

УДК 575.13:597.541

## ПОЛНЫЙ МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ *CLUPEONELLA ABRAU* (MALIATSKY, 1930) (CLUPEIFORMES) – ЭНДЕМИЧНОГО ВИДА ПРЕСНОВОДНЫХ РЫБ ИЗ ОЗЕРА АБРАУ (РОССИЯ)

© 2024 г. Д. П. Карабанов<sup>1</sup>\*, Д. Д. Перебоев<sup>2</sup>, Б. Д. Ефейкин<sup>2</sup>, Ю. В. Кодухова<sup>1</sup>,  
член-корреспондент РАН А. А. Котов<sup>2</sup>

Поступило 01.03.2024 г.

После доработки 15.03.2024 г.

Принято к публикации 19.03.2024 г.

Абраусская тюлька *Clupeonella abrau* (Maliatsky, 1930) – эндемичный вид рыб озера Абрау (Краснодарский край, Россия). Проаннотированный полный митохондриальный геном *C. abrau* длиной 16650 п.н. с консервативным для сельдевых рыб расположением генов демонстрирует сходство в 98.8% с митогеномом родственного вида – черноморско-каспийской тюльки (*C. cultriventrис*). Также последовательность гена COX1 была изучена у музейного экземпляра, собранного в оз. Абрау в 1938 г. Изменчивость у абраусской тюльки по локусу COX1 в современный период составляет около 0.15%, различие между абраусской и черноморско-каспийской тюлькой составляет 1.2%, а различия между музейным и современным образцами тюльки из оз. Абрау составляет 0.92%. Установлено, что в настоящее время абраусская тюлька не исчезла из рыбного сообщества и способна размножаться в текущих условиях. Предложены разные сценарии истории заселения тюлькой озера Абрау.

**Ключевые слова:** геномика, митохондриальный геном, рыбы, *Clupeonella abrau*, зоогеография, Понто-Каспийский регион

**DOI:** 10.31857/S2686738924040066

Среди различных водоемов России Кавказ исторически характеризовался исследователями как регион с большим числом редких и эндемичных форм [1]. Примером последнего служит абраусская тюлька (сарделька) *Clupeonella abrau* (Maliatsky, 1930) (Clupeiformes: Clupeidae) – эндемик оз. Абрау (44°41' с.ш., 38°19' в.д.), включенный в “Красную книгу Российской Федерации” как редкий уязвимый вид [2] и в “Красную книгу Международного союза охраны природы” как вид, находящийся под критической угрозой исчезновения [3].

Озеро Абрау, особо охраняемая природная территория, представляет из себя небольшой пресноводный водоем на территории Краснодарского края РФ, изолированный от Черного моря перешейком шириной 1.7 км, среднегодовая высота водной глади над уровнем моря 70 м, площадь

зеркала озера порядка 1.6 км<sup>2</sup>, наибольшая глубина 10.5 м. К началу XXI века ихтиофауна оз. Абрау подверглась значительной трансформации, число видов увеличилось более чем в два раза за счет интродукции новых видов, хотя даже тогда абраусская тюлька была массовым видом в рыбном сообществе [4]. После вселения в озеро судака *Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758) (Actinopterygii: Percidae) численность абраусской тюльки катастрофически сократилась [3] и на протяжении длительного периода стоял вопрос – а сохранился ли вообще [2] этот вид в ихтиофауне озера? Вместе с тем имеется и вероятность того, что в результате неоднократных интродукций реликтовая абраусская тюлька была замещена родственным видом, черноморско-каспийской тюлькой *C. cultriventrис* (Nordmann, 1840).

Ответить на подобные вопросы позволяют современные методы молекулярной генетики [5]. Однако отдельные гены часто не обладают достаточным уровнем нуклеотидной изменчивости для адекватных заключений. В последнее время для этих целей все чаще исследуются полные митохондриальные геномы [6].

<sup>1</sup>Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук, пос. Борок, Россия

<sup>2</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия

\*e-mail: dk@ibiw.ru

Цель настоящей работы – провести секвенирование нуклеотидной последовательности полного митохондриального генома *C. abrau* из современной популяции озера Абрау; на основании оценки нуклеотидного разнообразия по локусу COX1 провести сравнение современных данных с доступным историческим материалом из коллекции Зоологического музея РАН; высказать предположение о генезисе и таксономическом статусе современной популяции пресноводной тюльки оз. Абрау.

В результате работ при сборе зоопланктона в ночной период 14.10.2019 г. в пелагиали оз. Абрау (44°41'56" с.ш., 38°19'37" в.д.) в планктонную сеть Апштейна (диаметр 250 мм, конус 450 мм, мельничный газ №60) в качестве прилова в пробах было обнаружено 9 небольших рыб, принадлежавших к семейству Clupeidae. Гидрохимические характеристики поверхностного слоя при лове были следующие: температура +20.3°C, pH 7.85, электропроводность 630 мкС, минерализация 315 мг/л, жесткость 6.3 мг-экв/л, окислительно-восстановительный потенциал 87 мВ, концентрация растворенного кислорода 2.66 г/л, вода соответствует карбонатно-кальциевому типу с низкой минерализацией. При дальнейшем исследовании с использованием первоописания абрауской тюльки [7], диагноза А.Н. Световидова [8] и материала по *Harengula abrau* Maliatsky, 1930 из коллекции Зоологического музея Зоологического института РАН (муз. №28345, оз. Абрау, сбор 19.01.1938 г.) была установлена принадлежность выловленных рыб к *C. abrau*. От музейного образца №61 из коллекции ЗМ ЗИН РАН муз. №28345 (рыбы 62–64) с разрешения хранителя был получен образец ткани правого брюшного плавника. Представленный ваучер был использован для проведения ДНК-баркодинга по локусу COX1 с использованием внутренних “коротких” праймеров в соответствии [9]. Для всех выловленных в 2019 г. абраусских тюлек кроме ДНК-баркодинга по локусу COX1 также получены последовательности локусов 16S (мтДНК) и 18S (ядНК) в соответствии с ранее опробованным протоколом [9]. Для установления нуклеотидной последовательности полного митохондриального генома абрауской тюльки было использовано высокопроизводительное секвенирование на базе платформы Illumina NovaSeq6000 (парные чтения по 150 п.н., всего 77 млн чтений), выполненное в компании Novogene (<https://www.novogene.com/>). Пробоподготовка и постобработка результатов высокопроизводительного секвенирования выполнена в последовательности, описанной ранее [10]. Сборка генома выполнена по алгоритму NOVOPlasty ver.4.3.3 [11], в двух вариантах (использование в качестве “затравки” последовательности фрагмента COX1 от музейного образца абрауской тюльки, альтернативно использовался митохондриальный

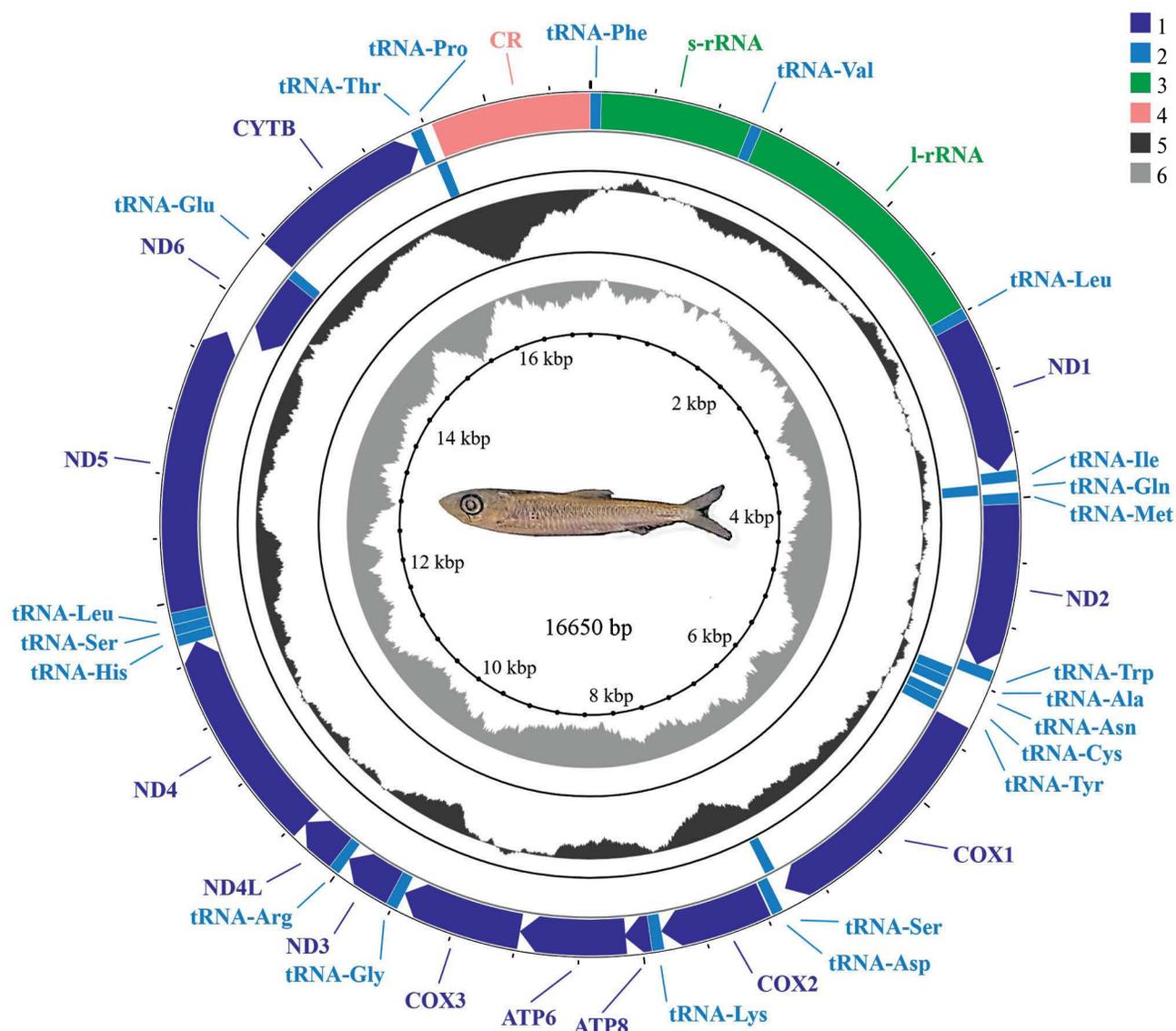
геном *Clupeonella cultriventris* NC\_015109), давших абсолютно одинаковый результат. Аннотирование, сравнение с референсными митогеномами и все генетические вычисления выполнены в uGENE v.49.1 [12]. Полученные уникальные последовательности депонированы в международную базу данных NCBI GenBank под номерами PP318216–24 (COX1), PP326849–56 (16S) и PP326857–58 (18S). Полный митохондриальный геном абрауской тюльки после проверки данных представлен в NCBI GenBank, номер записи PP328542.

Сравнение нуклеотидной изменчивости гена COX1 музейного образца с современными рыбами показало различие между ними (все замены синонимичные) на 6–7 п.н. (длина локуса 654 п.н.), тогда как внутри выборки 2019 г. для того же локуса различия составляли 1 п.н. Таким образом, с высокой вероятностью можно констатировать что современные тюльки в оз. Абрау относятся к той же генетической группе, что и музейный образец. Вместе с тем на основании этих генетических данных таксономический статус абраусских тюлек неоднозначен и требует дополнительного изучения. К сожалению, скудность музейной коллекции и длительная формалиновая фиксация образцов не позволила использовать этот уникальный музейный материал для полногеномного исследования, поэтому в качестве ваучера была использована особь №K20 из сбора 2019 г. По морфологическим признакам этот экземпляр полностью соответствует диагнозу абрауской тюльки [8]. Диагностические признаки ваучера K20 и лимиты признаков остальных рыб были следующими: общая длина рыбы  $L=44.8$  (38.5–45.0) мм; длина тела рыбы до конца чешуйного покрова  $l=37.7$  (33.2–38.6) мм; брюхо сжато с боков; хвостовой стебель короткий. Брюшные килевые чешуи хорошо выражены и на всем протяжении от горла до анального плавника образуют киль, килевых чешуй  $c.sq.=26$ . Самка, возраст 1+. Относительно длины головы, пластические признаки: высота головы  $hc/c=60$  (51–61)%; диаметр глаза  $do/c=30$  (26–34)%; длина верхней челюсти  $lmx=37$  (30–4). Относительно длины тела рыбы, пластические признаки: длина головы  $c/l=26$  (26–30)%; расстояния – антедорсальное  $aD/l=51$  (46–53)%, антевентральное  $aV/l=58$  (54–59)% и вентроанальное  $VA/l=17$  (12–19)%; высота анального  $IA/l=19$  (14–20)%, спинного  $ID/l=13$  (10–16)%, левых грудного  $IP/l=19$  (17–23)% и брюшного  $IV/l=13$  (9–14)% плавников; наибольшая высота тела  $H/l=17$  (14–18)%; высота хвостового стебля  $h/l=2$  (2–3)%. Меристические диагностические признаки: жестких и разветвленных лучей в анальном A III 16 (II–II 14–17), спинном D III 12 (III–IV 11–12) и в брюшных V I 6 (I 6) плавниках; жаберных тычинок *sp.br.* 43–43 (41–45) слева и справа соответственно; общее число позвонков *Vert.* 44 (40–44).

Полученный круговой митохондриальный геном *Clupeonella abraui* имеет длину 16650 п.н. и состоит из 13 белок-кодирующих генов (PCG), 22 транспортных РНК (tRNA), 2 рибосомальных РНК (rRNA) и некодирующей области контрольного региона (рис. 1 и табл. 1). Длина, структура и организация митогенома соответствует таковым для сельдевых рыб [13]. По нуклеотидному составу в митогеноме несколько преобладают пиримидиновые останки (А% = 26.3, G% = 19.1, С% = 27.9, Т% = 26.7) и наблюдается отрицательный GC-перекос (-0.186). Для белок-кодирующих

генов соотношение нуклеотидов несколько иное: А% = 23.7, G% = 18.5, С% = 28.5, Т% = 29.3 при более выраженном отрицательном GC-перекосе (-0.214).

Общая длина PCG составляет 11436 п.н., что составляет 68.6% всего митогенома. Всего 13 генов, кодирующих белок, содержат 3812 кодонов (включая стоп-кодона). Частоты встречаемости конкретных кодонов в PCG митогенома *C. abraui* и *C. cultriventris* из Черного моря представлены на рис. 2. В анализируемом митохондриальном геноме абраусской тюльки обнаружены все 22 гена tRNA, типичные для рыб, из них 14 генов кодированы



**Рис. 1.** Круговая карта митохондриального генома *Clupeonella abraui* (озеро Абрау). Внешний круг указывает на расположение и распределение генов в митогеноме. Гены, кодируемые Н (+) цепью и L (-) цепью, отображены во внешнем и внутреннем кольцах соответственно. Условные обозначения: 1 – белок-кодирующие гены; 2 – транспортная РНК; 3 – рибосомальная РНК; 4 – контрольный регион; 5 – содержание нуклеотидов G и C в молекуле ДНК (GC-content), средняя линия соответствует значению 0.5; 6 – равномерность распределения нуклеотидов G+C в молекуле ДНК (GC-skew), средняя линия соответствует значению 0.

**Таблица 1.** Организация полноразмерного митохондриального генома *Clupeonella abraui* (озеро Абрау, Российская Федерация).

Ген	Цепь ДНК	Положение	Размер п.н. / а.а.	Межгенный промежуток (п.н.)	Антикодон (для tRNA) или старт/стоп-кодон (для PCG)	D (Cc/Ar)
tRNA-Phe	+	1–68	68	0	GAA	1/5
12s-rRNA	+	69–1019	951	0	–	1/78
tRNA-Val	+	1020–1091	72	0	TAC	0/2
16s-rRNA	+	1092–2771	1680	0	–	6/191
tRNA-Leu1	+	2772–2846	75	0	TAA	0/6
ND1	+	2847–3821	975/325	5	ATG/TAG	18/221
tRNA-Ile	+	3827–3898	72	–1	GAT	0/0
tRNA-Gln	–	3898–3968	71	–1	TTG	1/4
tRNA-Met	+	3968–4036	69	0	CAT	1/1
ND2	+	4037–5081	1045/348	–2	ATG/T--	21/243
tRNA-Trp	+	5082–5153	72	1	TCA	0/1
tRNA-Ala	–	5155–5223	69	1	TGC	0/1
tRNA-Asn	–	5225–5297	73	31	GTT	1/2
tRNA-Cys	–	5329–5394	66	2	GCA	0/4
tRNA-Tyr	–	5397–5467	71	1	GTA	0/2
COX1	+	5469–7019	1551/516	0	GTG/TAA	17/258
tRNA-Ser1	–	7020–7090	71	4	TGA	0/0
tRNA-Asp	+	7095–7164	70	12	GTC	0/5
COX2	+	7177–7867	691/230	0	ATG/T--	3/118
tRNA-Lys	+	7868–7941	74	1	TTT	0/2
ATP8	+	7943–8110	168/55	–10	ATG/TAA	1/16
ATP6	+	8101–8783	683/227	0	ATG/TA-	6/120
COX3	+	8784–9568	785/261	0	ATG/TA-	9/135
tRNA-Gly	+	9569–9640	72	0	TCC	0/1
ND3	+	9641–9989	349/116	0	ATG/T--	4/84
tRNA-Arg	+	9990–10058	69	0	TCG	0/3
ND4L	+	10059–10355	297/98	–7	ATG/TAA	2/54
ND4	+	10349–11729	1381/460	0	ATG/T--	32/302
tRNA-His	+	11730–11798	69	0	GTG	0/6
tRNA-Ser2	+	11799–11865	67	0	GCT	0/4
tRNA-Leu2	+	11866–11937	72	0	TAG	0/0
ND5	+	11938–13773	1836/611	–4	ATG/TAA	29/359
ND6	–	13770–14291	522/173	0	ATG/TAG	7/117
tRNA-Glu	–	14292–14360	69	4	TTC	0/1
Cytb	+	14365–15505	1141/380	0	ATG/T--	16/246
tRNA-Thr	+	15506–15577	72	–1	TGT	1/5
tRNA-Pro	–	15577–15646	70	0	TGG	0/1
D-Loop	+	15647–16649	1003	1	–	24/387

Примечание. Цепь ДНК соответствует (+) для H и (–) для L. Значение D в п.н. показывает различия между генами абрауской тюльки относительно генетически наиболее близких видов, черноморско-каспийской тюльки (*Clupeonella cultriventris*) и сероспинки (*Alosa pseudoharengus*) соответственно.

на H-цепи и 8 генов – на L-цепи ДНК (рис. 1 и табл. 1), общая длина всех транспортных РНК равна 1553 п.н. Все тРНК образуют типичные вторичные структуры “клеверного листа”, за исключением tRNA-Ser2 (GCT), у которых, как и у многих других рыб, редуцировано плечо DHU [14].

Ген малой (12S) митохондриальной субъединицы рРНК имеет длину 952 п.н., а большой (16S) субъединицы – 1680 п.н. Контрольный регион (CR, D-loop) у тюльки довольно компактный, длиной 1003 п.н. со специфичным нуклеотидным составом для регуляции репликации и транскрипции [14].



быстрое развитие икринки [8], стайный образ жизни и сложные вертикальные миграции [7], когда основную часть суток тюлька обитает в придонном слое воды, где она менее доступна для пелагических хищников.

Абраусская тюлька является своеобразным компонентом ихтиофауны памятника природы “Озеро Абрау”. Даже признание абраусской тюльки жилой пресноводной формой черноморско-каспийской тюльки не должно привести к отмене особого охранного статуса водоема, так как в целом более разумно вместо охраны отдельных таксонов заниматься охраной локальных фаун [20]. Примером такого подхода служит охрана популяции ряпушки (*Coregonus albula*) озера Плещеево (Россия), тогда как на остальной территории этот вид охраняемым не является [2], и рационально было бы распространить подобную практику и на другие территории.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую признательность А.А. Махрову (ИПЭЭ РАН) за консультации и Р.З. Сабитовой (ИБВВ РАН) за неоценимую помощь в организации работ.

### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Генетические работы выполнены за счет средств гранта Российского научного фонда № 23-14-00128, <https://rscf.ru/project/23-14-00128/>

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ И СТАНДАРТОВ

Работы выполнены в соответствии с “Программой научно-исследовательских работ ИБВВ РАН” на 2018-2022 гг. (утверждена 04.08.2017 г., приказ ФАР МСХ РФ №702 от 30.11.2018 г.)

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Динникъ К.Я. Общій очеркъ фауны Кавказа. Ставрополь: Типографія Губернскаго Правленія, 1910. 15 с.
2. Красная книга Российской Федерации. Животные. 2-ое издание. Москва: ФГБУ «ВНИИ Экология», 2021. 1128 с.
3. Freyhof J., Kottelat M. Abrau Sprat *Clupeonella abrau* / The IUCN Red List of Threatened Species. IUCN UK Office, Cambridge: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, 2023. <https://dx.doi.org/10.2305/iucn.uk.2008.rlts.t4985A11106744.en>
4. Лужняк В.А. Ихтиофауна рек и лиманов Черноморского побережья России. // Вопросы ихтиологии. 2003. Т. 43. № 4. С. 457–463.
5. Rheindt F.E., Bouchard P., Pyle R.L., et al. Tightening the requirements for species diagnoses would help integrate DNA-based descriptions in taxonomic practice // PLoS Biology. 2023. V. 21. № 8. P. e3002251.
6. Hogg C.J., Ottewell K., Latch P., et al. Threatened species initiative: empowering conservation action using genomic resources // The Proceedings of the National Academy of Sciences. 2022. V. 119. № 4. P. e2115643118.
7. Малайтский С. Новый, реликтовый вид сардельки из озера Абрау // Труды Азово-Черноморской научной рыбохозяйственной станции. 1930. Вып. 6. С. 65–74.
8. Световидов А.Н. Сельдевые (Clupeidae). Фауна СССР. Рыбы. Том 2. Выпуск 1. Москва, Ленинград: Издательство АН СССР, 1952. 333 с.
9. Karabanov D.P., Bekker E.I., Pavlov D.D., et al. New sets of primers for DNA identification of non-indigenous fish species in the Volga-Kama basin (European Russia) // Water. 2022. V. 14. P. e437.
10. Pereboev D.D., Karabanov D.P., Efeykin B.D., Kotov A.A. Annotated mitogenome of *Podonevadne trigona* (Sars, 1897) (Cladocera: Onychopoda: Podonidae) sheds light on the age of podonid differentiation // Arthropoda Selecta. 2024. V. 33. № 1. P. 14–94.
11. Dierckxsens N., Mardulyn P., Smits G. NOVOPlasty: de novo assembly of organelle genomes from whole genome data // Nucleic Acids Research. 2017. V. 45. № 4. P. e18.
12. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit // Bioinformatics. 2012. V. 28. № 8. P. 1166–1167.
13. Lavoue S., Miya M., Saitoh K., et al. Phylogenetic relationships among anchovies, sardines, herrings and their relatives (Clupeiformes), inferred from whole mitogenome sequences // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2007. V. 43. № 3. P. 1096–1105.
14. Satoh T.P., Miya M., Mabuchi K., Nishida M. Structure and variation of the mitochondrial genome of fishes // BMC Genomics. 2016. V. 17. P. e719.
15. Hebert P.D.N., Stoeckle M.Y., Zemplak T.S., Francis C.M. Identification of birds through DNA barcodes // PLoS Biology. 2004. V. 2. № 10. P. e312.
16. Canales-Aguirre C.B., Ritchie P.A., Hernandez S., et al. Phylogenetic relationships, origin and historical biogeography of the genus *Sprattus* (Clupeiformes: Clupeidae) // PeerJ. 2021. V. 9. P. e11737.
17. Островский А.Б. Происхождение озера Абрау и других бессточных котловин на Черноморском

- побережье Кавказа // Известия АН СССР. Серия географическая. 1970. № 1. С. 89–98.
18. Karabanov D.P., Kodukhova Y.V., Pashkov A.N., et al. “Journey to the West”: Three phylogenetic lineages contributed to the invasion of Stone Moroko, *Pseudorasbora parva* (Actinopterygii: Cyprinidae) // Russian Journal of Biological Invasions. 2021. V. 12. № 1. P. 67–78.
19. Карabanов Д.П. Генетические адаптации черноморско-каспийской тюльки *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840) (Actinopterygii: Clupeidae). Воронеж: Издательство “Научная книга”, 2013. 179 с.
20. Mina M.V. Problems of protection of fish faunas in the USSR // Netherlands Journal of Zoology. 1991. V. 42. № 2-3. P. 200–213.

**COMPLETE MITOCHONDRIAL GENOME  
OF *CLUPEONELLA ABRAU* (MALIATSKY, 1930) (CLUPEIFORMES),  
AN ENDEMIC SPECIES  
OF FRESHWATER FISH FROM LAKE ABRAU (RUSSIA)**

**D. P. Karabanov<sup>a, #</sup>, D. D. Pereboev<sup>b</sup>, B. D. Efeykin<sup>b</sup>, Y. V. Kodukhova<sup>a</sup>,  
Corresponding Member of the RAS A. A. Kotov<sup>b</sup>**

<sup>a</sup>*Papanin Institute for Biology of Inland Waters of Russian Academy of Sciences, Borok, Russian Federation.*

<sup>b</sup>*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation.*

<sup>#</sup>*e-mail: dk@ibiw.ru*

The Abrau sprat (Tyulka or Sardelka) *Clupeonella abrau* (Maliatsky, 1930) is an endemic fish of Lake Abrau (Krasnodar Territory). The full mitogenome of *C. abrau* (16650 bp in length, with a conservative gene arrangement for Clupeidae) demonstrates 98.8% similarity with the mitogenome of a related species, the Black Sea-Caspian tulka (*C. cultriventris*) from the Black Sea. The sequence of the COX1 gene was also studied in a museum specimen collected in Lake Abrau in 1938. Variability in modern Abrau sprat COX1 locus in about 0.15%, the difference between *C. abrau* and *C. cultriventris* is 1.2%, and the difference between the Museum and modern samples of tulka from Lake Abrau is 0.92%. It has been confirmed that the Abrau sprat is present in the fish community and capable of reproducing in the lake. Various alternative scenarios for the settlement of Lake Abrau have been proposed.

**Keywords:** genomics, mitochondrial genome, fish, *Clupeonella abrau*, zoogeography, Ponto-Caspian Region