

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В СИМПАТРИЧЕСКИХ ПАРАХ СИГОВ РОДА *COREGONUS* КАК ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВИДОСПЕЦИФИЧНЫХ КОРМОВ

^{1,2}Соловьев М.М., ^{1,2}Кашинская Е.Н., ^{1,2}Симонов Е.П., ^{1,2,3}Шокурова А.В.

¹ФГБУН «Институт систематики и экологии животных СО РАН», г. Новосибирск, Российская Федерация

²ФГБУН «Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН», г. Москва Российская
Федерация

³ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет», г. Новосибирск, Российская
Федерация

Аннотация. В настоящем исследовании были определены основные биохимические характеристики пищеварительных ферментов, а также таксономическое разнообразие и соотношение таксонов в микробных сообществах желудочно-кишечного тракта симпатрических пар сигов рода *Coregonus* из различных озер Сибири. Доминирующими филумами в желудочно-кишечном тракте у сигов Телецкого озера были Proteobacteria, Firmicutes и Tenericutes, в то время как у сигов из озера Баунт доминировал только филум Proteobacteria. Между бентофагами и планктофагами основные различия в работе пищеварительных ферментов наблюдались в уровнях активности панкреатических гидролаз.

Ключевые слова. Рыбы, симпатрическая пара, сиги, *Coregonus*, пищеварительные ферменты, микробиота, 16S рРНК секвенирование.

DIGESTIVE PHYSIOLOGY FEATURES OF SYMPATRIC PAIR OF WHITEFISHES FROM GENUS *COREGONUS* AS A BASIS FOR SPECIES-SPECIFIC DIET FORMULATION

^{1,2}Solovyev M.M., ^{1,2}Kashinskaya E.N., ^{1,2}Simonov E.P., ^{1,2,3}Shokurova A.V.

¹Institute of Systematics and Ecology of Animals, SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation

²A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian
Federation

³FSSFEI HE Novosibirsk SAU, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. In the present study, the key biochemical characteristics of digestive enzymes, as well as the taxonomical structure of microbial communities in the gastrointestinal tract of sympatric pairs of whitefish of the genus *Coregonus* from different lakes of Siberia, was carried out. The dominant phyla in the gastrointestinal tract of whitefish from Teletskoye Lake were Proteobacteria, Firmicutes, and Tenericutes, while only the phylum Proteobacteria dominated in whitefish from Baunt Lake. Between benthivorous and planktivorous, the main differences associated with digestive enzymes were observed in the levels of activity of pancreatic hydrolases.

Keywords. Fish, sympatric pair, whitefishes, *Coregonus*, digestive enzymes, microbiota, 16S rRNA sequencing

Сиг пыхьян имеет повсеместное распространение в преимущественно олиготрофных водоемах Северного полушария, где формирует симпатрические пары, различающиеся по спектрам питания. На территории Сибири лакустринные пары сигов населяют, помимо прочих, например, озеро Телецкое и Баунт, расположенные в Республике Алтай и Республике Бурятия, соответственно. В озере Телецкое (бассейн реки Обь) пара сигов представлена многотычинковой формой/видом – сиг Правдина *C. l. pravdinellus* по типу питания относящимся к планктофагам и малотычинковой формой/видом – Телецким сигом *C. l. pidschian* по типу питания принадлежащим к бентофагам [1, 2, 3, 4]. В свою очередь в озере Баунт (бассейн реки Витим) описано три формы/вида сигов, также различающихся по числу жаберных тычинок и спектрам питания - *C. l. pidschian* и *Coregonus* sp., относящиеся к бентофагам и эндемик озера - Баунтовская ряпушка *C. baunti* sp. nova относящаяся к планктофагам [5]. В настоящей работы мы придерживались доминирующей гипотезы, согласно которой, кормовые ресурсы водоема является основной движущей силой в формировании морфологических и физиологических адаптаций для исследуемых форм/видов сигов к их спектрам питания. В тоже время вопрос об особенностях работы

пищеварительной системы и структуры микробных сообществ у сига с различной пищевой специализацией остается по-прежнему слабо изученным. Кроме того, для сига практически отсутствуют искусственные корма, которые бы отвечали всем необходимым физиологическим и энергетическим потребностям данных рыб. Проведение данного исследования позволяет приблизиться к пониманию особенностей функционирования пищеварительной системы сига с различной пищевой специализацией, и, как практический результат, к формированию высококачественной рецептуры искусственных кормов и кормовых добавок.

Цель исследования – определить структуру энтеральной микробиоты и основные биохимические особенности пищеварительных ферментов в желудочно-кишечном тракте сига из озера Телецкое и Байнот.

Сбор образцов для биохимических и молекулярно-генетических исследований осуществляли в осенний период (конец августа-начало сентября) 2012 и 2017–2022 гг (озеро Телецкое) и в середине лета (июль) 2020–2022 гг (озеро Байнот). После отлова ставными жаберными сетями с ячейкой 18–25 мм, рыб доставляли в контейнерах с водой до полевой лаборатории (озеро Байнот), либо до лаборатории научного стационара (озеро Телецкое). В лаборатории пищеварительный тракт вырезали в асептических условиях и замораживали в жидком азоте для дальнейшего анализа в лаборатории ИСиЭЖ СО РАН. В слизистой различных отделов пищеварительного тракта (желудок и кишечник) оценивали активность, кинетические характеристики (Km и Vm), а также температурные и pH оптимумы ключевых пищеварительных ферментов, ответственных за полостное и мембранное пищеварение. Кроме того, в кишечнике сига также определялся спектр щелочных протеаз с помощью SDS-PAGE электрофореза. Структура микробных сообществ пищеварительного тракта сига определялась с помощью метагеномного секвенирования гипервариабельного участка 16S rPHK (регион V3-V4) на платформе MiSeq (Illumina).

Для исследуемых нами сига мы не обнаружили особых различий, как в кинетических характеристиках, так и в pH и в температурных оптимумах. Основные различия в работе пищеварительных гидролаз заключались в их уровнях активности, и это касалось только панкреатических ферментов (трипсин, химотрипсин, липаза и амилаза). Активность этих ферментов была достоверно выше у сига, питавшихся бентосными организмами по сравнению с сигами, предпочитавшими планктонных ракообразных.

По структуре микробных сообществ пищеварительного тракта мы отмечаем следующие различия: в желудке бентофага из Телецкого озера основным филум был представлен Proteobacteria, хотя у планктофага преобладал филум Firmicutes. Также для бентосоядного сига филум Proteobacteria был основным доминантом в кишечнике, составляя 51.8–79.3% от общего состава бактерий. У планктофага мы также отмечаем филум Proteobacteria в значительном количестве. В тоже время значительная доля приходится на филумы Firmicutes и Tenericutes. Интересно отметить, что для обоих отделов кишечника сига Правдина соотношение филумов Proteobacteria, Tenericutes и Firmicutes в образцах содержимого и слизистой изменяется сходным образом. Также схожая зависимость для двух отделов кишечника отмечена для Телецкого сига для филумов Proteobacteria и Tenericutes.

По результатам молекулярно-генетических исследований микробиота, ассоциированная с желудочно-кишечным трактом сига из оз. Байнот представлена 56-ю филумами эубактерий. В составе микробиоты желудочно-кишечного тракта сиговых рыб доминировал филум Proteobacteria. Так, в микробиоте сига-бентофага преобладали бактерии филумов Chlamydiae, Firmicutes и Planctomycetes, а у байнотовской ряпушки (планктофаг) - Bacteroidetes, Firmicutes, Planctomycetes и Tenericutes. На более низком таксономическом уровне состав энтеральной микробиоты сига озера Байнот значительно отличался между разными формами/видами. Так, доминирующими таксонами бактерий в желудочно-кишечном тракте сига бентофага были Simkaniaceae (Candidatus Rhabdochlamydia), *Silvanigrella*, *Clostridium sensu stricto* 1, *Ralstoni*, *Klebsiella*, *Erysipelothri*, и др, в то время как в желудочно-кишечном тракте байнотовской ряпушки (планктофаг) доминировали *Mycoplasma*, *Tyzzereella* 3, *Pseudomonas* и др.

В результате проведенного исследования мы установили, что ключевые отличия в работе ферментативной системы пищеварительного тракта сига с разным типом питания заключались в различиях уровней активности панкреатических гидролаз. Кроме того, такие характеристики как Km и Vm , pH и температурные оптимумы для ферментов между бентофагами и планктофагами во многих случаях не отличались. В то же время, энтеральная микробиота сига значительно различается как в зависимости от типа питания сига (планктофаг и бентофаг), так и от озера (Телецкое и Байнот).

Список использованных источников

1. Phylogenetic position of whitefish *Coregonus lavaretus* (L.) from Teletskoye Lake (Siberia) based on complete mitochondrial DNA / M. Solovyev [and etc.] // Russ J Gen. – 2022. – 58, - P. 235 – 240. <https://doi.org/10.1134/S1022795422020120>

2. The effect of diet on the structure of gut bacterial community of sympatric pair of whitefishes (*Coregonus lavaretus*): one story more / M. Solovyev [and etc.] // PeerJ. – 2019. – 7, - P e8005. <https://doi.org/10.7717/peerj.8005>

3. Feeding habits shape infection levels by plerocercoids of the tapeworm *Triaenophorus crassus* in muscle of a sympatric pair of whitefish in an oligotrophic lake / E. Kashinskaya [and etc.] // J Helmit. – 2021. – 95, E8. <https://doi.org/10.1017/S0022149X20000991>

4. Secondary Intergradation of Various Forms of Pidschian-Like Whitefishes (*Coregonus lavaretus* sensu lato, Coregonidae) in the Water Bodies of the Altai-Sayan Mountains / Russ J Gen: Appl Res. – 2018. – 8 (2), - P. 178-189. <https://doi.org/10.1134/S2079059718020028>

5. Morphological, ecological and mtDNA sequence variation in coregonid fish from the Baunt Lake system (the Vitim River basin) / N. Bochkarev [and etc.] // Adv. Limnol. – 2013. – 64, - P. 257-277. <https://doi.org/10.1127/1612-166X/2013/0064-0025>

Секвенирование микробных сообществ и биохимический анализ пищеварительных ферментов выполнен при поддержке гранта РФФ №19-74-10054, метаанализ данных литературы по микробиоте и пищеварительным ферментам рыб был проведен при поддержке Мегагранта № 220-6544-5338.