



Оригинальная статья / Original article

УДК 57.08:[591.133.3:597]

DOI: 10.18470/1992-1098-2019-1-150-158

ПРОБЛЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ СПЕКТРОВ РЫБ

¹Елена В. Дзюба, ¹Илья Г. Кондратов, ¹Сергей В. Кирильчик,

¹Игорь В. Ханаев, ¹Наталья Н. Деникина*, ¹Иван А. Небесных,

¹Бахтияр Э. Богданов, ²Владимир А. Полюнов, ¹Нина В. Кулакова

¹Димнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук,
Иркутск, Россия, denikina@lin.irk.ru

²Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

Резюме. Целью являлась апробация молекулярно-генетических методов анализа содержимого желудков рыб на примере малоглазой широколобки *Abyssocottus korotneffi* Berg, 1906. **Методы.** Сбор проб осуществляли с борта научно-исследовательского судна «Г.Ю. Верещагин» в августе 2017 г. в северной котловине озера Байкал. Для исследования питания рыб проводили отработку выделения ДНК и подбор условий проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР). Фрагмент гена CO1 амплифицировали из суммарной ДНК, выделенной из содержимого желудков рыб. Состав кормовых организмов исследовали на основании анализа нуклеотидных последовательностей, клонированных в плазмидный вектор pJET. **Результаты.** В составе пищи рыб детектирован один вид амфипод наиболее близкий к *Odontogammarus calcaratus* Dybowsky, 1874. Кроме этого, в исследованных образцах обнаружены последовательности рогатковидных рыб. До настоящего времени сведения о наличии рыб в пищевом спектре этого вида отсутствовали. **Выводы.** Основной проблемой использования молекулярно-генетических методов в исследовании пищевых спектров рыб является недостаточная представленность ваучерных последовательностей гена CO1 байкальских организмов в базах данных генетической информации. Несмотря на перспективность использования анализа гена CO1 для изучения спектров питания рыб, разрешающая способность этого гена не позволяет проводить дифференциацию между особями одного вида.

Ключевые слова: молекулярно-генетические методы, CO1, содержимое желудков, пищевые спектры, *Abyssocottus korotneffi*, озеро Байкал.

Формат цитирования: Дзюба Е.В., Кондратов И.Г., Кирильчик С.В., Ханаев И.В., Деникина Н.Н., Небесных И.А., Богданов Б.Э., Полюнов В.А., Кулакова Н.В. Проблемы использования молекулярно-генетических методов для исследования пищевых спектров рыб // Юг России: экология, развитие. 2019. Т.14, N1. С.150-158. DOI: 10.18470/1992-1098-2019-1-150-158

PROBLEMS OF USING MOLECULAR-GENETIC METHODS FOR THE STUDY OF FISH FEEDING

¹Elena V. Dzyuba, ¹Ilya G. Kondratov, ¹Sergei V. Kirilchik, ¹Igor V. Khanaev,

¹Natalia N. Denikina*, ¹Ivan A. Nebesnykh, ¹Bakhtiar E. Bogdanov,

²Vladimir A. Polynov, ¹Nina V. Kulakova



¹*Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
Irkutsk, Russia, denikina@lin.irk.ru*

²*Irkutsk State University, Irkutsk, Russia*

Abstract. The *aim* of the study was an approbation of molecular-genetic methods for an analysis of contents of fish stomachs of *Abyssocottus korotneffi* Berg, 1906, as an example. **Methods.** Sampling carried out at the board of the research vessel «G.Yu. Vereshchagin» in August 2017 in the northern basin of Lake Baikal. To study a fish feeding, testing of a DNA extraction methods and PCR conditions was performed. A fragments of the CO1 gene were amplified from total DNA isolated from the contents of the fish stomachs. The composition of food was studied based on the analysis of nucleotide sequences cloned into the plasmid pJET vector. **Results.** One species of amphipods closest to *Odontogammarus calculator* Dybowsky, 1874 was detected in fish food. In addition, sequences of cottoid fish were found in the studied samples. To date, information about a presence of fish in the food spectrum of this species was absent. **Conclusions.** The main problem of using molecular-genetic methods in studies of fish food spectrum is not enough number of data of voucher sequences of the CO1 gene of Baikal organisms in the genetic databases. Despite on advantages of analysis of the CO1 gene in studies of fish food feeding, this approach does not allow to distinguish between organisms of the same species.

Keywords: molecular genetic methods, CO1, contents of the stomachs, fish feeding, *Abyssocottus korotneffi*, Lake Baikal.

For citation: Dzyuba E.V., Kondratov I.G., Kirilchik S.V., Khanaev I.V., Denikina N.N., Nebesnykh I.A., Bogdanov B.E., Polynov V.A., Kulakova N.V. Problems of using molecular-genetic methods for the study of fish feeding. *South of Russia: ecology, development*. 2019, vol. 14, no. 1, pp. 150-158. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2019-1-150-158

ВВЕДЕНИЕ

Анализ содержимого желудков является необходимой частью исследований, посвященных вопросам экологии рыб. Несмотря на большое разнообразие существующих подходов и методов исследования питания рыб, они продолжают активно развиваться и совершенствоваться [1-3]. Молекулярно-генетические методы исследования содержимого желудков успешно применяются для идентификации кормовых объектов рыб [4-6], в том числе и байкальских [7]. Использование этого инструмента особенно актуально при анализе сильно переваренных кормовых объектов, икры рыб, коконов беспозвоночных животных и др. Преимущество молекулярно-генетического подхода заключается в анализе коротких фрагментов ДНК, присутствующих в содержимом желудочно-кишечного тракта рыб, даже при отсутствии материала, пригодного для идентификации по морфологическим признакам. Питание представителя байкальского эндемичного семейства *Abyssocottidae* – малоглазой широколобки *Abyssocottus korotneffi* Berg, 1906 (рис. 1) до настоящего времени остается малоизученным [8; 9].

Малоглазая широколобка распространена по всему Байкалу, однако является малочисленным видом [8]. Кроме этого, определенные сложности в исследовании питания этого вида вызваны тем, что при подъеме рыб с больших глубин у них часто происходит выбрасывание пищи из желудка, а у рыб, в желудках которых она сохраняется, затруднена идентификация кормовых объектов из-за её сильной переваренности. В связи с этим использование молекулярно-генетических методов исследования питания рыб позволит существенно расширить наши знания об их экологии и трофических предпочтениях.



Рис.1. Малоглазая широколобка *Abyssocottus korotneffi* Berg, 1906
Fig.1. *Abyssocottus korotneffi* Berg, 1906

Целью исследования являлась апробация молекулярно-генетических методов анализа содержимого желудков рыб на примере малоглазой широколобки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Отлов рыб осуществляли салазочным бим-тралом с борта научно-исследовательского судна «Г.Ю. Верещагин» 3 августа 2017 г. в северной котловине озера Байкал, южнее бухты Сосновка, напротив мыса Разбор, с глубин 560-620 м. Из пяти отловленных особей длиной от 112 до 115 мм, только у двух желудки содержали пищу. Непосредственно после отлова рыб отбирали содержимое желудков. Отбор проб проводили в стерильных условиях, необходимых для молекулярно-генетического анализа пищевого спектра рыб. Для сравнения целевых последовательностей ДНК исследуемых особей и рыб – предположительных кормовых объектов, у всех пяти экземпляров были взяты образцы головного мозга.

Отбор проб и выделение ДНК. К содержимому желудков рыб добавляли равный объем стерильной деионизированной воды и тщательно суспендировали. Образцы головного мозга использовали для выделения ДНК без дополнительной обработки. Суммарную ДНК выделяли с применением коммерческого набора ДНК-сорб В (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) согласно протоколу производителя. ДНК растворяли в ТЕ буфере. Оценку качества выделенной ДНК проводили с помощью электрофореза в геле 1% агарозы. Количество ДНК измеряли с помощью спектрофотометра NanoVue (GE Healthcare).

Определение и анализ нуклеотидных последовательностей. Для отработки ПЦР использовали две пары праймеров, амплифицирующих фрагменты гена CO1 митохондриальной ДНК. К универсальному праймеру LCO1490 5'-ggcacaacaatcataaagatattgg [10] разработали и синтезировали обратный праймер CO1r200 5'-carttncraahcchccratyat для амплификации более короткого фрагмента CO1 длиной 200 нуклеотидов для широкого спектра таксонов. Праймеры mlCO1intF 5'-ggwacwggwtgaacwgtwtayccysc [11] и jgHCO2198R 5'-taiacytciggrtgicccraaraayca [12] инициировали синтез ампликона длиной 313 нуклеотидов. ПЦР проводили в 15 мкл реакционной смеси, содержащей 1U Tersus полимеразы (ЗАО Евроген), 1 x ПЦР буфер, 2 mM MgCl₂, 0,2 mM каждого dNTP, 10 pmol прямого и обратного праймеров и 20-40 нг ДНК. ПЦР проводили на амплификаторе Bio-RadT100. Режим амплификации: денатурация – 95°C (3 мин); циклирование – 95°C (30 сек), 63-45°C (30 сек), с понижением температуры отжига на 1°C за каждый цикл, 72°C (40 сек), 18 циклов; 95°C (30 сек), 45°C (30 сек), 72°C (40 сек), 10 циклов; 72°C – 10 мин. Каждый образец амплифицировали в 3-х повторностях, ампликоны объединяли для анализа. Амплифицированные фрагменты визуализировали при освещении УФ светом окрашенного бромистым этидием геля 1% агарозы после проведения горизонтального электрофореза. Ампликоны вырезали из геля, очищали с помощью замораживания и центрифугирования при 10000 об/мин. по 20 минут и клонировали в плазмидном векторе pJET 1.2 (Fermentas). Клоны анализировали в ПЦР с помощью универсальных праймеров: 5'-cgactcactatagggagagcggc и 5'-aagaacatcgatttccatggcag. Нуклеотидные последовательно-



сти полученных фрагментов ДНК ожидаемой длины определяли прямым секвенированием с помощью набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit на генетическом анализаторе 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific) по протоколу производителя. Полученные последовательности фрагмента гена CO1 анализировали путем поиска ближайших гомологов в программе Blast (NCBI). Выбор филогенетической модели проводили с использованием программы jmodeltest 3.7, построение филогенетического дерева амфипод проводили с помощью алгоритма максимального правдоподобия (ML), модель T92 + G, в программе MEGAX с 1000 бутстреп-реплик.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ ДНК, выделенной из содержимого желудков рыб, показал, что размер фрагментов ДНК составляет 150-350 нуклеотидов. ДНК большего размера, до 600 нуклеотидов, представлена в следовых количествах. Выявленная деградация характерна для ДНК, выделенной из желудочно-кишечного тракта, и соответствовала ожидаемым результатам. Исходя из полученного размера фрагментов ДНК, для отработки ПЦР использовали две пары праймеров, амплифицирующих фрагменты гена CO1. При их сравнении для анализа ДНК из содержимого желудков рыб и из головного мозга рыбы-хозяина, пара праймеров LCO1490/ CO1r200 более эффективно срабатывала с ДНК рыбы-хозяина и не была использована в дальнейшем анализе.

С помощью пары праймеров mlCO1intF/jgHCO2198R были успешно амплифицированы фрагменты гена CO1 размером около 320 п.н. В результате молекулярно-генетического анализа содержимого желудков малоглазой широколобки получено 47 нуклеотидных последовательностей гена CO1, принадлежащих амфиподам (13) и рыбам (34). Последовательности амфипод были обнаружены в желудках обеих рыб. Поиск ближайших гомологов в базе данных нуклеотидных последовательностей GenBank (NCBI) показал отдаленное родство (85% нуклеотидного сходства) с *Odontogammarus calcaratus* (FJ756341). Все полученные последовательности ДНК амфипод были близкородственными, доля нуклеотидных различий варьировала от 0 до 1%. Учитывая генетические дистанции по гену CO1 между другими видами амфипод [13], последовательности из желудков рыб принадлежат одному виду амфипод. Результаты анализа филогенетических взаимоотношений указывают на значительную вероятность принадлежности детектированных амфипод к роду *Odontogammarus* (рис. 2). Отсутствие последовательностей близкородственных организмов в базах данных не позволяет провести более точную видовую идентификацию, что свидетельствует о недостаточной изученности фауны оз. Байкал с позиций молекулярной генетики.

Питание малоглазой широколобки до настоящего времени остается малоизученным [8; 9]. В работе Д.Н. Талиева [8] представлены результаты исследования содержимого желудков трех экземпляров малоглазой широколобки, пойманных на глубине 1000 м в районе пос. Лиственичное. Отмечены сильная переваренность кормовых объектов (амфипод) и наличие одного вида – *Macropereiopus flori* Dybowsky, 1874. В 1990 г. были опубликованы результаты исследования состава пищи 24 экз. малоглазой широколобки и показано, что содержимое желудков рыб включало в себя детрит и пять видов нектобентических амфипод: *Paragarjajewia petersii* Dybowsky, 1874, *Sentogammarus zienkowiczi* Dybowsky, 1874 (= *Plesiogammarus zienkowiczi*), *Garjaewia cabanisii* Dybowsky, 1874, *Brachyuropus grewingkii* Dybowsky, 1874 (= *Acanthogammarus grewingki*) и *Odontogammarus margaritaceus* Dybowsky, 1874 [9]. Таким образом, амфиподы рода *Odontogammarus* ранее отмечались в пищевом спектре малоглазой широколобки [9]. Однако, поскольку данные о нуклеотидных последовательностях этого рода амфипод в международных базах представлены только для *O. calcaratus*, мы не можем утверждать, что детектированные в нашем исследовании последовательности принадлежат именно этому виду.

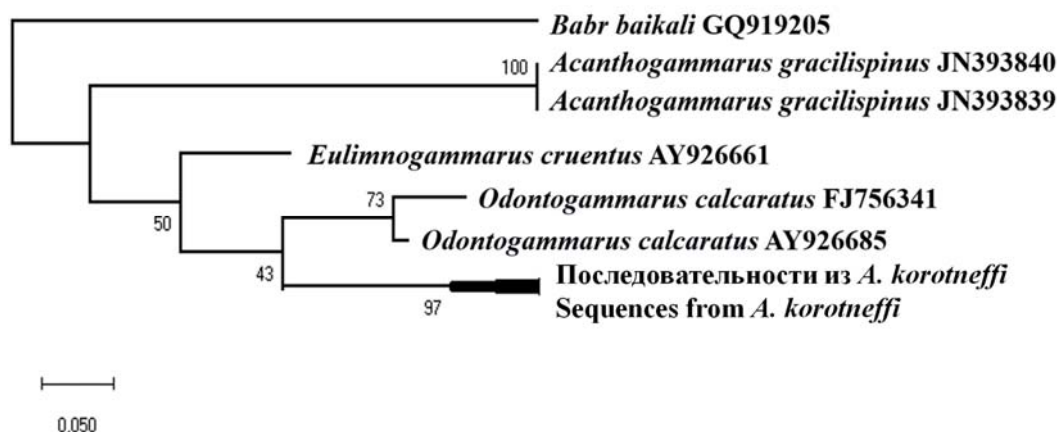


Рис.2. Филогенетическое древо на основании анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена CO1 амфипод длиной 184 п.н., полученных из содержимого желудков. Шкала показывает количество нуклеотидных замен на сайт

Fig.2. The phylogenetic tree is based on the analysis of the CO1 gene sequences derived from fish stomachs. The length of analysed fragment was 184 nucleotides. The scale below the figure indicate the number of nucleotide substitutions per site

Сведения о наличии рыб в пищевом спектре малоглазой широколобки до настоящего времени отсутствовали. В результате проведенных нами исследований в содержимом желудков, кроме последовательностей амфипод, детектированы последовательности рогатковидных рыб. Ранее на основании формы зубов было сделано предположение о том, что малоглазая широколобка является довольно хищной формой [8]. Кроме этого, было отмечено, что основу рыбного рациона абиссальных видов составляют голомянки и донные Abyssocottidae, преимущественно рода *Limnocottus* [9]. Случаи каннибализма часто отмечаются у пресноводных рыб [14; 15]. Для проверки предположения о каннибализме малоглазой широколобки было проведено сравнение полученных из желудков последовательностей с последовательностями клонов ДНК головного мозга рыб. Выяснилось, что фрагмент CO1 ДНК, выделенной из кишечника (ДНКк), идентичен нуклеотидным последовательностям хозяина. Таким образом, несмотря на перспективность использования анализа гена CO1 для изучения спектров питания рыб, разрешающая способность этого гена не позволяет проводить дифференциацию между особями одного вида.

ВЫВОДЫ

Определение спектра питания рыб осуществляется при сравнительном анализе нуклеотидных последовательностей с имеющимися последовательностями в генетических базах данных, например в GenBank (NCBI). Такой подход позволяет не только определить спектр питания рыб в целом, но и получить данные о видовой и популяционной принадлежности кормовых организмов. В связи с необходимостью аннотировать нуклеотидные последовательности к имеющимся в базах данных, существенным является выбор молекулярного маркера. Для разных групп организмов представленность наиболее исследованных генных регионов – 18SpДНК, ITS2, CO1 и др. в базах данных генетической информации различается. Кроме того, недостаточная разрешающая способность маркера (в ряде случаев ген 18SpРНК) также может ограничивать его применение. Анализ исследований с использованием различных маркеров показал, что ген CO1 может быть успешно применен для скрининга спектра питания рыб, кроме того для этого гена разработаны универсальные праймеры, в том числе адаптированные для платформ секвенирования



нового поколения, позволяющие амплифицировать широкий спектр организмов. Для применения молекулярной идентификации при анализе питания важным является тот факт, что анализируемая ДНК подвержена сильной деградации в желудочно-кишечном тракте, кроме того, велика вероятность амплификации ДНК рыбы-хозяина, что требует отработки методик и подбора условий для проведения анализа. Таким образом, несмотря на успешное использование молекулярного анализа для исследования питания малоизученных животных, эффективность этого метода для байкальских глубоководных рыб требовала дополнительной оценки. Анализ питания малоглазой широколобкой показал возможность использования молекулярно-генетической идентификации последовательностей фрагмента гена CO1 в содержимом желудков рыб для исследования их пищевых спектров. В составе пищевого кома рыб детектированы последовательности амфипод рода *Odontogammarus* и рогатковидных рыб. Установлено, что основной проблемой использования молекулярно-генетических методов в исследовании пищевых спектров рыб является недостаточная представленность ваучерных последовательностей гена CO1 байкальских организмов в базах данных генетической информации. Широко распространенный каннибализм среди рыб также представляет серьезные затруднения в использовании фрагментов ДНК традиционных для баркодирования видов. Таким образом, анализ спектров питания рыб молекулярно-генетическими методами должен включать в себя традиционное определение кормовых объектов с использованием микроскопии.

Благодарность: Работа выполнена в рамках государственного задания (темы № 0345–2019–0004 и № 0345–2019–0002).

Acknowledgment: This research was supported by the State Projects (No. 0345–2019–0004, 0345–2019–0002).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Решетников Ю.С., Попова О.А. О методиках полевых ихтиологических исследований и точности полученных результатов // Труды ВНИРО: Водные биологические ресурсы. 2015. Т. 156. С. 114–131.
2. Saikia S.K. On the methodology of feeding ecology in fish // European Journal of Ecology. 2016. V. 2. Iss. 1. P. 35–46. Doi: 10.1515/eje-2016-0004
3. Buckland A., Baker R., Loneragan N., Sheaves M. Standardising fish stomach content analysis: the importance of prey condition // Fisheries Research. 2017. V. 196. P. 126–140. Doi: 10.1016/j.fishres.2017.08.003
4. Symondson W.O.C. Molecular identification of prey in predator diets // Molecular Ecology. 2002. V. 11. N 4. P. 627–641. Doi: 10.1046/j.1365-294X.2002.01471.x
5. Carreon-Martinez L., Johnson T.B., Ludsins S.A., Heath D.D. Utilization of stomach content DNA to determine diet diversity in piscivorous fishes // Journal of Fish Biology. 2011. V. 78. Iss. 4. P. 1170–1182. Doi: 10.1111/j.1095-8649.2011.02925.x
6. Harms-Tuohy C.A., Schizas N.V., Appeldoorn R.S. Use of DNA metabarcoding for stomach content analysis in the invasive lionfish *Pterois volitans* in Puerto Rico // Marine Ecology Progress Series. 2016. V. 558. P. 181–191. Doi: 10.3354/meps11738
7. Kuznedelov K.D., Dziuba E.V. The determination of the species classification of Baikal planarian cocoons found in the stomach of the black grayling (*Thymallus arcticus baicalensis*) by a comparative analysis of the nucleotide sequences of the ribosomal RNA gene // Journal of General Biology. 1999. V. 60. N 4. P. 445–450.
8. Талиев Д.Н. Бычки-подкаменщики Байкала / Ред. Д.В. Наливкин. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1955. 603 с.



9. Сиделева В.Г., Механикова И.В. Пищевая специализация и эволюция керчаковых рыб (Cottoidei) озера Байкал // Труды Зоологического Института АН ССР. 1990. Т. 222. С. 144-161.
10. Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates // *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 1994. V. 3. Iss. 5. P. 294-299.
11. Leray M., Yang J.Y., Meyer C.P., Mills S.C., Agudelo N., Ranwez V., Boehm J.T., Machida R.J. A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents // *Frontiers in Zoology*. 2013. V. 10. Iss. 34. P. 1-14. Doi: 10.1186/1742-9994-10-34
12. Geller J., Meyer C., Parker M., Hawk H. Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys // *Molecular Ecology Resources*. 2013. V. 13. Iss. 5. P. 851-861. Doi: 10.1111/1755-0998.12138
13. Гоманенко Г.В., Камалтынов Р.М., Кузьменкова Ж.В., Беренос К., Щербачев Д.Ю. Популяционная структура байкальского бокоплава *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing) // *Генетика*. 2005. Т. 41. N 8. С. 1108-1114. Doi: 10.1007/s11177-005-0179-5
14. Pereira L.S., Keppeler F.W., Agostinho A.A., Winemiller K.O. Is there a relationship between fish cannibalism and latitude or species richness? // *PLoS One*. 2017. V. 12. Iss. 1. e0169813. Doi: 10.1371/journal.pone.0169813
15. Pereira L.S., Agostinho A.A., Winemiller K.O. Revisiting cannibalism in fishes // *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 2017. V. 27. P. 499-513. Doi: 10.1007/s11160-017-9469-y

REFERENCES

1. Reshetnikov Yu.S., Popova O.A. About Field Ichthyological Methods and Errors in Our Conclusions. *Trudy VNIRO: Vodnye biologicheskie resursy* [Trudy VNIRO: Aquatic Biological Resources]. 2015, vol. 156, pp. 114-131. (In Russian)
2. Saikia S.K. On the methodology of feeding ecology in fish. *European Journal of Ecology*, 2016, vol. 2, iss. 1, pp. 35-46. DOI: 10.1515/eje-2016-0004
3. Buckland A., Baker R., Loneragan N., Sheaves M. Standardising fish stomach content analysis: the importance of prey condition. *Fisheries Research*, 2017, vol. 196, pp. 126-140. Doi: 10.1016/j.fishres.2017.08.003
4. Symondson W.O.C. Molecular identification of prey in predator diets. *Molecular Ecology*, 2002, vol. 11, no. 4, pp. 627-641. Doi: 10.1046/j.1365-294X.2002.01471.x
5. Carreon-Martinez L., Johnson T.B., Ludsins S.A., Heath D.D. Utilization of stomach content DNA to determine diet diversity in piscivorous fishes. *Journal of Fish Biology*, 2011, vol. 78, iss. 4, pp. 1170-1182. Doi: 10.1111/j.1095-8649.2011.02925.x
6. Harms-Tuohy C.A., Schizas N.V., Appeldoorn R.S. Use of DNA metabarcoding for stomach content analysis in the invasive lionfish *Pterois volitans* in Puerto Rico. *Marine Ecology Progress Series*, 2016, vol. 558, pp. 181-191. Doi: 10.3354/meps11738
7. Kuznedelov K.D., Dziuba E.V. The determination of the species classification of Baikal planarian cocoons found in the stomach of the black grayling (*Thymallus arcticus baicalensis*) by a comparative analysis of the nucleotide sequences of the ribosomal RNA gene. *Journal of General Biology*, 1999, vol. 60, no. 4, pp. 445-450.
8. Taliev D.N. *Bychki-podkamenshchiki Baikala* [Bychki-podkamenshchiki Baikala (Cottoidei of Lake Baikal)]. Moscow, Leningrad, USSR Academy of Sciences Publ., 1955, 603 p. (In Russian)
9. Sideleva V.G., Mechanikova I.V. Feeding preference and evolution of the Cottoid of the Lake Baikal. *Trudy Zoologicheskogo Instituta AN SSR* [Proceedings of the Zoological Institute]. 1990, vol. 222, pp. 144-161. (In Russian)



10. Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, vol. 3, iss. 5, pp. 294-299.
11. Leray M., Yang J.Y., Meyer C.P., Mills S.C., Agudelo N., Ranwez V., Boehm J.T., Machida R.J. A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. *Frontiers in Zoology*, 2013, vol. 10, iss. 34, pp. 1-14. Doi: 10.1186/1742-9994-10-34
12. Geller J., Meyer C., Parker M., Hawk H. Redesign of PCR primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. *Molecular Ecology Resources*, 2013, vol. 13, no. 5, pp. 851-861. Doi: 10.1111/1755-0998.12138
13. Gomanenko G.V., Kamaltynov R.M., Kuzmenkova Zh.V., Sherbakov D.Yu., Bêrênos K. Population structure of the Baikalian amphipod *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing). *Russian Journal of Genetics*, 2005, vol. 41, no. 8, pp. 907-912. Doi: 10.1007/s11177-005-0179-5
14. Pereira L.S., Keppeler F.W., Agostinho A.A., Winemiller K.O. Is there a relationship between fish cannibalism and latitude or species richness? *PLoS One*, 2017, vol. 12, iss. 1, e0169813. Doi: 10.1371/journal.pone.0169813
15. Pereira L.S., Agostinho A.A., Winemiller K.O. Revisiting cannibalism in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2017, vol. 27, pp. 499-513. Doi: 10.1007/s11160-017-9469-y

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Елена В. Дзюба, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией ихтиологии, Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск, Россия.

Илья Г. Кондратов, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории аналитической биоорганической химии, Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск, Россия.

Сергей В. Кирилчик, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории ихтиологии, Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск, Россия.

Игорь В. Ханаев, старший научный сотрудник лаборатории ихтиологии, Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск, Россия.

Наталья Н. Деникина*, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории аналитической биоорганической химии, Лимнологический институт

AUTHOR INFORMATION

Affiliations

Yelena V. Dzyuba, Ph.D., Head of Laboratory of Ichthyology, Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia.

Ilya G. Kondratov, Ph.D., Leading Researcher Laboratory of Analytical and Bioorganic Chemistry, Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia.

Sergei V. Kirilchik, Ph.D., Senior Researcher Laboratory of Ichthyology, Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia.

Igor V. Khanaev, Senior Researcher Laboratory of Ichthyology, Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia.

Natalia N. Denikina*, Ph.D., Senior Researcher Laboratory of Analytical and Bioorganic Chemistry, Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,



Сибирского отделения Российской академии наук; ул. Улан-Баторская, 3, а/я 278, г. Иркутск, 664033, Россия; тел. +7(3952)422695, e-mail: denikina@lin.irk.ru

Иван А. Небесных, кандидат биологических наук, ведущий инженер лаборатории ихтиологии, Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск, Россия.

Бахтиар Э. Богданов, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории ихтиологии, Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск, Россия.

Владимир А. Полюнов, кандидат биологических наук, доцент, Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Россия.

Нина В. Кулакова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории геносистематики, Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск, Россия.

Критерии авторства

Елена В. Дзюба проводила сводный анализ полученных результатов и литературы по теме исследования. Игорь В. Ханаев, Иван А. Небесных и Владимир А. Полюнов отлавливали рыб для анализа. Бахтиар Э. Богданов определял виды рыб. Илья Г. Кондратов, Сергей В. Кирильчик, Наталья Н. Деникина и Нина В. Кулакова проводили молекулярно-генетический анализ. Елена В. Дзюба, Наталья Н. Деникина и Нина В. Кулакова корректировали рукопись до подачи в редакцию. Все авторы в равной степени участвовали в этой работе. Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат и самоплагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 03.12.2018

Принята в печать 24.12.2018

Ulan-Batorskaya 3, Irkutsk 664033, Russia; tel. +7(3952)422695, e-mail: denikina@lin.irk.ru

Ivan A. Nebesnykh, Ph.D., Lead Engineer Laboratory of Ichthyology, Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia.

Bakhtiar E. Bogdanov, Ph.D., Researcher Laboratory of Ichthyology, Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia.

Vladimir A. Polynov, Ph.D., Associate Professor of Irkutsk State University, Irkutsk, Russia.

Nina V. Kulakova, Ph.D., Senior Researcher Laboratory of Genosystematics, Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia.

Contribution

Yelena V. Dzyuba conducted a consolidated analysis of collected data and previous research. Igor V. Khanaev, Ivan A. Nebesnykh and Vladimir A. Polynov caught fish for analysis. Bakhtiar E. Bogdanov specified fish species. Ilya G. Kondratov, Sergei V. Kirilchik, Natalia N. Denikina and Nina V. Kulakova performed molecular genetic analysis. Yelena V. Dzyuba, Natalia N. Denikina and Nina V. Kulakova corrected the manuscript prior to submission to the editor. All authors have been equally involved in this research. Authors are equally responsible for the manuscript and for avoiding the plagiarism and self-plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 03.12.2018

Accepted for publication 24.12.2018