов фрагмента: + 72 °C – 10 мин [13].

Качество синтезированных образцов оценивали путем электрофореза в 1,3 %-ном агарозном геле с последующей визуализацией ПЦР-продуктов в УФ-свете после окрашивания бромистым этидием. Размер фрагмента определяли с помощью стандартного ДНК-маркера GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (производитель – компания Thermo Fisher Scientific, США).

Секвенирование проводили на автоматическом анализаторе 3500 ABI (8 капилляров) с использованием набора BigDye® Terminator v3.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit (ABI PRISM®) на базе Института биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН. Протяженность нуклеотидной последовательности, определенной для D-петли мтДНК, варьировала у разных образцов от 411 пар нуклеотидов (п. н.) до 505 п. н.; длина секвенированного участка Co-1 составила около 584–685 п. н. Все последовательности депонированы в базу данных GenBank (NCBI) под номерами MG211741–MG211744.

Чтение и анализ полиморфизма нуклеотидных последовательностей проводили в программах MEGA6 [14] и DnaSP v.5 [15]. Для построения сетей гаплотипов Co-1 и D-петли мтДНК использовали программу Network 5.0.0.0 [16]. В ходе анализа полученных данных, кроме описанных нами гаплотипов, были использованы последовательности из базы данных GenBank (NCBI).

Результаты исследования и их обсуждение

Среди щук, взятых для молекулярно-генетического анализа, не было экземпляров с отклонениями в морфологии и уродствами.

Четырнадцать проанализированных последовательностей контрольного региона мтДНК щуки из озер Щучьих (№ 1–3) и оз. Безымянное оказались отнесены к двум гаплотипам – D1 и Shch1, первый из которых распространен и в водоемах Норвегии (номера последовательностей в NCBI: KM281491, KM281485). Для анализа был взят общий для всех последовательностей участок длиной 411 п. н. Следует отметить, что гаплотип D1 является наиболее частым у щуки исследованных нами водоемов: его носителями оказались десять (71,4 %) из 14 взятых для анализа особей. Вариант Shch1, выявленный только в озерах Коми, отличается от варианта D1 одной нуклеотидной заменой (*p*-дистанция 0,2 %).

Основные показатели внутривидового полиморфизма D-петли мтДНК приведены в таблице. Различия между последовательностями этого фрагмента особей из озер Щучьих (№ 1–3) и оз. Безымянное и последовательностями, взятыми из базы данных GenBank (NCBI), не превышают максимальной дифференциации между гаплотипами контрольной области щуки из водоемов Европы (Норвегия, Швейцария). Так, среднее значение *p*-дистанции между последовательностями щуки из водоемов Республики Коми и северными водоемами Европы составило 0,5 %.

Показатели внутривидового полиморфизма щуки из водоемов Коми невелики (табл.). Интересно, однако, что они превышают таковые для польских популяций, несмотря на меньший объем наших выборок и меньшую длину анализируемого участка.

Основные показатели внутривидового полиморфизма мтДНК щуки озер Республики Коми в сравнении с популяциями из других водоемов*

Водоем	Длина анализируемого фрагмента, п. н.	<i>N</i>	<i>h</i>	<i>H_d</i>	<i>π</i>
	Co-1				
Озера Щучьи (№ 1–3); оз. Безымянное	600	14	2	0,44	0,00072
Юг Европы, р. Дунай [11]	651	374	20	–	0,00420
D-loop					
Озера Щучьи (№ 1–3); оз. Безымянное	411	14	2	0,44	0,00093
Озера Польши [17]	1350	33	3	0,16	0,00060
Водоемы Европы и Канады [18]	273	47	8	0,72	0,00350

* *N* – число проанализированных последовательностей; *h* – число гаплотипов; *H_d* – гаплотипическое разнообразие; *π* – нуклеотидное разнообразие.

Для Co-1 фрагмента щуки из исследованных озер также описано два гаплотипа – C2 и C3 (рис. 2). Для анализа взят общий для всех последовательностей участок длиной 584 п. н. Наиболее частый вариант – C2, отмеченный у 71,4 % взятых для анализа особей, характерен и для водоемов Европы (номера последовательностей в NCBI: Чехия – HQ960989, Швеция – KJ128485). Второй гаплотип (C3) был также выявлен в популяции щуки из оз. Плещеево в Ярославской области (номер в NCBI – KT989772). Следует отметить, что в Центральной Европе распространен вариант, не обнаруженный в водоемах Республики Коми, – C1 (номера последовательностей: HQ960994, KM286646, KM224813, KM224852, KT989773, KR053389, HM563693). *p*-Дистанция между этим вариантом и вариантами C2 и C3 варьировала от 0,2 до 0,5 % (среднее значение 0,3 %), не превышая, таким образом, уровня внутривидового полиморфизма.

Анализ сети гаплотипов Co-1 мтДНК, построенной с использованием данных NCBI о 37 последовательностях, позволяет обсуждать происхождение и филогенетические связи популяций щуки из озер Коми с популяциями других водоемов. Все последовательности, взятые в анализ, могут быть объединены в три группы с довольно четкой географической приуроченностью (рис. 2).

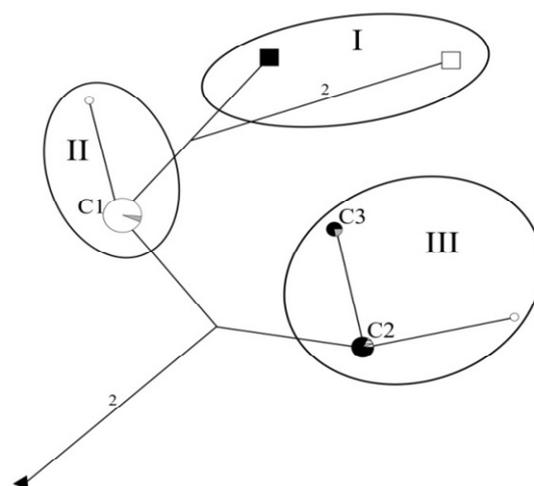


Рис. 2. Сеть гаплотипов Co-1 фрагмента мтДНК щуки (*E. lucius*). Сеть построена с использованием данных базы NCBI. Обозначения популяций: белый квадрат – водоемы Турции; черный квадрат – водоемы Греции; треугольник – Казахстан; белый цвет – популяции Центральной Европы; серый – оз. Плещеево; волнообразная заливка – популяции Северной Европы; черный – исследованные популяции Республики Коми. Диаметр круга соответствует частоте конкретного варианта. Число нуклеотидных замен между вариантами равно единице, если не указано иное. Эллипсы ограничивают три гаплогруппы Co-1 щуки

Так, первая группа включает гаплотипы щуки из водоемов Греции, Турции, Македонии (южная линия). Вторая группа объединяет варианты, отмеченные в популяциях *E. lucius* преимущественно Центральной Европы, а третья, куда входят варианты, обнаруженные в водоемах Северной Европы (Скандинавский п-ов), и гаплотипы из популяций щуки, обитающих в озерах Республики Коми, представляет собой северную филогенетическую линию.

Рассчитанные значения *p*-дистанции показали наибольшую дифференциацию между первой и третьей группами гаплотипов – 0,7 %. Минимальными были значения показателя при сравнении второй и третьей групп (0,4 %).

В случае D-петли данных в GenBank, доступных для сравнительного анализа, значительно меньше. Однако использование информации о 23 последовательностях щуки из европейских водоемов подтверждает данные, полученные при анализе сети гаплотипов Co-1, в частности вывод о большей близости щуки из популяций водоемов Республики Коми популяциям *E. lucius* из водоемов Северной Европы.

Следует отметить, что различий в уровне полиморфизма между выборками из озер, подвергавшихся нефтяному загрязнению (оз. Щучье), и водоемов, благополучных в этом отношении (оз. Безымянное, водоемы Европы), на данном этапе исследований не выявлено. Возможно, это связано с недостаточным объемом выборок. Для получения корректных в этом плане данных требуется увеличение объема проанализированного материала, а также анализ полиморфизма популяций с использованием маркеров ядерного генома, характеризующихся более высокой скоростью эволюции (например, микросателлитов).

Выводы

Таким образом, анализ полиморфизма двух участков мтДНК выявил низкий уровень генетического разнообразия популяций щуки из озер Республики Коми. В то же время не вызывает сомнений факт большей филогенетической близости щуки *E. lucius* исследованного региона популяциям щуки из водоемов Северной Европы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Попов П. А. Оценка экологического состояния водоемов методами ихтиоиндикации. Новосибирск: Изд-во НГУ, 2002. 270 с.
2. Моисеев Т. И. Водная экотоксикология: теоретические и прикладные аспекты. М.: Наука, 2009. 400 с.
3. Лукьяненко В. И., Черкашин С. А. Ихтиологический мониторинг – важнейший инструмент оценки качества водной среды // Методы ихтиотоксикологических исследований: тез. докл. 1-го Всесоюз. симпоз. по методам ихтиотоксикол. исслед. Л., 1987. С. 91–93.
4. Мониторинг рыбного населения озера Щучье (Усинский район Республики Коми). Отчет по х/д № 8-И-2003 / Ин-т биологии Коми НЦ УрО РАН. Сыктывкар, 2003. 10 с.
5. Туманов М. Д., Воробьев Д. С., Мартынов В. Г. Сиговые рыбы нижнего течения реки Усы в условиях техногенного загрязнения / под ред. В. И. Романова. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 2013. 212 с.
6. Лушников С. В., Воробьев Д. С., Фадеев В. Н. Экспериментальные работы по очистке донных отложений и воды озера Щучье загрязненных в результате аварийных разливов нефти (Усинский район, Республика Коми) // Экологические работы на месторождениях нефти Тимано-Печорской провинции. Состояние и перспективы: материалы III науч.-практ. конф. (г. Ухта). Сыктывкар, 2004. С. 139–142.
7. Носков Ю. А., Воробьев Д. С., Туманов М. Д., Никулина Ю. С., Лим А. Эффективность технологии очистки донных отложений от нефти // Биотехнология: состояние и перспективы развития: материалы IX Междунар. конгресса (Москва, 20–22 февраля 2017 г.). М.: ООО «Русские Экспо Дни Групп», 2017. Т. 1. С. 471–473.
8. Оценка экологического состояния озера Щучье № 1 (Усинский район, Республика Коми) по результатам реализации проекта очистки донных отложений и воды в 2004–2005 гг. Отчет по х/д. Томск, 2006. 72 с.
9. Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищ. пром-сть, 1966. 376 с.
10. Чугунова Н. И. Руководство по изучению возраста и роста рыб. М.: Изд-во АН СССР, 1959. 162 с.
11. Lucentini L., Puletti M. E., Ricciolini C., Gigliarelli L., Fontaneto D., Lanfaloni L., Bilo F., Natali M., Panara F. Molecular and phenotypic evidence of a new species of genus *Esox* (Esocidae, Esociformes, Actinopterygii): the southern pike, *Esox flaviae*. URL: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0025218/> (дата обращения: 12.09.2017).

12. *Bochkarev N. A., Zuykova E. I., Katokhin A. V.* Morphology and mitochondrial DNA variation of the Siberian whitefish *Coregonus lavaretus pidschian* (Gmelin) in the upstream water bodies of the Ob and Yenisei Rivers // *Evol. Ecol.* 2011. Vol. 25. P. 557–572.
13. *Nicod J.-C., Wang Y. Z., Excoffier L., Largiader C. R.* Low levels of mitochondrial DNA variation among central and southern European *Esox lucius* populations. URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.0022-1112.2004.00397.x/> (дата обращения: 27.08.2017).
14. *Tamura K., Stecher G., Peterson D., Kumar S.* MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // *Mol. Biol. Evol.* 2013. Vol. 30. P. 2725–2729.
15. *Librado P., Rozas J.* DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // *Bioinformatics.* 2009. Vol. 25. P. 1451–1452.
16. *Bandelt H.-J., Forster P., Röhl A.* Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biol. Evol.* 1999. Vol. 16 (1). P. 37–48.
17. *Brzuzan P., Luczynski M., Kuzniar P. A.* Mitochondrial DNA variation in two samples of northern pike, *Esox lucius* L. URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2109.1998.00242.x/> (дата обращения: 2.09.2017).
18. *Maes G. E., Van Houdt K. J., Charleroy D., Volckaert F. A. M.* Indications for a recent Holarctic expansion of pike based on a preliminary study of mtDNA variation. URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1095-8649.2003.00140.x/> (дата обращения: 6.09.2017).

Статья поступила в редакцию 31.10.2017

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Никулина Юлия Сергеевна – Россия, 634050, Томск; Национальный исследовательский Томский государственный университет; аспирант кафедры ихтиологии и гидробиологии; julianikulina0506@gmail.com.

Боровикова Елена Александровна – Россия, 152742, Ярославская обл., Некоузский р-н, п. Борок; Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанова Российской академии наук; канд. биол. наук; научный сотрудник лаборатории экологии рыб; elena.ibiw@gmail.com.

Носков Юрий Александрович – Россия, 634050, Томск; Национальный исследовательский Томский государственный университет; канд. биол. наук, доцент; доцент кафедры ихтиологии и гидробиологии; yunoskov@gmail.com.

Туманов Максим Дмитриевич – Россия, 167000, Сыктывкар; научно-производственный кооператив «Изыскания Мониторинг Кадастр»; канд. биол. наук; инженер-эколог; mdtumanov@mail.ru.



Y. S. Nikulina, E. A. Borovikova, Y. A. Noskov, M. D. Tumanov

GENETIC POLYMORPHISM OF THE NORTHERN PIKE *ESOX LUCIUS* L. IN CONDITIONS OF OIL POLLUTION

Abstract. The paper describes the results of the unique analysis of nucleotide sequences of two fragments of the mitochondrial DNA (mtDNA): cytochrome *c*-oxidase subunit 1 gene fragment (Co-1) and a control region fragment (D-loop) for Northern pike *Esox lucius* from Shchuchye (No. 1-3) and Bezymyanoye lakes (the Republic of Komi). Lake district Shchuch'ye was exposed to oil pollution. Bezymyanoye lake is in better situation, that is why it is taken as a control water body without oil pollution, along with literature data and information from the GenBank (NCBI). The populations studied are characterized by a low level of genetic polymorphism, which is higher than in the lake pike of Poland, according to the literature data. For each mtDNA fragment taken for analysis there were described two haplotypes; one of the variants of a D-loop was unique. Phylogeographic analyses was performed using practical data and information of the GenBank (NCBI)

for Co-1 and D-loop of pike. The results for Co-1 sequences were more interesting. Three groups of Co-1 haplotypes were revealed with definite geographic distribution. The first group combines haplotypes from Greece, Turkey, Macedonia (south phylogenetic group). The second group includes the sequence variants of the *E. lucius* from Central Europe, and the third – the variants found in the water bodies of Northern Europe (the Scandinavian Peninsula) and haplotypes of the pike populations of lakes in the Komi Republic (northern phylogenetic line). Thus, the Komi populations are more close relation with Northern pike from the North of Europe, which shows close relationship of *E. lucius* to the populations in the North Europe. The mean value of the *p*-distances for the control region and Co-1 of mtDNA fragment between sequences of pike from the lakes of the Komi Republic and the Northern European water bodies made 0.5% and 0.3%, respectively. Differences in the level of polymorphism between samples from lakes with oil pollution and sound reservoirs at this stage of the study haven't been revealed.

Key words: pike, mitochondrial DNA, Komi Republic, phylogenetic.

REFERENCES

1. Popov P. A. *Otsenka ekologicheskogo sostoiianiia vodoemov metodami ikhtioindikatsii* [Assessment of the ecological state of water bodies by methods of ichthyolysis]. Novosibirsk, Izd-vo NGU, 2002. 270 p.
2. Moiseenko T. I. *Vodnaia ekotoksikologiya teoreticheskie i prikladnye aspekty* [Water ecotoxicology theoretical and applied aspects]. Moscow, Nauka Publ., 2009. 400 p.
3. Luk'ianenko V. I., Cherkashin S. A. Ikhtiologicheskii monitoring – vazhneishii instrument otsenki kachestva vodnoi sredy [Ichthyological monitoring is the most important tool for assessing the quality of the aquatic environment]. *Metody ikhtiotoksikologicheskikh issledovaniy: tezisy doklada. 1-go Vsesoiuznogo simpoziuma po metodam ikhtiotoksikologicheskikh issledovaniy*. Leningrad, 1987. P. 91-93.
4. *Monitoring rybnogo naseleniia ozera Shchuch'e (Usinskii raion Respubliki Komi)* [Monitoring of fish population of Shchuch'ye lake) Usinsk region, Komi Republic] Otchet po kh/d № 8-I-2003. Institut biologii Komi NTs UrO RAN. Syktyvkar, 2003. 10 p.
5. Tumanov M. D., Vorob'ev D. S., Martynov V. G. *Sigovye ryby nizhnego techeniia reki Usy v usloviakh tekhnogennoho zagriazneniia* [Cisco fishes of the lower reaches of the Usa River in conditions of technogenic pollution]. Pod redaktsiei V. I. Romanova. Tomsk, Izd-vo Tomskogo universiteta, 2013. 212 p.
6. Lushnikov S. V., Vorob'ev D. S., Fadeev V. N. Eksperimental'nye raboty po ochildke donnykh otlozhenii i vody ozera Shchuch'e zagriaznennykh v rezul'tate avariinykh razlivov nefi (Usinskii raion, Respublika Komi) [Experimental works on cleaning bottom sediments and waters of Shchuchye lake contaminated by oil spills (Usinsky district, Komi Republic)]. *Ekologicheskoe raboty na mestorozhdeniakh nefi Timano-Pechorskoii provintsii. Sostoiianie i perspektivy: materialy III nauchno-prakticheskoi konferentsii (g. Ukhta)*. Syktyvkar, 2004. P. 139-142.
7. Noskov Iu. A., Vorob'ev D. S., Tumanov M. D., Nikulina Iu. S., Lim A. Effektivnost' tekhnologii ochildki donnykh otlozhenii ot nefi [Efficiency of the technology of bottom sediment removal from oil]. *Biotekhnologiya: sostoiianie i perspektivy razvitiia: materialy IX Mezhdunarodnogo kongressa (Moskva, 20–22 fevralia 2017 g.)*. Moscow, OOO «Russkie Ekspo Dni Grupp», 2017. Vol. 1. P. 471-473.
8. *Otsenka ekologicheskogo sostoiianiia ozera Shchuch'e № 1 (Usinskii raion, Respublika Komi) po rezul'tatam realizatsii proekta ochildki donnykh otlozhenii i vody v 2004–2005 gg.* [Assessment of the ecological situation of Shchuch'ye lake (Usinsk region, Komi Republic), according to the results of the project of cleaning bed sediments and waters in 2004-2005]. Otchet po kh/d. Tomsk, 2006. 72 p.
9. Pravdin I. F. *Rukovodstvo po izucheniiu ryb* [Instructions on fish study]. Moscow, Pishchevaia promyshlennost' Publ., 1966. 376 p.
10. Chugunova N. I. *Rukovodstvo po izucheniiu vozrasta i rosta ryb* [A guide to studying the age and growth of fish]. Moscow, Izd-vo AN SSSR, 1959. 162 p.
11. Lucentini L., Puletti M. E., Ricciolini C., Gigliarelli L., Fontaneto D., Lanfaloni L., Bilo F., Natali M., Panara F. *Molecular and phenotypic evidence of a new species of genus Esox (Esocidae, Esociformes, Actinopterygii): the southern pike, Esox flaviae*. Available at: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0025218> (accessed: 12.09.2017).
12. Bochkarev N. A., Zuykova E. I., Katokhin A. V. Morphology and mitochondrial DNA variation of the Siberian whitefish *Coregonus lavaretus pidschian* (Gmelin) in the upstream water bodies of the Ob and Yenisei Rivers. *Evol. Ecol.*, 2011, vol. 25, pp. 557-572.
13. Nicod J.-C., Wang Y. Z., Excoffier L., Largiadere C. R. *Low levels of mitochondrial DNA variation among central and southern European Esox lucius populations*. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.0022-1112.2004.00397.kh/> (accessed: 27.08.2017).
14. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 2013, vol. 30, pp. 2725-2729.

15. Librado P., Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 2009, vol. 25, pp. 1451-1452.
16. Bandelt H.-J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.*, 1999, vol. 16 (1), pp. 37-48.
17. Brzuzan P., Luczynski M., Kuzniar P. A. *Mitochondrial DNA variation in two samples of northern pike, *Esox lucius* L.* Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2109.1998.00242.x/> (accessed: 2.09.2017).
18. Maes G. E., Van Houdt K. J., Charleroy D., Volckaert F. A. M. *Indications for a recent Holarctic expansion of pike based on a preliminary study of mtDNA variation.* Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1095-8649.2003.00140.x/> (accessed: 6.09.2017).

The article submitted to the editors 31.10.2017

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nikulina Yulia Sergeevna – Russia, 634050, Tomsk; National Research Tomsk State University; Postgraduate Student of the Department of Ichthyology and Hydrobiology; julianikulina0506@gmail.com.

Borovikova Elena Alexandrovna – Russia, 152742; Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences; Candidate of Biology; Researcher of the Laboratory of Fish Ecology; elena.biw@gmail.com.

Noskov Yuri Alexandrovich – Russia, 634050, Tomsk; National Research Tomsk State University; Candidate of Biology, Assistant Professor; Assistant Professor of the Department of Ichthyology and Hydrobiology; yunoskov@gmail.com.

Tumanov Maxim Dmitrievich – Russia, 167000, Syktyvkar; Scientific-Production Cooperative "Researches Monitoring Inventory"; Candidate of Biology; Engineer-Ecologist; mdu-tumanov@mail.ru.

