

УДК 575.13:597.541

ХАРАКТЕРИСТИКА И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛНОГО МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА *Clupeonella cultriventris* (Actinopterygii: Clupeiformes) – ЧУЖЕРОДНОГО ВИДА РЫБ РЫБИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА (Р. ВОЛГА)

© 2025 г. Д. П. Карабанов^{a,*}, Ю. В. Кодухова^a, А. А. Котов^b

^aИнститут биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук,
пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия

^bИнститут проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: dk@ibiw.ru

Поступила в редакцию 28.01.2024 г.

После доработки 12.03.2024 г.

Принята к публикации 17.03.2024 г.

Черноморско-каспийская тюлька (килька, сарделька) *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840) (Actinopterygii: Clupeiformes) – мелкий пелагический вид, самый массовый из чужеродных видов рыб Волжско-Камского бассейна, являющийся одним из ключевых элементов трофических сетей в пресноводных экосистемах. В работе приведена характеристика полного митохондриального генома черноморской-каспийской тюльки из однозначно адвентивной популяции Верхней Волги ($58^{\circ}23'19''$ с.ш., $38^{\circ}19'37''$ в.д.). Определение вида было выполнено как по морфологическим признакам, так и по идентичности последовательностей ДНК в международной базе данных NCBI GenBank. Для секвенирования полного митохондриального генома было использовано классическое секвенирование по Сэнгеру с ПЦР-продукта от набора из 48 пар праймеров, дающих полное перекрывание и однозначное прочтение каждого нуклеотида не менее чем в двух повторностях. Проаннотированный полный митогеном *C. cultriventris* длиной 16650 пн с консервативным для сельдевых рыб расположением генов содержит 22 транспортные РНК, 13 белок-кодирующих генов, две рибосомальные РНК и одну некодирующую область. Полученный митохондриальный геном демонстрирует сходство в 98.7% с изученным ранее вариантом из Каспийского моря. Исходя из этих данных, нет достаточных оснований к выделению пресноводных тюлок Волжско-Камского региона в отдельный таксон.

Ключевые слова: Clupeiformes, черноморско-каспийская тюлька, *Clupeonella cultriventris*, чужеродные виды, митохондриальный геном, геномика

DOI: 10.31857/S0320965225010191, **EDN:** CDKUQK

ВВЕДЕНИЕ

Черноморско-каспийская тюлька (килька, сарделька) *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840) (Clupeiformes: Clupeidae/Ehiravidae), изначально солоновато-водный ponto-каспийский вид рыб, в настоящее время успешно расселилась по всему Волго-Камскому бассейну (Karabanyov et al., 2023). Уже в начале XXI в. в водохранилищах Верхней Волги тюлька стала видом – сверхдоминантом в пелагическом сообществе, являясь ключевым компонентом трофических сетей в водоеме (Kiyashko et al., 2012). Вместе с тем идентификация видов рыб рода *Clupeonella* Kessler, 1877 часто затруднена из-за широкого географического ареала и морфологических особенностей популяций, обитающих в разных экологических условиях. После ряда ревизий внутри

вида *C. cultriventris* были сохранены только два подвида: азово-черноморский *C. c. cultriventris* и каспийский *C. c. caspia* (Whitehead, 1985). В дальнейшем выделение внутривидовых таксонов было поставлено под сомнение (Reshetnikov et al., 1997), но после принятия “филогенетической” (а по факту – чисто кладистической) концепции вида каспийскую, азово-черноморскую и пресноводную тюльку выделяли как независимые таксоны (Kottelat, Freyhof, 2007). Таким образом, в настоящее время считается, что Волжско-Камский бассейн заселен *Clupeonella tscharchalensis* (Borodin, 1896) – самостоятельным валидным видом (Froese, Pauly, 2023) пресноводных тюлок сем. Ehiravidae Deraniyagala, 1929 (Wang et al., 2022). Помимо теоретического значения, достоверность видовой идентификации в данном случае важна для организации рациональной эксплуатации

биоресурсов. Так, в структуре промышленного вылова на тюльку приходится 11.5% диадромных рыб, что составляет 0.4% всей рыбной продукции внутренних водоемов мира (FAO..., 2023).

Облегчить и повысить качество идентификации живых организмов позволяют современные методы, основанные на ДНК-таксономии (Rehインド et al., 2023). Однако отдельные гены слишком коротки, чтобы точно отражать реальные филогенетические отношения между видами и различать близкородственные виды. Напротив, митохондриальный геном, который содержит большую последовательность и дополнительные информативные участки, рассматривается как мощный молекулярный маркер для выявления филогенетических связей, изучения популяционной генетики и таксономической диагностики из-за его многокопийности, высокой консервативности, материнской наследственности и компактной организации генов (Curole, Kocher, 1999).

Цель данного исследования – определить последовательность нуклеотидов и аннотировать полный митохондриальный геном черноморско-каспийской тюльки из Рыбинского водохранилища (Верхняя Волга). На основании этих данных проанализирован таксономический статус пресноводной тюльки из р. Волги относительно референсных данных от образца из Каспийского моря. Генетическая информация о митогеноме *C. cultriventris* поможет расширить имеющиеся молекулярные данные по сельдовым рыбам для дальнейших таксономических и филогенетических работ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ваучер (№ d010) *C. cultriventris* для секвенирования митогенома был отловлен 23 июля 2014 г. в Центральном плесе Рыбинского водохранилища (р. Волга), координаты 58°23'19" с.ш., 38°19'37" в.д. По морфологическим признакам этот экземпляр полностью соответствует диагнозу черноморско-каспийской тюльки (Svetovidov, 1963) или пресноводной тюльки по “новой” системе (Kottelat, Freyhof, 2007): общая длина рыбы $L = 100.3$ мм; длина тела рыбы до конца чешуйного покрова $l = 86.8$ мм; брюхо сжато с боков; длина головы $c = 20.7$ мм; высота головы $hc = 16.3$ мм; диаметр глаза $do = 5.7$ мм; длина верхней челюсти $l_{mx} = 8.2$ мм; антедорсальное расстояние $aD = 41.9$ мм; антевентральное расстояние $aV = 46$ мм; вентроанальное расстояние $VA = 16.9$ мм; высота левого грудного плавника $lP = 14$ мм; высота левого брюшного плавника $lV = 8.6$ мм; высота анального плавника $lA = 14.2$ мм; высота спинного плавника $lD = 12.4$ мм; наибольшая высота тела $H = 26.1$ мм; высота хвостового стебля $h = 7.7$ мм; брюшные кильевые чешуи хорошо выражены и на всем протяжении от горла до анального плавника образуют

киль; кильевые чешуй *c.sq.* 26; лучей в анальном плавнике *A III 15* (два последних луча существенно длиннее предыдущих); лучей в спинном плавнике *D IV 12*; лучей в брюшных плавниках *V I 7*; жаберных тычинок *sp.br.* 48, 47 слева и справа соответственно; общее число позвонков *Vert. 43*, из них 27 в хвостовом и переходном отделах *Vi + Vc* по А.Н. Световидову (Svetovidov, 1963). Проведенный ранее ДНК-баркодинг по локусу COX1 (Karabanyov et al., 2022) показал сходство данного ваучера с референсной последовательностью NCBI GenBank NC_015109 (Lavoue et al., 2013) на уровне 99.1%, что позволяет однозначно отнести ваучер № d010 к тюлькам рода *Clupeonella*.

Общую геномную ДНК экстрагировали из мышечной ткани рыбы согласно ранее предложенному нами протоколу (Karabanyov et al., 2022). Амплификацию фрагментов митогенома проводили на парах праймеров, смоделированных в программе MitoPrimer ver.1 (Yang et al., 2011). В качестве входящих геномов использовали референсные для Clupeidae последовательности из GenBank: NC_009576 (*Alosa pseudoharengus* (Wilson, 1811), Северная Атлантика), NC_014266 (*Brevoortia tyrannus* (Latrobe, 1802), Северная Атлантика), NC_015109 (*Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840), Каспийское море), NC_033407 (*Sardinella longiceps* Valenciennes, 1847, Аравийское море) с направляющим геномом KC193696 (*Clupea harengus* L., 1758, Балтийское море). Набор праймеров, их комбинация и температуры гибридизации даны в Доп. мат. табл. S1. Использование данного набора обеспечило однозначное секвенирование каждого нуклеотида не менее чем в двух прочтениях. Проведение ПЦР, очистка продукта и секвенирование проведено по ранее описанной нами методике (Karabanyov et al., 2022). Секвенирование с прямого и обратного праймеров выполнено на автоматическом ДНК-секвениаторе “Нанофор-05” (НПК “Синтол”, Россия) в соответствии с протоколом производителя. Контроль качества прочтений, удаление праймеров, сборка и верификация полногеномной последовательности анализировали в программе UGENE ver. 49.1 (Okonechnikov et al., 2012). Аннотирование митогенома проводили на веб-сервере MitoFish (Zhu et al., 2023). Визуализацию кругового митогенома, расчет GC-состава и асимметрии митохондриальной цепи ДНК выполняли на веб-сервере Proksee (Grant et al., 2023). Для предсказания вторичной структуры РНК использовали алгоритм mxfold2 (Sato et al., 2021). Все остальные генетические расчеты выполняли в программе MEGA ver. 11.0 (Tamura et al., 2021). Полный митохондриальный геном после проверки данных представлен в NCBI GenBank, номер записи PP050458.¹

¹ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/PP050458.1>

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученный круговой митохондриальный геном *C. cultriventris* имеет длину 16 650 пн и состоит из 12 белок-кодирующих генов (PCG), 22 транспортных РНК (tRNA), 2 рибосомальных РНК (rRNA) и одной некодирующей области контрольного региона (рис. 1, табл. 1). В целом можно отметить, что длина, структура и организация митогенома черноморско-каспийской тюльки соответствует таковой для сельдевых рыб (Lavoue et al., 2007). Среди всех 37 генов митогенома тюльки на “легкой” цепи L локализовано восемь генов тРНК и ген ND6, все остальные гены кодируются “тяжелой” цепью Н. По нуклеотидному составу в митогеноме несколько преобладают пиrimидиновые останки ($A\% = 26.2$, $G\% = 19.3$, $C\% = 27.9$, $T\% = 26.7$) и наблюдается отрицательный

GC-перекос (-0.182). Для белок-кодирующих генов соотношение нуклеотидов несколько иное: $A\% = 23.8$, $G\% = 19.3$, $C\% = 27.9$, $T\% = 29.0$ при отрицательном GC-перекосе (-0.233).

Общая длина PCG составляет 11 424 пн, что составляет 68.6% всего митогенома. Всего 13 генов, кодирующих белок, содержат 3806 кодонов. Частоты встречаемости конкретных кодонов в PCG митогенома тюльки из Рыбинского водохранилища и Каспийского моря представлены в Доп. мат. табл. S2. Среди наиболее распространенных кодонов можно отметить (по трансляции мРНК) CCU, CCC и CCA (Pro), UCU (Ser) и CUU (Leu1), из стоп-кодонов самый распространенный – UAA, стандартный старт-кодон – ATG (табл. 1, Доп. мат. табл. S2).

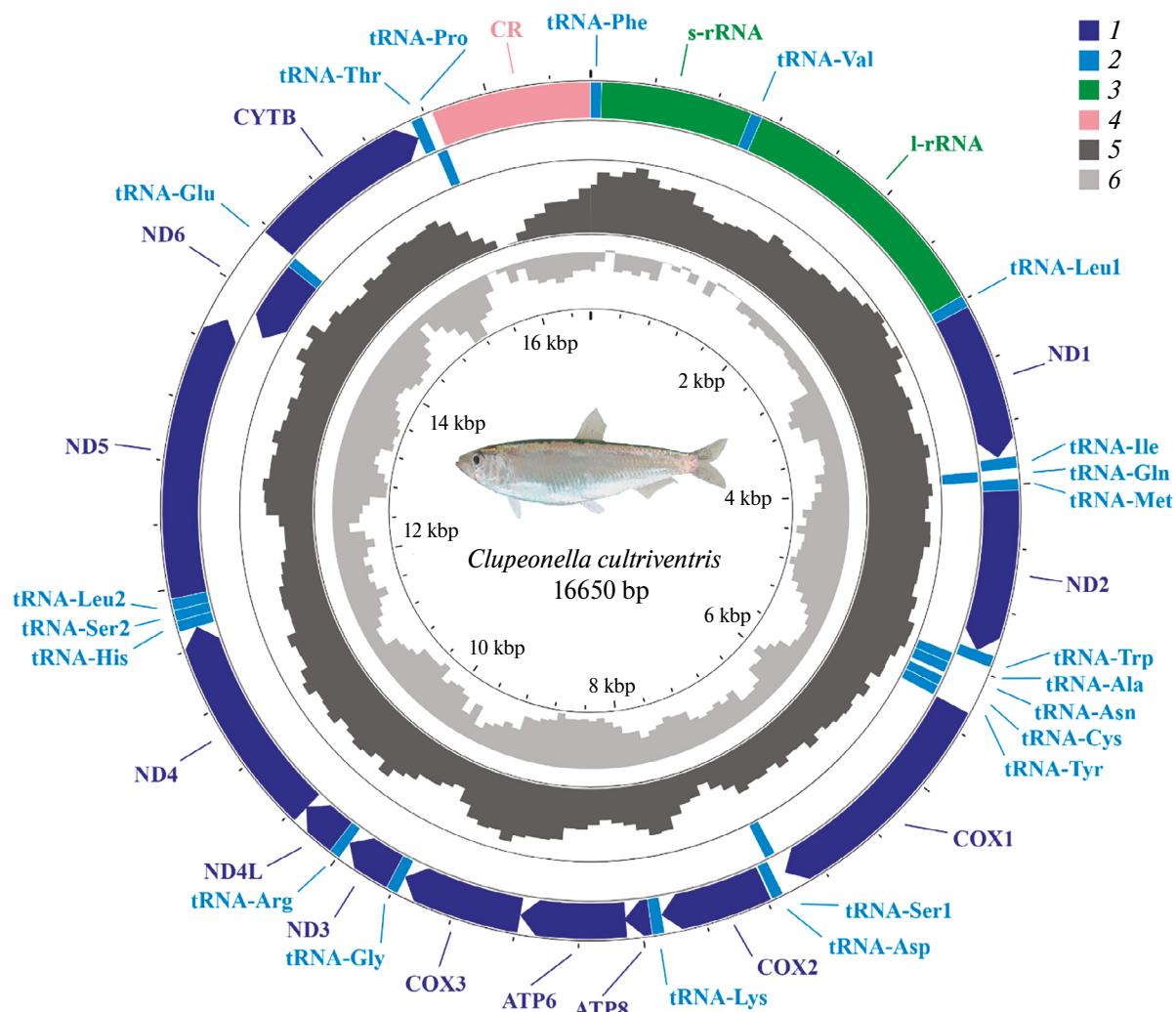


Рис. 1. Круговая карта митохондриального генома *Clupeonella cultriventris* (р. Волга, Рыбинское водохранилище). Внешний круг указывает на расположение и распределение генов в митогеноме. Гены, кодируемые Н (+) цепью и L (-) цепью ДНК отображены во внешнем и внутреннем кольцах соответственно. Условные обозначения: 1 – белок-кодирующие гены; 2 – транспортная РНК; 3 – рибосомальная РНК; 4 – контрольный регион; 5 – содержание нуклеотидов G и С в молекуле ДНК (GC-content; размах значений 0.341–0.543); 6 – неравномерность распределения нуклеотидов G + С в молекуле ДНК (GC-skew; размах значений -0.34 – 0.02).

Таблица 1. Организация полноразмерного митохондриального генома *Clupeonella cultriventris* (р. Волга, Рыбинское водохранилище)

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

Примечание. Цепь ДНК соответствует (+) для цепи Н и (-) для цепи L. Размер гена определен в парах нуклеотидов (пн) и для белок-кодирующих генов в аминокислотных остатках (аа). Межгенный промежуток соответствует вставке (при положительном значении) или перекрывании генов (отрицательное значение). Антикодон цепи ДНК приведен для генов тРНК, для белок-кодирующих генов приведены старт- и стоп-кодоны (неполный стоп-кодон TAA завершается добавлением аденинов на 3'-конец мРНК).

В анализируемом митохондриальном геноме *C. cultriventris* обнаружены все 22 гена тРНК, типичные для рыб, из них 14 генов кодированы на Н-цепи и 8 генов – на L-цепи ДНК (рис. 1, табл. 1). Длина этих генов варьируется от 66 пн (tRNA-Cys) до 75 пн (tRNA-Leu1), общая длина всех транспортных РНК равна 1 553 пн. Вторичная структура всех 22 тРНК представлена в Доп. мат. табл. S3. Все тРНК образуют типичные вторичные структуры “клеверного листа”, за исключением tRNA-Ser2 (GCT), у которых, как и у многих других рыб, редуцировано плечо DHU (Satoh et al., 2016).

Ген малой (12S) субъединицы рРНК имеет длину 952 пн, расположен между транспортными РНК tRNA-Phe и tRNA-Val. Ген большой (16S) рибосомальной субъединицы длиной 1680 пн расположен между tRNA-Val и tRNA-Leu1. Вторичная структура обеих субъединиц митохондриальной РНК представлена в Доп. мат. табл. S4. Как и у других рыб, рРНК тюльки имеет сложную дуплексно-петельную организацию с чередованием консервативных и вариабельных участков (Satoh et al., 2016).

Контрольный регион (CR, D-loop) у тюльки довольно компактный (1003 пн), локализован между tRNA-Pro и tRNA-Phe. Нуклеотидный состав контрольного региона специфичен. Непрерывная последовательность поли-T (участок 641–649 гена CR), охватывающая девять нуклеотидов (предположительно, служит препятствием для секвеназы) локализуется перед АТ-богатой областью CSB-I (участок 686–701 гена CR). Также в контролльном регионе тюльки можно выделить локусы CSB-D (Т-богатый регион, участок 549–566 гена CR) и CSB-II (С-богатый регион, участок 872–884 гена CR). Вероятно, такая сложная организация контрольного региона играет роль в репликации и транскрипции генома (Satoh et al., 2016).

Таким образом, организация митохондриального генома пресноводной тюльки из Рыбинского водохранилища качественно не отличается от таковой для образца из Каспийского моря. По общему счету различия между геномами – 215 нуклеотидов (1.29%), при этом вариабельность по 23 позициям приходится на некодирующую последовательность контролльного региона.

Считается, что для рыб межвидовые различия в генетических дистанциях в среднем составляют ~3% (Phillips et al., 2022), хотя могут и сильно варьировать у разных групп. В любом случае для достоверной делимитации желательно ориентироваться на “правило 10x” (Hebert et al., 2004), по которому внутривидовая генетическая изменчивость должна быть на порядок меньше межвидовой. Если проанализировать вариабельность только среди пресноводных популяций тюльки и только для Верхней Волги (Karabanyov et al., 2022),

то внутривидовая изменчивость по гену COX1 составит 0.29%. При анализе всех пресноводных популяций рек Волги (без учета незарегулированного участка) и Камы изменчивость составляет 1.34%, что соответствует уровню дифференциации между “морскими” и “пресноводными” тюльками в целом. Фактически идентичность последовательностей mtДНК двух предполагаемых видов *C. cultriventris* и *C. tscharchalensis* слишком высока, чтобы их можно было отличить друг от друга не только по последовательности области COX1, применяемой для ДНК-баркодинга, но и при рассмотрении митогенома целиком.

Ранее были предложены морфологические ключи для различия этих двух видов (Kottelat, Freyhof, 2007), однако диагностические признаки разных тюлок в них перекрываются, и единственным “признаком” для различения видов служит регион обитания животного. Более того, среди тюлок из разных бассейнов представлены аналогичные гаплотипы COX1 (Karabanyov et al., 2022), что тоже не подтверждает существование географически обособленных независимых филогенетических линий. Имеющиеся различия в частотах аллозимов между морскими и пресноводными популяциями тюльки (Karabanyov, Kodukhova, 2018), вероятнее всего, имеют адаптационное значение и не могут служить целям делимитации видов. Наблюдающиеся некоторые морфологические различия между популяциями тюлок из разных водоемов также объясняются локальными условиями обитания (Kasyanov, 2009) и не позволяют определить межвидовой хиатус.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В этом исследовании представлена проаннотированная полная последовательность митохондриальной ДНК черноморско-каспийской тюльки из Рыбинского водохранилища (р. Волга). Митогеном имеет длину 16 650 пн с консервативным расположением генов и включает типичный для рыб набор из 2 генов рибосомальной РНК, 22 генов транспортной РНК, 13 генов, кодирующих белок, и одной некодирующей области контролльного региона. Структура митохондриального генома *C. cultriventris* из пресного Рыбинского водохранилища была гомологична таковой у экземпляра из Каспийского моря. Анализ нуклеотидной изменчивости полного митохондриального генома пресноводных и морских тюлок не дает оснований к разделению вида *C. cultriventris* на несколько независимых таксонов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ МАТЕРИАЛ

Дополнительные материалы размещены в электронном виде по DOI статьи: 10.31857/S0320965225010191.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую признательность администрации Института биологии внутренних вод РАН, Центру коллективного пользования “Научный флот Института биологии внутренних вод РАН”, команде и научному составу научно-экспедиционного судна “Академик Топчиеv” за возможность проведения многолетнего мониторинга биологических инвазий в Волжско-Камском бассейне.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Curole J.P., Kocher T.D.* 1999. Mitogenomics: digging deeper with complete mitochondrial genomes // Trends in ecology and evolution. V. 14. № 10. P. 394. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01660-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01660-2)
- FAO yearbook.* 2023. Fishery and Aquaculture Statistics 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. <https://doi.org/10.4060/cc7493en>
- Froese R., Pauly D.*, 2023. FishBase. World Wide Web electronic publication: www.fishbase.org, version 10/2023. www.fishbase.org (accessed 10 January 2024).
- Grant J.R., Enns E., Marinier E. et al.* 2023. Proksee: in-depth characterization and visualization of bacterial genomes // Nucleic Acids Res. V. 51. № W1. P. W484. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad326>
- Hebert P.D.N., Stoeckle M.Y., Zemlak T.S., Francis C.M.* 2004. Identification of birds through DNA barcodes // PLoS Biol. V. 2. № 10. P. e312. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020312>
- Karabanov D.P., Bekker E.I., Pavlov D.D. et al.* 2022. New sets of primers for DNA identification of non-indigenous fish species in the Volga-Kama basin (European Russia) // Water. V. 14. № 3. P. e437. <https://doi.org/10.3390/w14030437>
- Karabanov D.P., Kodukhova Y.V.* 2018. Biochemical polymorphism and intraspecific structure in populations of Kilka *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840) from natural and invasive parts of its range // Inland Water Biol. V. 11. № 4. P. 496. <https://doi.org/10.1134/S1995082918040107>
- Karabanov D.P., Pavlov D.D., Dgebuadze Y.Y. et al.* 2023. A dataset of non-indigenous and native fish of the Volga and Kama Rivers (European Russia) // Data. V. 8. № 10. P. 154. <https://doi.org/10.3390/data8100154>
- Kasyanov A.N.* 2009. Study of some meristic features in the Black Sea Caspian kilka (*Clupeonella cultriventris*, Clupeidae) introduced in Volga River reservoirs // J. Ichthyol. V. 49. № 8. P. 642. <https://doi.org/10.1134/S0032945209080086>
- Kiyashko V.I., Karabanov D.P., Yakovlev V.N., Slyn'ko Y.V.* 2012. Formation and development of the Black Sea-Caspian kilka *Clupeonella cultriventris* (Clupeidae) in the Rybinsk reservoir // J. Ichthyol. V. 52. № 8. P. 537. <https://doi.org/10.1134/S0032945212040042>
- Kottelat M., Freyhof J.* 2007. Handbook of European freshwater fishes. Cornell: Publications Kottelat.
- Lavoue S., Miya M., Musikasinthorn P. et al.* 2013. Mitogenomic evidence for an Indo-West Pacific origin of the Clupeoidei (Teleostei: Clupeiformes) // PLoS ONE. V. 8. № 2. P. e56485. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056485>
- Lavoue S., Miya M., Saitoh K. et al.* 2007. Phylogenetic relationships among anchovies, sardines, herrings and their relatives (Clupeiformes), inferred from whole mitogenome sequences // Molecular phylogenetics and evolution. V. 43. № 3. P. 1096. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.09.018>
- Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M.* 2012. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit // Bioinformatics. V. 28. № 8. P. 1166. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
- Phillips J.D., Gillis D.J., Hanner R.H.* 2022. Lack of statistical rigor in DNA barcoding likely invalidates the presence of a true species' barcode gap // Frontiers in ecology and evolution. V. 10. P. 859099. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.859099>
- Reshetnikov Y.S., Bogutskaya N.G., Vasil'eva E.D. et al.* 1997. An annotated check-list of the freshwater fishes of Russia // J. Ichthyol. V. 37. № 9. P. 687.
- Rheindt F.E., Bouchard P., Pyle R.L. et al.* 2023. Tightening the requirements for species diagnoses would help integrate DNA-based descriptions in taxonomic practice // PLoS Biol. V. 21. № 8. P. e3002251. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002251>
- Sato K., Akiyama M., Sakakibara Y.* 2021. RNA secondary structure prediction using deep learning with thermodynamic integration // Nature Commun. V. 12. № 1. P. 941. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21194-4>
- Satoh T.P., Miya M., Mabuchi K., Nishida M.* 2016. Structure and variation of the mitochondrial genome of fishes // BMC Genomics. V. 17. № 1. P. 719. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3054-y>
- Svetovidov A.N.* 1963. Clupeidae: Fauna of U.S.S.R. – Fishes. V. II. Number 1. Jerusalem, Israel: Israel Program for Scientific Translations.
- Tamura K., Stecher G., Kumar S.* 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11 // Mol. Biol. and Evol. V. 38. № 7. P. 3022. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Wang Q., Purrafee Dizaj L., Huang J. et al.* 2022. Molecular phylogenetics of the Clupeiformes based on exon-capture data and a new classification of the order // Molecular Phyl. and Evol. V. 175. P. 107590. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2022.107590>
- Whitehead P.J.P.* 1985. FAO species catalogue. Volume 7 – Clupeoid fishes of the World (suborder Clupeoidei). Part 1 – Chirocentridae, Clupeidae and Pristigasteridae. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Yang C.-H., Chang H.-W., Ho C.-H. et al.* 2011. Conserved PCR primer set designing for closely-related species

to complete mitochondrial genome sequencing using a sliding window-based PSO algorithm // PLoS ONE. V. 6. № 3. P. e17729.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017729>

Zhu T., Sato Y., Sado T. et al. 2023. MitoFish, MitoAnnotator, and MiFish Pipeline: updates in 10 years // Mol. Biol. and Evol. V. 40. № 3. P. 035.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msad035>

Characterization and Phylogenetic Significance of the Complete Mitochondrial Genome of *Clupeonella cultriventris* (Actinopterygii: Clupeiformes), a Nonindigenous Fish Species of the Rybinsk Reservoir (Volga River)

D. P. Karabanov^{1,*}, Y. V. Kodukhova¹, A. A. Kotov²

¹Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, Borok, Nekouzsky raion, Yaroslavl oblast, Russia

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

*e-mail: dk@ibiw.ru

The Black and Caspian Sea Sprat, or Tyulka (Kilka or Sardelka) *Clupeonella cultriventris* (Nordmann, 1840) (Actinopterygii: Clupeiformes) is a small pelagic species, the most abundant nonindigenous fish species of the Volga-Kama basin playing an important role as one of the key elements of food webs in freshwater ecosystems. In this paper, we characterize the complete mitochondrial genome of Tulka from an unambiguously adventive population of the Upper Volga (58.38861 N, 38.32694 E). Voucher identification was performed both by morphological characters and a DNA sequence blast against the GenBank international database. For sequencing of the complete mitochondrial genome, a classical Sanger sequencing was applied with the PCR product from a set of 48 primer pairs giving a complete overlapping and unambiguous reading of each nucleotide in at least two replications. Annotated full mitogenome of *C. cultriventris* with length of 16650 bp has a gene arrangement characteristic of (and conservative) Clupeiformes contains 22 transport RNAs, 13 protein-coding genes, two ribosomal RNAs, and a single noncoding region. This mitochondrial genome demonstrates a 98.7% similarity to the previously studied one from the Black Sea. Based on these data, there are no sufficient reasons to separate the freshwater Sprat of the Volga-Kama region into a separate taxon.

Keywords: Clupeiformes, Black and Caspian Sea Sprat, *Clupeonella cultriventris*, nonindigenous species, complete mitochondrial genome, genomics