## Молекулярная генетика

Рубрика

https://doi.org/10.31043/2410-2733-2020-1-37-43 УДК 576.312:597.587

С. П. Пустовойт, Р. Р. Юсупов

# Биоинформационный анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена цитохромоксидаза мтДНК палтусов (*Pleuronectidae*)

Аннотация. Проведен сравнительный биоинформационный анализ нуклеотидного состава участка гена цитохромоксидаза субъединицы 1 мтДНК североохотоморских палтусов с представителями других родов палтусов. Статистический анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена цитохромоксидаза 1 (Со-1) мтДНК тихоокеанского белокорого палтуса Hippoglossus stenolepis позволил оценить гаплотипическое разнообразие — 0,852±0,0059, нуклеотидное — 0,00430±0,009465. Около 1% от всей величины нуклеотидного разнообразия у особей белокорого палтуса определяется генетическим различиями между североохотоморскими и североамериканскими популяциями. Анализ нуклеотидных последовательностей этого деятельностей этого же гена у тихоокеанского черного палтуса Reinhardtius hippoglossoides matsuurae определил гаплотипическое разнообразие — 0,806±0,0399, нуклеотидное разнообразие — 0,00185±0,000149. Около 6% общей величины нуклеотидного разнообразие — 0,806±0,0399, определяется межпопуляционными различиями между особщей величины и соверования попродения и популяция у таличия и североамериканскими популяциями. Анализ нуклеотидных последовательностей этого же гена у тихоокеанского черного палтуса Reinhardtius hippoglossoides matsuurae определил гаплотипическое разнообразие — 0,806±0,0399, нуклеотидное разнообразие — 0,00185±0,000149. Около 6% общей величины нуклеотидного разнообразия определяется межпопуляционными различиями между особями, отловленными в восточной и западной части ареала.

Минимальная величина гаплотипического разнообразия определена у северной палтусовидной камбалы Hippoglossoides robustus, при этом у второго вида данного рода Hippoglossoides platessoides гаплотипическое разнообразие сходно с представителями двух других родов Cleisthenes и Hippoglossus. Максимальное значение гаплотипического разнообразия найдено у остроголовой камбалы — Cleisthenes herzensteini, представители родов Atheresthes и Reinchardtius имеют промежуточные значения. Вид Atheresthes stomias резко отделен от видов прочих родов, что связано с высокой степенью генетических отличий представителей данного рода от таковых из других родов.

Ключевые слова: тихоокеанский белокорый палтус, тихоокеанский черный палтус, генетическое разнообразие, цитохромоксидаза, Охотское море.

Авторы:

Пустовойт Сергей Павлович — кандидат биологических наук; Северо-Восточный государственный университет; 685000, Россия, Магаданская область, г. Магадан, ул. Портовая, д. 13; e-mail: magadania@rambler.ru;

Юсупов Равиль Рашитович — кандидат биологических наук; НИИ биологических проблем Севера ДВО РАН; 685000, Россия, Магаданская область, г. Магадан, ул. Портовая, д. 18; e-mail: ryusupov\_mag@mail.ru.

**Введение.** Болышеротые камбалы или палтусы входят в состав пяти родов семейства камбаловых (Pleuronectidae, Pleuronectiformes): *Atheresthes* Jordan et Gilbert, 1880, *Reinchardtius* Gill, 1861, *Hippoglossus* Cuvier, 1816, *Hippoglossoides* Gottsche, 1835, *Cleisthenes* Jordan et Starks, 1904 [1, 2, 3]. Все виды палтусов являются важнейшими промысловыми объектами. Видовой состав камбал и палтусов сильно различается по районам дальневосточных морей, поскольку в каком-то районе обычно преобладает по численности 2–3 вида. В северной части Охотского моря отмечены 16 видов камбаловых рыб семейства Pleuronectidae, палтусы следующие: тихоокеанский белокорый палтус *Hippoglossus stenolepis* Schmidt, 1904, тихоокеанский черный (синекорый) палтус *Reinchardtius hippoglossoides matsuurae* Jordan et Snyder, 1901, узкозубая палтусовидная камбала *Hippoglossoides elassodon* Jordan et Gibert, 1880, северная палтусовидная камбала *Hippoglossoides robustus* Gill et Townsend, 1897, азиатский стрелозубый палтус *Ateresthes evermanni* Jordan et Starks, 1904 [4, 5,]. Промысел базируется на запасах черного палтуса, прочие виды в силу малочисленности промышляются попутно с другими видами. Видовой состав палтусов и численность особей каждого вида весьма сильно различается по регионам дальневосточных морей [6, 7]. По

Биоинформационный анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена цитохромоксидаза мтДНК палтусов (*Pleuronectidae*)

этой причине наибольшие уловы в 2018 г. черного палтуса отмечены в Северо-Охотоморской подзоне, а белокорого — в Западно-Беринговоморской подзоне [8].

Систематика камбаловых рыб и палтусов в частности продолжает оставаться предметом дискуссий. Упомянем только тщательный анализ Купера и Чапелу [9], где авторы полагают необходимым виды рода Atheresthes поместить в состав рода Reinchardtius, а виды рода Cleisthenes не могут быть сведены в состав рода *Hippoglossoides*. Помимо обычно используемых морфологических признаков полезны генетические маркеры, особенно популярен ген цитохромоксидазы митохондриальной ДНК оказавшийся видоспецифическим маркером. Постоянно пополняемая общедоступная база данных о нуклеотидных последовательностях данного гена у растений и животных размещена на сайте www.boldsystems.org, поддерживаемом Центром Геномных Исследований, Канада. Представленные в указанной базе данные позволяют применять базовый инструментарий биоинформатики [10].

В последние годы нуклеотидные последовательности фрагмента указанного гена описаны у ряда видов малоротых камбал, обитающих в северной части Охотского моря [11, 12, 13]. Палтусы данного района моря исследованы с этой точки зрения крайне слабо [14], тогда как в других северных морях Атлантического и Тихого океанов проведены масштабные исследования [15, 16, 17, 18].

Цель исследований — провести сравнительный биоинформационный анализ нуклеотидного состава участка гена цитохромоксидаза субъединицы 1 мтДНК двух видов палтусов, обитающих в северной части Охотского моря, с нуклеотидными последовательностями видов из других родов палтусов, полученных из базы данных.

**Материалы и методика исследований**. Пробы мышц 9 особей синекорого (черного) палтуса *Reinhardtius hippoglossoides matsuurae* и 48 особей тихоокеанского белокорого палтуса *Hippoglossus stenolepis* — собраны из коммерческих уловов северной части Охотского моря.

Выделение ДНК из зафиксированных в этаноле проб мышц и дальнейшее определение нуклеотидных последовательностей фрагмента гена цитохромоксидаза проведено в ЗАО «Синтол» (Москва). Методика данной части работы опубликована ранее [11].

Статистический анализ выравненных последовательностей включал определение гаплотипического ( $h_d$ ) и нуклеотидного ( $\pi$ ) разнообразия для каждого вида с использованием программы DnaSP v5 [19]. Кроме того, в общей величине нуклеотидного разнообразия для каждой пары видов находили внутривидовую и межвидовую долю генетического разнообразия при помощи модуля «Diversity» программы MEGA version 7 [20]. Математические формулы для вычисления указанных величин и обозначения приведены в книге Неи и Кумара [21]. Для конструирования дендрограммы использован модуль максимально вероятного дерева (Maximum Likelihood Tree), реализованный в программе MEGA.

Результаты исследований. Статистический анализ нуклеотидных последовательностей исследованного фрагмента гена цитохромоксидаза мтДНК белокорого палтуса *Hippoglossus stenolepis* показал величину гаплотипического разнообразия равную 0,852±0,0059, нуклеотидного — 0,00430± 0,009465 (табл. 1). Использование дополнительных нуклеотидных последовательностей белокорого палтуса из базы электронного ресурса (www. boldsystems.org,) позволило оценить более полно параметры генетического разнообразия для вида в целом (табл. 1). По сведениям, приведенным на указанном выше сайте видно, что исследованы особи, пойманные в Чукотском и Беринговом морях вдоль побережья Северной Америки (назовем, условно, североамериканская популяция). Обращает на себя внимание несколько меньшие величины параметров генетического разнообразия в североамериканской популяция по сравнению с североохотоморской, что указывает на наличие генетических различий между двумя популяциями. Определим величину указанных различий при помощи разработанного ранее М. Неи [21] метода разложения общей величины генетического разнообразия на внутрипопуляционную и межпопуляционную компоненты. В программе MEGA данный подход использован для показателя нуклеотидного разнообразия ( $\pi$ ). В общей величине нуклеотидного разнообразия белокорого палтуса  $(\pi_{\rm T}=0,00388)$  внутривидовая доля составляет  $\pi_{\rm S}=$ 0,00384, межвидовая б<sub>ST</sub>=0,00004, поэтому показатель нуклеотидной дифференциации, характеризующий величину межпопуляционных различий N<sub>ST</sub>= (0,00004/0,00388)=0,01003. Иными словами, около 1% от всей величины нуклеотидного разнообразия у особей белокорого палтуса определяется генетическим различиями между североохотоморскими и североамериканскими популяциями. Наличие отличий по некоторым биологическим параметрам (удельная скорость роста) также указывает на обособленность указанных популяций [7].

Анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена цитохромоксидаза мтДНК тихо-

океанского черного палтуса *Reinhardtius hippoglossoides matsuurae* североохотоморской популяции позволил оценить гаплотипическое разнообразие величиной 0,806±0,0399, нуклеотидное разнообразие — 0,00185±0,000149. Используя описанный для предыдущего вида подход можно оценить величину генетическую дифференциацию между североохотоморскими и североамериканскими популяциями в величину N<sub>ST</sub> = (0,00013/0,06084)= 0,05991. Около 6% общей величины нуклеотидного разнообразия ( $\pi_T$ =0,00217) определяется межпопуляционными различиями.

По обоим исследованным параметрам генетическое разнообразие белокорого палтуса *Hippoglos*sus stenolepis больше, чем черного *Reinhardtius hippoglossoides matsuurae* (табл. 1).

Сравним показатели генетического разнообразия у представителей всех родов палтусов. Минимальная величина гаплотипического разнообразия определена у северной палтусовидной камбалы *Hippoglossoides robustus*, при этом у второго вида этого рода *Hippoglossoides platessoides* гаплотипическое разнообразие сходно с представителями двух других родов *Cleisthenes* и *Hippoglossus*. Максимальное значение гаплотипического разнообразия найдено у остроголовой камбалы — *Cleisthenes herzensteini*, представители родов *Atheresthes* и *Reinchardtius* имеют промежуточные значения.

По формуле для показателя нуклеотидного разнообразия максимальное значение оценено для вида *Hippoglossoides platessoides*, минимальное — в североохотоморской популяции *Reinchardtius hippoglossoides*. Скорее всего, в последнем случае это связано с небольшим объемом выборки.

По величине показателя нуклеотидной дифференциации (N<sub>ST</sub>), подсчитанного для всех возможных комбинаций пар видов палтусов, наиболее высокие величины N<sub>ST</sub> обнаружены для *Reinchardtius hippoglossoides* при сопоставлении его разнообразия со всеми другими видами. Почти во всех случаях попарного сравнения большая часть нуклеотидного разнообразия определяется генетическими различиями между особями из

Nº	Вид	Кол-во особей (m)	Кол-во нуклео- тидов (n)	Число пол-ых сайтов (s)	Доля по- лиморф- ных сай- тов (р <sub>s</sub> )	Кол-во гаплоти- пов (h)	Гаплоти- пическое разнооб- разие (Hd <u>+</u> s)	Нуклео- тидное разнооб- разие ( <u>π±</u> s)	Модель замен (ML)
1	Atherestes stomias	26	616	21	0,0341	10	$_{0,745\pm}^{0,745\pm}$	$_{0,00445\pm}^{0,00445\pm}_{0,000248}$	K2
2	Cleisthenes herzensteini	10	652	7	0,0107	6	$_{0,889\pm}^{0,889\pm}_{0,0238}$	$\substack{0,00361\pm\\0,000173}$	JC
3	Hippoglossoides platessoides	40	639	26	0,0407	16	$_{0,824\pm}^{0,824\pm}$	$\begin{array}{c} 0,00869 \pm \\ 0,000101 \end{array}$	К2
4	Hippoglossoides robustus	50	582	20	0,0344	17	$0,640\pm 0,0402$	$\begin{array}{c} 0,00359 \pm \\ 0,000001 \end{array}$	K2
5	Hippoglossus hippoglossus	22	652	13	0,0199	10	$0,840\pm 0,0416$	$\begin{array}{c} 0,00295 \pm \\ 0,000116 \end{array}$	K2
6	<i>Hippoglossus</i> <i>stenolepis</i> (Охотское море)	48	651	29	0,0446	15	$0,871\pm 0,0041$	$0,00430\pm 0,009465$	JC
7	<i>Hippoglossus</i> <i>stenolepis</i> (электр. ресурс)	45	652	19	0,0291	7	$0,852\pm 0,0059$	$0,00337\pm 0,000047$	K2
8	Hippoglossus stenolepis (все)	93	651	42	0,0645	28	$0,869 \pm 0,0023$	${0,00388\pm \atop 0,000046}$	JC
9	Reinchardtius hippoglossoides matsuurae (Охотское море)	9	659	4	0,0061	5	$0,806\pm 0,0399$	$0,00185\pm 0,000149$	К2
10	<i>Reinchardtius</i> <i>hippoglossoides</i> (электр. ресурс)	51	648	15	0,0231	15	$0,709\pm 0,0095$	$0,00219 \pm \\ 0,000044$	К2
11	Reinchardtius hippoglossoides (Bce)	60	648	17	0,0262	17	$_{0,744\pm}^{0,744\pm}_{0,0071}$	$\begin{array}{c} 0,00217 \pm \\ 0,000041 \end{array}$	К2

Таблица 1. Параметры генетического разнообразия видов из каждого рода палтусов

Биоинформационный анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена цитохромоксидаза мтДНК палтусов (*Pleuronectidae*)

разных видов, а не между особями одного вида (табл. 2). Исключение составляет сравнение черного палтуса с видом камбалой-ершом *Hippoglossoides platessoides*, причина в том, что для камбалы-ерша характерны в большинстве случаев сравнения с другими видами самые низкие величины показателя  $N_{ST}$ . Парадоксально, что показатель  $N_{ST} = 0,98189$  для камбалы-ерша максимален при сравнении другим видом этого же рода — северной палтусовидной камбалой *Hippoglossoides robustus*. Скорее всего, это объясняется тем, что камбала-ерш обитает в северной части Атлантического океана, а северная палтусовидная камбала.

Два других вида, входящих в состав рода Hippoglossus, имеют аналогичный показатель  $N_{ST}$ = 0,98426. Можно предположить, что данная величина может трактоваться как уровень межвидовых отличий, поскольку она сходна с таковой для пары видов рода *Hippoglossoides* (табл. 2).

Обращают на себя внимание высокие значения межвидовых различий для представителя рода *Atheresthes* при сравнении с представителями других родов. Существует точка зрения, сформулированная при изучении морфологических особенностей костей черепа у разных видов камбаловых рыб, что данный род должен быть сведен в род *Reinhardtius* (Cooper, Chapleau, 1998). Проведенное нами сопоставление нуклеотидных различий не поддерживает данную точку зрения, поскольку показатель генетической дифференциации соответствует уровню межродовых отличий у большинства сравниваемых видов.

Графическое представление филогенетических отношений исследованных видов указано на рисунке 1. Почти все виды разных родов объединяются в родовые группировки, наиболее близкими оказались виды родов Cleisthenes herzensteini, Hippoglossoides platessoides и Hippoglossus hippoglossus. Два других вида последних родов Hippoglossoides robustus и Hippoglossus stenolepis составили отдельный кластер. Виды рода Нірpoglossus оказались в разных группировках особей. Скорее всего, это связано с разными уровнями межвидовых отличий, оцениваемых по морфологическим признакам, и аналогичными, получающимися по нуклеотидным последовательностям гена цитохромоксидаза мтДНК. Вид Atherestes stomias резко отделен от видов прочих родов, что связано с высокой степенью генетических отличий представителей данного рода.

Таблица 2. Выше диагонали показатель нукле	отидного разнообразия, полученного для пары							
видов ( $\pi_{\mathrm{T}}$ ), ниже диагонали величина межв	идового нуклеотидного разнообразия (б <sub>ST</sub> ),							
в скобках его доля (N <sub>ST</sub> )								

	Atheresthes stomias	Cleisthenes herzensteini	Hippoglos- soides platessoides	Hippoglos- soides robustus	Hippoglossus hippoglossus	Hippoglossus stenolepis	Rein- chardtius hippoglos- soides
Atheresthes stomias		0,29906	0,36084	0,35885	0,36933	0,25354	0,32544
Cleisthenes herzensteini	0,29493 (0,98619)		0,03331	0,23195	0,06365	0,12525	0,18647
Hippoglos- soides platessoides	0,35464 (0,98280)	0,02663 (0,79935)		0,36527	0,06655	0,27810	0,35399
Hippoglos- soides robustus	0,35466 (0,98834)	0,22832 (0,98435)	0,35865 (0,98189)		0,33532	0,05763	0,33361
Hippoglossus hippoglossus	0,36582(0,9 949)	0,06036 (0,94841)	0,06020 (0,90452)	0,33198 (0,99006)		0,21705	0,29784
Hippoglossus stenolepis	0,24948 (0,98396)	0,12150 (0,97008)	0,27140 (0,97591)	0,05384 (0,93419)	0,21363 (0,98426)		0,33114
Rein- chardtius hippoglos- soides	0,32217 (0,98996)	0,18356(0,9 844)	0,22529 (0,63642)	0,33268 (0,99124)	0,29527 (0,99139)	0,32812 (0,99087)	



Рис. 1. Филогенетические связи представителей родов палтусов по нуклеотидным последовательностям фрагмента гена цитохромоксидаза 1 (*Co-1*) мтДНК. Статистический подход – максимально вероятностный метод (maximum likelihood method), основан на 2-х параметрической модели Кимуры

#### Литература

- 1. Андрияшев А. Н. Рыбы северных морей СССР / А. Н. Андрияшев / М.-Л.: Издательство Академии Наук СССР. 1954. 568 с.
- 2. Линдберг Г. У. Рыбы Японского моря и сопредельных частей Охотского и Желтого морей / Г. У. Линдберг, В.В.Федоров // СПб.: Наука. — 1993. — 272 с.
- Фадеев Н. С. Справочник по биологии и промыслу рыб северной части Тихого океана / Н. С.Фадеев// Владивосток: ТИНРО-Центр. – 2005. – 366 с.
- 4. Соколовский А. С. Рыбы российских вод Японского моря / А. С. Соколовский, В. А. Дударев, Т. Г. Соколовская, С. Ф. Соломатов // Владивосток: Дальнаука. 2007. 200 с.
- 5. Федоров В. В. Каталог морских и пресноводных рыб северной части Охотского моря / В. В. Федоров, И. А. Черешнев, М. В. Назаркин, А. В. Шестаков // Владивосток: Дальнаука. 2003. 204 с.
- 6. Дьяков Ю. П. Распространение и зоогеографическая характеристика камбалообразных рыб (Pleuronectiformes) Дальневосточных морей России/Ю.П.Дьяков // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. — 2007. — Вып. 9. — С. 205—229.
- 7. Юсупов Р. Р. Морфобиологические особенности, промысел и рыбохозяйственный статус белокорого палтуса *Hippoglossus stenolepis* (Pleuronectidae) в северной части Охотского моря / Р. Р. Юсупов, А. С. Лачугин, А. Н. Михайлов, М. В. Ракитина // Вестник СВНЦ ДВО РАН. 2008. № 1. С. 61-71.
- 8. Антонов Н. П. Использование сырьевой базы морских рыб в Дальневосточном рыбохозяйственном бассейне в 2018 году / Н. П.Антонов, А.В.Датский // Рыбное хозяйство. 2019. № 3. С. 66—76.
- 9. Cooper J. A. Monophyly and interrelationships of the family Pleuronectidae (Pleuronectiformes), with a revised classification / J. A. Cooper, F. Chapleau // Fishery Bulletin. 1998. № 96(4). P. 686–726.
- 10. Стефанов В. Е. Биоинформатика / В. Е. Стефанов, А. А.Тулуб, Г. Р. Мавропуло-Столяренко // М.; Издательство Юрайт. 2019. 252 с.
- 11. Потапова Н. А. Анализ нуклеотидных последовательностей гена цитохромоксидазы 1 (*CO1*) мтДНК полярной *Liopsetta glacialis* и полосатой *Liopsetta pinnifasciata* камбал (Pleuronectidae) Охотского моря /Н.А.Потапова, С. П. Пустовойт, Р. Р. Юсупов // Цитология и генетика. 2014. Т. 48. № 6. С.11-16.
- 12. Пустовойт С. П. ДНК штрих-кодирование хоботной камбалы (*Myzopsetta proboscidea*) из Тауйской губы, Охотское море / С. П. Пустовойт, Р. Р. Юсупов // Вестник СВГУ. 2016. Вып. 24. С. 42–46.

- 13. Пустовойт С. П. Генетическая дифференциация желтоперой камбалы (*Limanda aspera*) Тауйской губы, выявленная по нуклеотидным последовательностям фрагмента гена цитохрома b мтДНК / С. П. Пустовойт, Р. Р. Юсупов Р. Р. // Известия ТИРНО. 2015 Т. 183. С. 89–96.
- Пустовойт С. П. Анализ изменчивости нуклеотидной последовательности фрагмента гена цитохромоксидазы 1 мтДНК у тихоокеанского белокорого палтуса (*Hippoglossus stenolepis*) Охотского моря / С. П. Пустовойт, Р. Р. Юсупов // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. – 2015. – № 36. – С. 25–33.
- 15. Kartavtsev Y. Ph. Cytochrome oxidase 1 gene sequence analysis in six flatfish species (Teleostei, Pleuronectidae) of Far East Russia with inferences in phylogeny and taxonomy / Y. Ph. Kartavtsev, S. N. Sharina, T. Goto, A. Y. Chichvarkhin, A. A. Balanov, K. A. Vinnikov, V. N. Ivankov, N. Nanzawa // Mitochondrial DNA. 2008. № 19(6). P. 479–489.
- 16. Knebelsberg T. A reliable DNA barcode reference library for the identification of the North European shall fish fauna. / T. Knebelsberg, M. Landi, H. Neumann, M. Kloppmann, A. F. Sell, P. Campbell, S. Laakmann, M. J. Raupach, G. Carvalho, F. Costa // Molecular Ecology Resources. 2014. № 14(5). P. 1060-1071.
- 17. Mecklenburg C. W. Biodiversity of arctic marine fishes: taxonomy and zoogeography / C. W. Mecklenburg, P. R. Moller, D. Steinke // Marine Biodiversity. 2001. №41. P.109-140.
- McCusker M. R. Barcoding Atlantic Canada's commonly encountered marine fishes / M. R. McCusker, D. Denti, van L. Guelpen, E. Kenchington, P. Bentzen // Molecular Ecology Resources. - 2012. -№ 13(2). - P. 177-188.
- 19. Librado P. Dna SP v5. A software for comprehensive analysis of DNA polymorphic data / P. Librado, J. Rosas // Bioinformatics. 2009. № 3. P. 1451–1452.
- 20. Kumar S. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7 for bigger datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // Molecular Biology and Evolution. 2016. № 33. P. 1870-1874.
- 21. Nei M. Molecular evolution and Phylogenetics / M. Nei. S. Kumar // Oxford University Press. 2000. 333 p.

#### Pustovoit S., Yusupov R.

### Bioinformation analysis of nucleotide sequences of the fragment of the gene cytochrome oxidase of halibut (*Pleuronectidae*)

**Abstract.** Comparative bioinformation analysis of nucleotide composition of subunit 1 cytochrome oxydase gene (Co-1) mtDNA subunit of north-okhotomore population with representatives of other halibut genera was carried out. Statistical analysis of nucleotide sequences of a fragment of the gene cytochrome oxidase mtDNA of pacific halibut Hippoglossus stenolepis: haplotype diversity 0.852±0.0059, nucleotide 0.00430±0.009465. About 1% of the total value of nucleotide diversity in individuals from eastern and western regions is determined. Analysis of nucleotide sequences of the same gene in pacific greenland halibut Reinhardtius hippoglossoides matsuurae: haplotype diversity was 0.806  $\pm$  0.0399, nucleotide diversity — 0.00185 $\pm$ 0.000149. About 6% of the relative value of nucleotide diversity is determined by interpopulation differences.

The minimum value of haplotype diversity was determined in the northern halibut flounder Hippoglossus robustus, while in the second species of this genus Hipploglossus platessoides, the haplotype diversity is similar to the representatives of two genera Cleisthenes and Hippoglossus. The maximum value of haplotypic diversity was found in the Cleisthenes herzensteini, representatives of the Atherestes and Reinchardtius genera have intermediate values. The species Atherestes stomias is sharply separated from species of other genera, which is associated with a high degree of genetic differences between representatives of this genus and those from other genera.

**Key words:** pacific halibut, pacific greenland halibut, genetic diversity, cytochrome oxidase, Sea of Okhotsk. *Authors:* 

**Pustovoit S.** — PhD (Biol. Sci.); Northeastern State University; 685000, Russia, Magadan region, Magadan, st. Portovaya, d. 13; e-mail: magadania@rambler.ru;

**Yusupov R.** — PhD (Biol. Sci.); Research Institute of Biological Problems of the North FEB RAS; 685000, Russia, Magadan region, Magadan, st. Portovaya, d. 18; e-mail: ryusupov\_mag@mail.ru.

#### References

- 1. Andriyashev A. N. Fishes of the North Seas of the USSR / A. N. Andriyashev // M.-L.: Publishing House of the USSR Academy of Sciences. 1954. 568 p.
- Lindberg G. U. Fishes of the Sea of Japan and adjacent parts of the Sea of Okhotsk and the Yellow Sea / G. W. Lindberg, V. V. Fedorov // St. Petersburg: Science. – 1993. – 272 p.
- 3. Fadeev N. S. Handbook of biology and fishing for fish in the North Pacific / N. S. Fadeev // Vladivostok: TINRO-Center. 2005. 366 p.
- Sokolovsky A. S. Fishes of the Russian waters of the Sea of Japan / A. S. Sokolovsky, V. A. Dudarev, T. G. Sokolovskaya, S. F. Solomatov // Vladivostok: Dalnauka. – 2007. – 200 p.
- 5. Fedorov V. V. Catalog of marine and freshwater fish of the northern part of the Sea of Okhotsk / V. V. Fedorov, I. A. Chereshnev, M. V. Nazarkin, A. V. Shestakov // Vladivostok: Dalnauka. 2003. 204 p.
- Dyakov Yu. P. Distribution and zoogeographic characteristics of flatfish (Pleuronectiformes) of the Far Eastern seas of Russia / Yu. P. Dyakov // Studies of water biological resources of Kamchatka and the northwestern Pacific. – 2007. – Issue 9. – P. 205–229.
- 7. Yusupov R. R. Morphobiological features, fishing and fishery status of white halibut *Hippoglossus stenolepis* (Pleuronectidae) in the northern part of the Sea of Okhotsk / R. R. Yusupov, A. S. Lachugin, A. N. Mikhailov, M. V. Rakitina // Bulletin of SSCC FEB RAS. 2008. № 1. P. 61-71.
- Antonov N. P. Use of the raw material base of marine fish in the Far Eastern fisheries basin in 2018 / N. P. Antonov, A. V. Datsky // Fisheries. - 2019. - №. 3. - P. 66-76.
- 9. Cooper J. A. Monophyly and interrelationships of the family Pleuronectidae (Pleuronectiformes), with a revised classification / J. A. Cooper, F. Chapleau // Fishery Bulletin. 1998. № 96(4). P. 686-726.
- Stefanov V. E. Bioinformatics / V. E. Stefanov, A. A. Tulub, G. R. Mavropulo-Stolyarenko // M.; Publishing house Yurayt. – 2019. – 252 p.
- Potapova N. A. Analysis of the nucleotide sequences of the cytochrome oxidase 1 (CO1) mtDNA gene of polar *Liopsetta glacialis* and striped *Liopsetta pinnifasciata* flounders (Pleuronectidae) of the Sea of Okhotsk / N. A. Potapova, S. P. Pustovoit, R. R. Yusupov // Cytology and genetics. 2014. Vol. 48. №6. P. 11-16.
- Pustovoit S. P. DNA bar coding of the trunk flounder (*Myzopsetta proboscidea*) from the Tauisk Bay, Sea of Okhotsk / S. P. Pustovoit, R. R. Yusupov // Bulletin of the North-Eastern State University. – 2016. – Issue. 24. – P. 42–46.
- Pustovoit S. P. Genetic differentiation of the yellowfin flounder (*Limanda aspera*) of the Taui Bay, identified by the nucleotide sequences of the mtDNA cytochrome b gene fragment / S. P. Pustovoit, R. R. Yusupov R. R. // Izvestiya Tyrno. - 2015. - Vol. 183. - P. 89–96.
- 14. Pustovoit S. P. Analysis of the nucleotide sequence variability of a 1 mtDNA cytochrome oxidase gene fragment in the Pacific White Halibut (*Hippoglossus stenolepis*) of the Sea of Okhotsk / S. P. Pustovoit, R. R. Yusupov // Studies of water biological resources of Kamchatka and the northwestern part Pacific Ocean. 2015. № 36. P. 25-33.
- 15. Kartavtsev Y. Ph. Cytochrome oxidase 1 gene sequence analysis in six flatfish species (Teleostei, Pleuronectidae) of Far East Russia with inferences in phylogeny and taxonomy / Y. Ph. Kartavtsev, S. N. Sharina, T. Goto, A. Y. Chichvarkhin, A. A. Balanov, K. A. Vinnikov, V. N. Ivankov, N. Nanzawa // Mitochondrial DNA. 2008. № 19(6). P. 479–489.
- 16. Knebelsberg T. A reliable DNA barcode reference library for the identification of the North European shall fish fauna. / T. Knebelsberg, M. Landi, H. Neumann, M. Kloppmann, A. F. Sell, P. Campbell, S. Laakmann, M. J. Raupach, G. Carvalho, F. Costa // Molecular Ecology Resources. 2014. № 14(5). P. 1060-1071.
- Mecklenburg C. W. Biodiversity of arctic marine fishes: taxonomy and zoogeography / C. W. Mecklenburg, P. R. Moller, D. Steinke // Marine Biodiversity. 2001. № 41. P. 109-140.
- McCusker M. R. Barcoding Atlantic Canada's commonly encountered marine fishes / M. R. McCusker, D. Denti, van L. Guelpen, E. Kenchington, P. Bentzen // Molecular Ecology Resources. - 2012. -№ 13(2). - P. 177-188.
- Librado P. Dna SP v5. A software for comprehensive analysis of DNA polymorphic data / P. Librado, J. Rosas // Bioinformatics. – 2009. – № 3. – P. 1451–1452.
- 20. Kumar S. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7 for bigger datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // Molecular Biology and Evolution. 2016. № 33. P. 1870-1874.
- 21. Nei M. Molecular evolution and Phylogenetics / M. Nei. S. Kumar // Oxford University Press. 2000. 333 p.