

УДК 575.22:597.442

ІНФОРМАТИВНІСТЬ МІКРОСАТЕЛІТНИХ МАРКЕРІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ПОПУЛЯЦІЙ БІЛОГО (*HYPOPHthalmichthys molitrix*) ТА СТРОКАТОГО (*ARISTICHthys nobilis*) ТОВСТОЛОБИКІВ

І. І. ГРИЦІНЯК, О. В. ЗАЛОЇЛО, С. І. ТАРАСЮК, Н. А. БОРИСЕНКО

Інститут рибного господарства НААН (Київ, Україна)
ozaloilo@yahoo.com

В статті проаналізовано генотипи особин популяції білого (*Hypophthalmichthys molitrix*) та строкатого (*Aristichthys nobilis*) товстолобиків ВАТ «Донрибкомбінат» Донецької обл., Лиманське ДВСРП Харківської обл., ДП рибгосп «Галицький» Івано-Франківської обл. за трьома мікросателітними маркерами: MFW 15, MFW 23, MFW 06. Для груп строкатого товстолобика з різних популяцій виявлено наявність двох спільних алельних варіантів: 158 п.н. та 174 п.н. за маркером MFW 15, а також алелів 82 п.н., 141 п.н., 153 п.н. та 212 п.н. за маркером MFW 23. При порівнянні стад білого товстолобика за маркером MFW 15 виявлено спільні алельні варіанти 153 п.н. та 254 п.н. Серед використаних мікросателітних маркерів найбільш придатним до популяційного генотипування видів білого і строкатого товстолобиків визначено маркер MFW15: для білого товстолоба ідентифіковано 18 алелів на локус, для строкатого - 14 алелів на локус.

Ключові слова: білий товстолобик, строкатий товстолобик, мікросателітні маркери, локус, алелі, популяція

INVESTIGATION OF MICROSATELLITE LOCI FOR ANALYSIS GENETIC STRUCTURE IN SILVER CARP (*HYPOPHthalmichthys molitrix*) AND BIGHEAD CARP (*ARISTICHthys nobilis*)

I. I. Hrytsyniak, O. V. Zaloilo, S. I. Tarasjuk, N. A. Borisenko

Institute of Fisheries of the NAAS (Kyiv, Ukraine)
ozaloilo@yahoo.com

The genotypes of individuals and populations of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead carp (*Aristichthys nobilis*) of fish farms "Donrybkombinat", "Galician" and «Limanskoe» were analyzed on three microsatellite loci: MFW 15, MFW 23, and MFW 06. A marker MFW 15 was appeared as the most suitable for population genotyping in mentioned above fish species: 18 alleles per locus for silver carp and 14 alleles per locus for bighead carp were identified. The two common allelic variants of 158 bp (base pairs) and 174 bp on the marker MFW 15 and also the two alleles of 82 bp, and 141 bp on the marker MFW 23 were revealed for individuals of bighead carp. Common allelic variants of 153 bp and 254 bp were found when comparing the genetic structure of silver carp stocks on the marker MFW 15.

Key words: silver carp, bighead carp, microsatellite loci, alleles, population

ІНФОРМАТИВНОСТЬ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ АНАЛИЗА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ БЕЛОГО

© І. І. Грициняк, О. В. Залоїло, С. І. Тарасюк, Н. А. Борисенко, 2015

(HYROPHTHALMICHTHYS MOLITRIX) И ПЕСТРОГО (ARISTICHTHYS NOBILIS) ТОЛСТОЛОБИКОВ

И. И. Грициняк, О. В. Залоило, С. И. Тарасюк, Н. А. Борисенко

Институт рыбного хозяйства НААН (Киев, Украина)

ozaloilo@yahoo.com

В статье проанализированы генотипы особей популяций белого (Hyrophthalmichthys molitrix) и пестрого (Aristichthys nobilis) толстолобиков ОАО «Донрыбкомбинат», ГП рыбхоз «Галицкий», и Лиманское ГПСПП по трем микросателлитным локусам: MFW 15, MFW 23, MFW 06. Для особей пестрого толстолобика выявлено наличие двух общих аллельных вариантов 158 п.н. (пар нуклеотидов) и 174 п.н. по маркеру MFW 15, а также аллелей 82 п.н., 141 п.н., 153 п.н. и 212 п.н. по маркеру MFW 23. При сравнении генетической структуры стад белого толстолобика по маркеру MFW 15 определены общие аллельные варианты 153 п.н. и 254 п.н. Среди использованных маркеров наиболее пригодным для популяционного генотипирования видов белого и пестрого толстолобиков определен маркер MFW 15: для белого толстолобика идентифицировано 18 аллелей на локус, для пестрого – 14 аллелей на локус.

Ключевые слова: **белый толстолобик, пестрый толстолобик, локус, микросателлитный маркер, аллели, популяция**

Вступ. Стада товстолобиків в рибних господарствах України представлені як чистопородними, так і гібридними лініями, які характеризуються високим рівнем інбридингу. Варто зазначити, що селекціонери інших країн відзначають подібну ситуацію [1, 2]. Як наслідок – істотно знижуються репродуктивні можливості та резистентність організму риб до ураження збудниками хвороб, що зрештою призводить до зниження життєстійкості та непрогнозованих втрат риби на всіх етапах вирощування та в період зимівлі [3]. Тому для підвищення ефективності селекційної роботи виникає необхідність пошуку інформативних молекулярно-генетичних маркерів, які дали б можливість проведення генетичної інвентаризації популяцій та оцінки рівня гібридизації різних груп товстолобика.

В останні роки в генетиці знайшли застосування нові молекулярні маркери – фрагменти ДНК, відповідних нуклеотидних послідовностей, які входять безпосередньо в структуру гену, або зчеплені з цим геном. Кількість ДНК-маркерів значно перевищує кількість маркерів білків та ізоферментів. Слід наголосити що, аналіз поліморфних систем займає важливе місце в селекції коропових. Аналіз генетичної структури груп товстолобика, шляхом використання методів молекулярної генетики, дозволяє встановити їх походження, ступінь генетичної подібності, а також зміни геному у відповідь на дію факторів штучного та природного відборів. Популяційно-генетичні зміни є інтегральним показником дії різних факторів на геном риб, тому особливе значення має аналіз генетичної структури у селекції товстолобика, вирощеного у внутрішніх водоймах, екологічний стан яких часто змінюється. Генетично обґрунтовані методи оцінки генетичної структури популяції товстолобика та її корекції в конкретних умовах вирощування дозволяють оптимізувати селекційний процес та адаптацію до змін умов середовища.

Ефективним методом у даному аспекті може стати використання мікросателітних маркерів. Порівняльний аналіз генетичної структури з використанням різних типів маркерів є важливим для виявлення систем, найбільш залучених до процесів диференціації та вирішення окремих питань генетики [4]. Наразі для дослідження генетичної структури товстолобика описана значна кількість поліморфних мікросателітних локусів ДНК [5, 6]. Очевидно, що використання відомих та підбір нових мікросателітних маркерів має загальнобіологічне значення і є важливою проблемою сучасного рибництва.

Метою даної роботи була оцінка інформативності використаних мікросателітних маркерів при аналізі генетичної структури та диференціації популяцій білого та строкатого товстолобиків різних племінних господарств України.

Матеріали та методи досліджень. Як матеріал для досліджень використовували зразки крові, відібраної з хвостової вени особин білого та строкатого товстолобиків трьох племінних господарств України, а саме ВАТ «Донрибкомбінат» Донецької обл. (n = 14 ос. б. т.; n = 12 ос. ст. т.); Лиманське ДВСРП Харківської обл. (n = 12 ос. б. т.; n = 12 ос. ст. т.); ДП рибгосп «Галицький» Івано-Франківської обл. (n = 14 ос. б. т.; n = 15 ос. ст. т.).

ДНК виділяли за стандартною методикою з використанням набору Gene JET Whole Blood Genomik DNA Purification Mini Kit (США). Концентрацію та якість очищеної ДНК вимірювали на біофотометрі Eppendorf Bio Photometr (Німеччина).

Для дослідження генетичної структури стад білого та строкатого товстолобиків використовували три мікросателітні локуси: MFW 15, MFW 23, MFW06 [7].

1. Характеристика праймерів, вибраних для аналізу

Маркер	Послідовність праймерів	Концентрація, мкМ	t °C відпалу
MFW 15	F: CTCCTGTTTTGTTTTGTGAAA R: GTTCACAAGGTCATTTCCAGC	0,2	54
MFW 23	F:GTATAATTGGGAGTTTTAGGG R:CAGGTTTATCTCCCTTCTAG	0,2	56
MFW06	F: ACCTGATCAATCCCTGGCTC R:TTGGGACTTTTAAATCACGTTG	0,2	53

ПЛР проводили на ампліфікаторі «Termo scientific» (США) за таким температурним режимом: 5 хв за 94⁰С; 33 цикли: 1 хв за 94⁰С, 30 с за 53–56⁰С (залежно від локусу), 30 с за 72⁰С; 5 хв за 72⁰С. Реакційна суміш об'ємом 25 мкл містила: 67 мМ Tris-HCl (pH 8,8), 17 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01 % Tween-20, 0,2 мМ dNTP, 1 од. Tag-полімерази, 50 нг ДНК, 1,7 мМ MgCl₂ та по 0,2 мкМ праймерів. Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації проводили у 3 % агарозному гелі з використанням 1×ТАЕ-буферу.

Обробку та аналіз гелів проводили за допомогою програми TotalLab v2.01. Частоту кожного амплікону за певним локусом визначали як відсоток від загальної кількості ампліконів за даним локусом [8]. Статистичну обробку отриманих результатів виконували з використанням комп'ютерної програми "Biosys-1" та Excel.

Результати досліджень. Аналіз генетичної структури з використанням мікросателітних маркерів показав, що найбільш поліморфним виявився маркер MFW 15: у білого товстолобика ДВСРП «Лиманське» та ВАТ «Донрибкомбінат» ідентифіковано 7 та 6 алелів на локус, а у строкатого товстолобика ДП «Галицький» ідентифіковано 6 алелів на локус. Порівняно консервативним був маркер MFW 23: у трьох популяцій білого товстолобика визначено по 2 алельні варіанти на локус, а у популяції строкатого товстолобика – по 5 алельних варіантів (табл. 2).

При порівнянні трьох популяцій строкатого товстолобика за мікросателітним маркером MFW 15 виявлена наявність двох спільних алельних варіантів. Так, алель 174 п.о зустрічався з частотою 38,41 % та 42,3 % у стадах ДП рибгосп «Галицький» та ДВСРП «Лиманське» відповідно, а алельний варіант 158 п.н. зустрічався з частотою 16,2 % та 38,0 % у популяціях ВАТ «Донрибкомбінат» та ДВСРП «Лиманське».

При дослідженні стад білого товстолобика за даним маркером встановлено спільні алельні варіанти: 153 п.н. виявлено у особин з усіх досліджених господарств, та 254 п.н. – з ВАТ «Донрибкомбінат» (11,11 %) та ДВСРП «Лиманське» (14,3 %).

За мікросателітним маркером MFW 23 було встановлено наявність алельного варіанту 82 п.н. для стад строкатого товстолоба ВАТ «Донрибкомбінат» та ДП рибгосп «Галицький», що зустрічався з однаковою частотою (39,3 %), та спільні алелі у 141 п.н., 153 п.н. та 212 п.н., які зустрічались в популяції ДВСРП «Лиманське» та ДП «Галицький» з різними частотами (табл. 2).

Маркер MFW 6 визначено малоінформативним для дослідження генетичної структури популяцій білого і строкатого товстолобиків, і ми припускаємо, що це може бути пов'язано з

малими розмірами ампліконів, які важко ідентифікувати в 3 % агарозному гелі. В подальшому ми плануємо продовжити наші дослідження з використанням поліакриламідного гелю [9, 10].

2. Частота алельних варіантів (%) у групах білого та строкатого товстолобиків племінних господарств України за використання мікросателітних маркерів

Локус	Довжина ампліконів (п.н.)		ВАТ «Донрибкомбінат»		ДВСРП «Лиманське»		ДП «Галицький»	
	білий	строкатий	(n=14)	(n=12)	(n=12)	(n=12)	(n=14)	(n=15)
MFW 15	82	63	37,0	42,86	21,50	-	11,76	-
	113	132	-	-	-	17,21	29,42	-
	141	158	-	38,0	18,71	16,21	-	-
	153	174	3,70	-	5,82	42,32	11,76	38,41
	160	208	-	-	20,83	21,51	-	-
	174	254	14,81	-	-	-	-	-
	186	270	-	-	-	-	23,53	7,79
	200	293	18,52	19,29	-	-	23,53	-
	248	337	-	-	15,40	-	-	19,33
	254	386	11,11	-	14,30	2,83	-	7,69
	270	415	14,81	-	3,51	-	-	11,54
		472	-	-	-	-	-	15,24
	MFW 23	82	82	50,0	39,30	-	-	-
153		123	50,0	20,16	-	-	-	-
230		138	-	14,35	50,0	37,13	50,0	-
254		141	-	-	50,0	17,30	-	19,45
293		153	-	-	-	22,15	50,0	22,15
		200	-	-	-	5,12	-	-
		212	-	-	-	18,30	-	4,35
		248	-	8,30	-	-	-	-
	261	-	17,89	-	-	-	14,75	

У результаті досліджень трьох популяцій білого та строкатого товстолобиків за мікросателітними локусами ДНК виявлено відмінності в генетичній структурі спектрів алелів. У білого товстолобика найбільша середня кількість алелів спостерігалася у популяції ДВСРП «Лиманське» і склала 4,5 алельних варіантів на локус. Популяції ДП рибгосп «Галицький» та ВАТ «Донрибкомбінат» характеризуються меншими значеннями середньої кількості алельних варіантів на локус – 3,5 та 4,0 відповідно. А серед популяцій строкатого товстолобика найбільша середня кількість алелів була визначена у господарстві ДП рибгосп «Галицький» і склала 5,5 алельних варіантів на локус. У популяції ВАТ «Донрибкомбінат» та ДВСРП «Лиманське» ці значення становили 4,0 та 4,5 алелів відповідно (табл. 3).

Слід зазначити, що середнє значення очікуваної гетерозиготності за всіма локусами в популяціях ДВСРП «Лиманське», ДП рибгосп «Галицький» та ВАТ «Донрибкомбінат» знаходилося практично на однаковому рівні – 0,63-0,67 для білого товстолобика і 0,69-0,74 для строкатого. Рівні середньої фактичної гетерозиготності істотно не відрізняються для строкатого товстолоба в усіх досліджених популяціях.

У сучасних умовах методи генетичного аналізу та геносистематики успішно використовуються в рибництві і дозволяють проводити не тільки ідентифікацію видів, але і встановити еволюційні та філогенетичні зв'язки.

Мікросателіти є одними з найбільш поширених маркерів в дослідженні генетичної структури сільськогосподарських тварин, зокрема вони відіграють суттєву роль для встановлення генетичної структури популяцій риб [11, 12]. Ефективність використання методу мікросателітних маркерів полягає у високій швидкості їх мутаційної мінливості та

кодомінантному характері успадкування, що дозволяє оцінити внутрішньовидовий та міжвидовий поліморфізм.

Сучасні літературні дані свідчать, що найбільш гострою проблемою даного методу є підбір інформативних праймерів [13]. Саме від успішності даного етапу залежить загальна ефективність генетичної ідентифікації.

3. Різноманітність популяцій білого та строкатого товстолобиків за мікросателітними локусами

Вид	n	Середнє число алелів	Но		Не	
			MFW 15	MFW 23	MFW 15	MFW 23
ВАТ «Донрибкомбінат»						
Білий товстолоб	14	4	0,73	0,00	0,77	0,5
			$H_{cep} = 0,37$		$H_{cep} = 0,63$	
Строкатий товстолобик	12	4	0,59	0,70	0,63	0,75
			$H_{cep} = 0,65$		$H_{cep} = 0,69$	
ДП рибгосп «Галицький»						
Білий товстолобик	14	3,5	0,72	0,00	0,77	0,5
			$H_{cep} = 0,36$		$H_{cep} = 0,64$	
Строкатий товстолобик	15	5,5	0,71	0,70	0,77	0,74
			$H_{cep} = 0,71$		$H_{cep} = 0,76$	
ДВСРП «Лиманське»						
Білий товстолобик	12	4,5	0,77	0,00	0,83	0,5
			$H_{cep} = 0,38$		$H_{cep} = 0,67$	
Строкатий товстолобик	12	5	0,59	0,70	0,72	0,75
			$H_{cep} = 0,65$		$H_{cep} = 0,74$	

Порівняльно-аналітичні параметри генетичної структури, отримані за допомогою згаданої методики, перспективні для вирішення широкого кола завдань генетики У зв'язку з цим, в рамках досліджень генетичної структури товстолобика, вже описаний ряд функціональних поліморфних мікросателітних локусів ДНК [14]. Проте, методика оперативного всебічного аналізу генотипу товстолобика перебуває, як і раніше, на стадії розробки, тому підбір нових ефективних мікросателітних маркерів залишається одним із пріоритетних завдань рибництва.

У результаті оцінки інформативності серії праймерів, нами було показано, що для дослідження генетичної структури білого та строкатого товстолобиків ВАТ «Донрибкомбінат» доцільно використовувати мікросателітний маркер MFW 15. Маркер MFW 23 є інформативним лише для строкатого товстолобика.

Таки чином, можна стверджувати, що даний метод аналізу мікросателітних локусів ДНК цілком придатний для популяційного генотипування та аналізу філогенетичних зв'язків видів білого та строкатого товстолобиків. Результати проведених досліджень з використанням методик на основі поліморфізму ДНК-маркерів показали, що для індивідуального генотипування необхідно підбирати високоспецифічні маркери, поліморфізм за якими можна виявляти на рівні особин. Використані нами праймери не дали можливості провести індивідуальне типування за специфічністю спектрів. Даний метод – ефективний інструмент, придатний для видової ідентифікації. Використані праймери дозволили провести міжвидову диференціацію на рівні популяції. Методика надає можливість використання оптимальних SSR молекулярно-генетичних маркерів для подальших популяційно-генетичних досліджень видів українських товстолобиків.

Висновки. Проаналізовано генотипи особин популяції білого (*Hypophthalmichthys molitrix*) та строкатого (*Aristichthys nobilis*) товстолобиків ВАТ «Донрибкомбінат» Донецької обл., Лиманське ДВСРП Харківської обл., ДП рибгосп «Галицький» Івано-Франківської обл.

за трьома мікросателітним маркерами: MFW 15, MFW 23, MFW 06. Для груп строкатого товстолобика з різних популяцій виявлено наявність двох спільних алельних варіантів: 158 п.н. та 174 п.н. за маркером MFW 15, а також алелів 82 п.н., 141 п.н., 153 п.н. та 212 п.н. за маркером MFW 23. При порівнянні стад білого товстолобика за маркером MFW 15 виявлено спільні алельні варіанти 153 п.н. та 254 п.н. Серед використаних мікросателітних маркерів найбільш придатним до популяційного генотипування видів білого і строкатого товстолобиків визначено маркер MFW 15: для білого товстолобика ідентифіковано 18 алелів на локус, для строкатого – 14 алелів на локус.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Avise, J. Molecular markers, natural history and evolution / J. Avise – Champan & Hall. ITP International Thomson Pub. Comp. USA, 2003. – 511 p.
2. Detection of hybridization between Chinese carp species (*Hypophthalmichthys molitrix* and *Aristichthys nobilis*) in hatchery broodstock of Bangladesh, using DNA microsatellite loci / M. Y. Mia, J. B. Taggart, A. E. Gilmour [et al.] // *Aquaculture*. – 2005. – Vol. 247. – P. 267–273.
3. Організація селекційно-племінної роботи в рибництві / М. В. Гринжевський [та ін]. – К. : Рибка моя, 2006. – 352 с.
4. Balloux, F. The estimation of population differentiation with microsatellite markers / F. Balloux, N. Lugon-Moulin // *Molecular Ecology*. – 2002. – Vol. 11. – P. 155–165.
5. Characterization of microsatellite loci in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and cross-amplification in other cyprinid species / A. A. Gheyas, M. Cairney, A. E. Gilmour [et al.] // *Molecular Ecology Notes*. – 2006. – № 3. – P. 455–461.
6. Tong, J. Cross-species amplification in silver carp and bighead carp with microsatellite primers of common carp / J. Tong, Z. Wang, X. Yu [et al.] // *Molecular Ecology Notes*. – 2002. – Vol. 2. – P. 245–247.
7. Mikrosatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio L.*) / R. Crooijmans, V. Bierbooms, J. Komen [et al.] // *Animal Genetics*. – 1997. – V. 28. – P. 129–134.
8. Слуквин, А. М. Генетическая идентификация стерляди, выращенной в ОАО «Рыбхоз «Полесье» Пинского района Брестской области, по микросателлитным маркерам / А. М. Слуквин, О. Ю. Конева, М. И. Лесюк // *Молекулярная и прикладная генетика*. – 2009. – Т. 9. – С. 146–152.
9. Дубін, О. В. Мікросателітні маркери у дослідженні генетичного поліморфізму російського осетра / О. В. Дубін // *Вісник аграрної науки Причорномор'я*. – 2012. – Вип. 4. – Т. 2. – Ч. 1. – С. 70–73.
10. Gheyas, A. A. Characterization of microsatellite loci in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and cross-amplification in other cyprinid species / A. A. Gheyas, M. Cairney, A. E. Gilmour [et al.] // *Molecular Ecology Notes* (Accepted). – 2006. – № 3. – P. 455–461.
11. Ровба, Е. А. Оценка генетического разнообразия пород карпа белорусской селекции с помощью микросателлитных маркеров / Е. А. Ровба, О. Ю. Конева, С. Е. Дромашко // *Актуальные проблемы выращивания и переработки прудовой рыбы : матер. междунар. науч.-техн. интернет-конф.* – Краснодар : ФГБОУ «Кубанский государственный технологический университет», 2012. – С. 22–23.
12. Yang, J. Isolation and characterization of microsatellite loci in the fish *Coilia mystus* (Clupeiformes: Engraulidae) using PCR-based isolation of microsatellite arrays / J. Yang, X. Zhou, D. Liu // *Genet Mol Res*. – 2011. – Vol. 10. – № 3. – P. 1514–1517.
13. Guo, B. Pervasive indels and their evolutionary dynamics after the fish-specific genome duplication / B. Guo, M. Zou, A. Wagner // *Mol Biol Evol*. – 2012. – № 10. – P. 3005–3012.
14. Characterization of microsatellite loci in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and cross-amplification in other cyprinid species / A. A. Gheyas, M. Cairney, A. E. Gilmour [et al.] // *Molecular Ecology Notes* (Accepted). – 2006. – № 3. – P. 455–461.

REFERENCES

1. Avise, J. 2003. *Molecular markers, natural history and evolution*. Champan & Hall. ITP International Thomson Pub. Comp. 511 (USA).
2. Mia, M. Y., J. B. Taggart, and A. E. Gilmour. 2005. Detection of hybridization between Chinese carp species (*Hypophthalmichthys molitrix* and *Aristichthys nobilis*) in hatchery broodstock of Bangladesh, using DNA microsatellite loci. *Aquaculture*. 247:267–273.
3. Hrynzhivs'kyy, M. V., I. M. Sherman, and I. I. Hrytsynyak. 2006. *Orhanizatsiya selektsiyno-pleminnoyi roboty v rybnytstvi - Organization of selection and breeding in fish culture*. Rybka moya, 352 (in Ukrainian).
4. Balloux, F., N. Lugon-Moulin. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 11:155–165.
5. Gheyas, A. A., M. Cairney, and A. E. Gilmour. 2006. Characterization of microsatellite loci in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and cross-amplification in other cyprinid species. *Molecular Ecology Notes (Accepted)*. 3:455–461.
6. Tong, J., Z. Wang, and X. Yu. 2002. Cross-species amplification in silver carp and bighead carp with microsatellite primers of common carp. *Molecular Ecology Notes*. 2: 245-247.
7. Crooijmans, R., V. Bierbooms, J. Komen, [et al.]. 1997. Mikrosatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Animal Genetics*. 28:129–134.
8. Slukvin, A. M., O. Yu. Koneva, and M. I. Lesyuk. 2009. Geneticheskaya identifikatsiya sterlyadi, vyrashchennoy v OAO «Rybkhoz «Poles'e» Pinskogo rayona Brestskoy oblasti, po mikrosatellitnym markeram. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika - Molecular and Applied Genetics*. 9:146–152. (in Belarus).
9. Dubin, O. V. 2012. Mikrosatelitni markery u doslidzhenni henetychnoho polimorfizmu rosiys'koho osetra. *Visnyk ahraranoi nauky Prychornomor'ya – Bulletin of Agricultural Science of Black Sea*. 4, 2 (1):70–73 (in Ukrainian).
10. Gheyas, A. A., Cairney, M., and Gilmour, A. E. 2006. Characterization of microsatellite loci in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and cross-amplification in other cyprinid species. *Molecular Ecology Notes (Accepted)*. 3:455–461.
11. Rovba, E. A., Yu. Koneva, and S. E. Dromashko. 2012. Otsenka geneticheskogo raznobraziya porod karpa belorusskoy selektsii s pomoshch'yu mikrosatellitnykh markerov – Evaluation of the genetic diversity of species of carp Belarusian breeding with microsatellite markers: *mater. the international scientific and technical conference. Krasnodar, Kuban State University of Technology*. 22–23 (in Russian).
12. Yang, J. Q., X. D. Zhou, and D. Liu. 2011. Isolation and characterization of microsatellite loci in the fish *Coilia mystus* (Clupeiformes: Engraulidae) using PCR-based isolation of microsatellite arrays. *Genet Mol Res*. 10 (3):1514–1517.
13. Guo, B., M. Zou, and A. Wagner. 2012. Pervasive indels and their evolutionary dynamics after the fish-specific genome duplication. *Mol Biol Evol*. 10:3005–3012.
14. Gheyas, A. A., M. Cairney and A. E. Gilmour. 2006. Characterization of microsatellite loci in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and cross-amplification in other cyprinid species. *Molecular Ecology Notes (Accepted)*. 3:455–461.