

СЕЛЕКЦІЯ, ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

УДК: 575.15; 639.3.032

МОЛЕКУЛЯРНО–ГЕНЕТИЧНІ МАРКЕРИ ТА МЕТОДИ ЇХ ІДЕНТИФІКАЦІЇ У СУЧАСНОМУ РИБНИЦТВІ (ОГЛЯД)

І. І. Грициняк, info@ifr.com.ua, Інститут рибного господарства НААН, м. Київ

О. В. Залоїло, ozaloilo@yahoo.com, Інститут рибного господарства НААН, м. Київ

І. А. Залоїло, zaloilo@yahoo.com, НУБіП України, м. Київ

Н. О. Борисенко, b_natalia@i.ua, Інститут рибного господарства НААН, м. Київ

Мета. В останні роки у сучасному експериментальному рибництві широкого застосування набуло використання молекулярно–генетичних маркерів. На даний час ця методика представлена диференційованими підходами з індивідуальними механізмами та чітко окресленими можливостями. Численні публікації про молекулярно–генетичні маркери у науковій періодиці здебільшого являють собою суто практичні дані. Таким чином, узагальнення і аналіз існуючої інформації про загальні принципи дії та межі можливостей основних методів з використанням молекулярно–генетичних маркерів є актуальною проблемою. Зокрема, такий опис дозволить більш ефективно планувати експеримент та одержувати бажані результати з підвищеною достовірністю.

Результати. У роботі розглянуто основні типи варіабельних ділянок ДНК, які можуть використовуватися як молекулярно–генетичні маркери при встановленні рівня гібридизації стада, проведенні генетичної інвентаризації популяції та вирішенні інших проблем у сучасному рибництві. Також стаття містить огляд основних сучасних методів, які використовуються для ідентифікації молекулярно–генетичних маркерів.

Наукова новизна. Дана робота є узагальненням сучасних уявлень про механізми експериментальної роботи з молекулярно–генетичними маркерами у рибництві. Інформація представлена у формі послідовного викладення принципів та призначення кожного з методів, а також вагомих досягнень у рибництві при їх застосуванні.

Практична значимість. Представлений огляд класичних та сучасних літературних даних про молекулярно–генетичні маркери може бути використаним при плануванні, модернізації та корекції схем дослідів у сучасному рибництві.

Ключові слова: молекулярно–генетичні маркери, молекулярно–генетичні методи, ПЛР, ДНК, мікросателіти.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Сучасне рибництво є одним з найперспективніших напрямів аграрного виробництва. На сьогодні в Україні сформовані локальні племінні стада поширених та окремих нових об'єктів риборозведення (короп, білий і строкатий товстолоби, білий амур, веслоніс тощо), які на даний час вважаються пріоритетними для розвитку селекційно–племінної роботи у вітчизняній аквакультури.

Разом з тим, численні чинники (високий рівень інбридингу, неконтрольоване схрещування різноманітних племінних груп риб тощо), призводять до поступового зменшення репродуктивних показників, погіршення порідних якостей та зниження резистентності риб до захворювань чи несприятливих зовнішніх чинників середовища. При цьому, використання лише традиційних



селекційних методик, зокрема, на основі морфометричних вимірів, часто є недостатньо ефективним для формування селекційних груп риб. У результаті через декілька поколінь можуть виникати втрати типових селекційних ознак певних племінних груп риб у межах окремих господарств [1, 2].

Тому для підтримання оптимальних характеристик породи або внутрішньопорідних типів об'єктів культивування слід оперувати інформацією про генетичну структуру локальних племінних груп риб. Очевидно, що аналіз рівня внутрішньовидової поліморфності на рівні породи, популяції, стада чи окремих особин найбільш ефективно може виконуватись з використанням молекулярно-генетичних маркерів (МГМ) [3].

Поняття молекулярно-генетичного маркера

МГМ називають часткові послідовності консервативних областей генома. Найчастіше як МГМ обираються міжгенні спейсери, кодуючі або некодуючі ділянки гена. У роботі [4] показано, що ці області характеризуються чіткою кореляцією між змінами геному та зовнішніми показниками. Обираючи конкретний МГМ, необхідно враховувати його інформативність та індивідуальний рівень складності генотипування. Таким чином, МГМ у комплексі з традиційними методиками є носіями достовірної інформації, орієнтованої на полегшення подальших селекційних робіт.

Основні типи МГМ

SNP

Однонуклеотидні заміни (Single Nucleotide Polymorphism) в послідовності ДНК, які наявні в геномах усіх відомих видів. Характерною структурною ознакою даного МГМ є заміна одного нуклеотида іншим. SNP складають 1\1000 серед основ. В залежності від виду, у організмі риб нараховується від 2 до 7 мільйонів таких замін [5, 6, 7]. 99,9 % SNP – біалельні, решта – триалельні. Зазвичай однонуклеотидні заміни є результатом накопичення транзицій та трансверсій у геномі риби. Більша частина SNP відбувається на некодуючих ділянках. Малий відсоток таких МГМ можна знайти і у екзонних секторах ДНК: такі SNP ділять на синонімічні (ті, що не викликають амінокислотних змін у кодованих білках) та несинонімічні (впливають на промоторну активність та змінюють конформацію ДНК) [8 – 10].

Indels

Indels (транскрипція від англ. «Insert» (включення) та «Deletions» (видалення). Дані ДНК-маркери утворюються в результаті мутацій, які представляють собою вбудовування або випадання одного чи кількох нуклеотидів у загальній послідовності молекули ДНК. Причиною таких процесів вважається зміна просторової конфігурації новоутвореної нитки під час реплікації нуклеотидів праймера (поява включень) або поява матриці (поява випадань) [11, 12].

Одним з варіантів Indels-мутацій є поява в структурі молекули ДНК елементів, які містять ретропозони (так звані ретроелементи) – SINE, LTR, та LINE [13, 14]. Це мобільні дисперговані послідовності, які мають унікальні характеристики на різних таксономічних рівнях, а, отже, можуть бути використаними як МГМ.



Мікросателіти

Мікросателітні послідовності мають різні назви (SSR – Simple Sequence Repeats; STR–Shot Tandem Repeat; STMS–Sequence Tagged Microsatellite Site) [15 – 19]. Це тандемні послідовності, що повторюються. Такі повторювані послідовності ДНК притаманні не лише еукаріотам, а й прокаріотам. Просторове розміщення мікросателітів — тандемне, довжина незначна (зазвичай від 2 до 6 нуклеотидів). Тандемні повторювані послідовності довжиною більш як 10 нуклеотидів називають мінісателітами; їх також застосовують у генетиці риб, однак мікросателіти вважаються більш характеристичними МГМ [20, 21].

Ареал виникнення мікросателітів у геномі достатньо широкий: їх знайдено на транскрибованих і нетранскрибованих ділянках ДНК, у складі кодуючих та некодуючих послідовностей. Первинною причиною появи мікросателітів вважається злипання двох коротких повторів. У стані *in vitro* частота таких процесів виростає в декілька раз, однак клітинні репараційні системи активно усувають більшість подібних помилок реплікації.

Структурно мікросателіти можуть являти собою як однорідні, так і різнотипні послідовності. Також відомий варіант, коли мікросателіти містять вставні послідовності (так звані спейсери) між типовими повторами [22, 23].

Мікросателіти часто виявляються локусами, здатними до швидких мутацій, що дозволяє ефективно використовувати їх для виявлення розбіжностей між спорідненими популяціями у рибництві. Дослідження достатньої кількості мікросателітних локусів та кількості повторів у них дозволяє отримати унікальну інформацію про генетичну структуру на рівні особини, визначити число алельних варіантів та частоти алелів у популяціях, вивчити спадкові зв'язки між особинами [24 – 26].

Шляхи наслідування МГМ

Форма наслідування поліморфних маркерів суттєво залежить від типу хромосоми, на якій вони розміщені. Особливостями маркерів аутосомної природи є наявність у особини пари алелів на гомологічних хромосомах, кожен з яких передається у спадок від одного з батьків, а також – ймовірність рекомбінації цих алелів у процесі мейозу.

МГМ, локалізовані на Y–хромосомі, присутні у особини лише в одному алельному варіанті, отже, в даному випадку рекомбінації виключені і маркери успадковуються за чоловічою лінією у незмінній формі [27 – 29].

Мітохондріальна хромосома разом з локалізованими на ній поліморфними локусами передається у спадок лише за жіночою лінією. У даному випадку кожна особина також є носієм лише одного алельного варіанту МГМ.

Основні методи ідентифікації молекулярно–генетичних маркерів

Для більшості методів ідентифікації алельних варіантів МГМ первинним етапом є специфічна ПЛР–ампліфікація ділянок ДНК, які містять ці маркери. Нині існує велика кількість методів детекції МГМ та щороку з'являються альтернативні версії, однак всі вони мають певні недоліки та жоден не може претендувати на універсальність [30].

Секвенування продуктів ПЛР



Метод використовується для виявлення поліморфних маркерів. Для безпосереднього секвенування використовують ПЛР–продукти, одержані з локусів геномної ДНК досліджуваної особи. Даний підхід є найбільш ефективним при дослідженні одонуклеотидних поліморфізмів. У випадку розміщення маркера на аутосомі не виключається поява двох алельних варіантів у індивідуальному зразку.

Метод передбачає використання спектрального аналізу. При секвенуванні ампліфікованої матриці ДНК гомозиготних клітин на спектрі флуоресценції поліморфний локус визначають за наявністю одного піку на спектрі, при аналогічних дослідженнях гетерозиготних клітин спостерігається два накладених піки. Незважаючи на те, що метод секвенування вважається досить точним, на практиці складно зробити чіткий висновок про наявність поліморфності SNP лише за флуоресцентним сигналом. Проблема можливої наявності декількох алельних варіантів у локусах зразка, який містить *indel* або STR, можна усунути попереднім клонуванням продуктів ПЛР у склад плазміди бактеріальної клітини. Такий шлях гарантує майже 100 %–ву гомогенність подальшого секвенса, однак методика при цьому суттєво дорожчає і ускладнюється в практичному аспекті [31, 32].

Методи з використанням ферментативних властивостей ДНК–полімерази

Мінісеквенування (одонуклеотидна елонгація).

Підхід базується на використанні праймерів, структура яких має 3′–кінець, комплементарний до основи, що розміщена безпосередньо перед поліморфним сайтом. У досліджуваній розчин вносять дидезоксирибонуклеотиди (ddNTP) – нуклеотиди, позбавлені 3′–гідроксильної групи (метод Сенгера). Таким чином, нуклеотиди не можуть зв'язуватись з 3′–кінцями посередництвом полімерази – усі зв'язані об'єкти утворені парою 3′–кінець праймера – «основа поліморфного сайту». Для успішного генотипування зразка ddNTP перед внесенням у розчин мітять з допомогою специфічних флуорофорів або використовують метод спектроскопічного встановлення маси продукту мінісеквенування [33].

Алельспецифічна ПЛР (AS–PCR).

В основі методу лежить різна ефективність елонгації праймерів у залежності від наявності комплементарності їх 3′–кінця до ДНК–матриці: праймування цілком комплементарним олігонуклеотидом надає елонгацію у 100–1000 разів ефективнішу, ніж у випадку часткової (відсутньої) комплементарності 3′–кінця праймера.

На практиці метод застосовується з використанням трьох праймерів: два з них є цілком комплементарними до молекули ДНК, яка відповідає одному з алелей, третій праймуючий олігонуклеотид – зворотній [34, 35]. Паралельно з AS–PCR для встановлення наявності алельспецифічного продукту використовуються методи флуоресцентної спектроскопії.

TaqMan.

Метод базується на використанні 5′–3′–екзонуклеазної активності ДНК–полімерази. Для детектування алельних варіантів синтезують два олігонуклеотидних зонди з вбудованими флуоресцентними мітками. З варіантом поліморфних молекул на ДНК–матриці зонд утворює стабільну дуплексну структуру. У результаті полімераза, яка рухається по матриці, призводить до



деградації зонда. Цей процес супроводжується енергетичними змінами ковалентних взаємодій зонда та зв'язаного з ним флуорофора. При взаємодії з ДНК, що не містить поліморфних ділянок, зонд гібридується — при цьому замість degradaції рухомою полімеразою відбувається його механічне скидання з матриці [36, 37].

Зміни енергії встановлюють кількісно до та після внесення зондів і за різницею показників проводять аналітичне детектування наявних алельних варіантів.

FEN (Flapendonuclease)

У методі використовується здатність ендонуклеаз зі специфічною структурою каталізувати розривання молекули ДНК при утворенні нею певних структур. Метод передбачає застосування у системі двох олігонуклеотидних зондів, здатних утворювати стабільну 3–компонентну структуру з ДНК–молекулою–мішенню. Один з зондів комплементарний до 3'–ареалу поверхні, окрім останнього нуклеотиду, який і є SNP. Другий зонд здатний до гібридації з 5'–ареалом ДНК–мішені, має у складі комплементарний до SNP нуклеотид і демонструє алель специфічності [38].

Частково структура другого зонду не є гомологічною з ДНК–мішенню. Таким чином, якщо ДНК–мішень має у складі гомологічний до другого зонда нуклеотид, спостерігається утворення 3–компонентної структури, яку розпізнає ендонуклеаза і відсікає 5'–послідовність другого зонда. Якщо гомологічні до другого зонда ділянки у пробі ДНК відсутні, утворення структури і подальшого розривання не відбувається [39]. Для ефективного детектування алельних варіантів до 3'–кінця зонда попередньо добудовують флуоресцентний гасник, а до 5'–кінця флуорофор. При відрізання 5'–кінця флуорофор виходить у розчин і є причиною виникнення флуоресценції.

Застосування ДНК–лігас

Лігуючі ферменти здатні до зшивання олігонуклеотидних зондів, які щільно гібридуються на молекулі ДНК–мішені. Умовою здійснення реакції лігування є комплементарність контактних кінців обох нуклеотидів до матриці мішені та відповідність кінцевого нуклеотида одного з зондів SNP. На практиці для даного підходу використовують дві пари олігонуклеотидних зондів (по два набори для кожного зі специфічних варіантів), кожна з яких у системі гібридується з одним із комплементарних ланцюгів ДНК [40]. Загальна методика після проведення безпосереднього лігування передбачає досить складну послідовність процедур: кілька циклів денатурації, відпалу праймерів, повторного лігування тощо. У результаті зразок містить надлишкову кількість накопичених алельспецифічних дволанцюгових продуктів (лігованих попарно зондів). Наявність таких речовин легко встановлюється з допомогою гель–електрофорезу [41 – 43].

Гібридація ДНК

Комплекс методів та їх модифікацій, які базуються на здатності ДНК–молекул утворювати дуплексні структури з комплементарними ланцюгами. Стабільність дуплексу прямо пропорційна до ступеня гомологічності. Відповідно, температура денатурації частково гомологічного дуплекса є нижчою, порівняно з цілком гомологічними аналогами. Таким чином, саме за різницею температур двох варіантів дуплексів встановлюють ступінь гомологічності і, відповідно,



наявність алельних варіантів [44]. Модифікована версія даної методики використовує сучасні технології мікрочіпів у комплексі з флуоресцентними методами детектування зв'язування ДНК–молекул з олігонуклеотидами. Для даного методу застосовують зонди, імобілізовані на твердій підкладці, а проби помічають системами «флуорофор–гасник» та подають у систему у рідкій фазі. У результаті відбувається гібридизація проб з зондами. При цьому кожна зі сполук характеризується унікальною послідовністю та фіксованим положенням на підкладці. Зразки відмиваються від елементів, які не утворили дуплексів, і вимірюються на інтенсивність флуоресценції. При високій собівартості, метод демонструє високу оперативність та селективність – дозволяє проводити одночасно 1,8 млн. реакцій [45 – 47]. У окремих випадках використовують зворотну технологію: на підкладці імобілізуються ДНК–зразки, а зонди подають до системи у рідкому стані [48, 49].

Рестрикційний аналіз

Один з найбільш простих та зручних у виконанні методів ідентифікації, хоча його ефективність не є прогнозованою. Потребує високої статистичної вибірки. ПЛР–продукти, які містять поліморфний локус, що входить до складу рестриктоного сайту, обробляються рестрикційними ендонуклеазами. При розрізанні послідовності ДНК за даними локусами одержується набір рестриктних фрагментів, з яких відбирають ті, що мають характерну для МГМ довжину [50 – 52].

Електрофоретичні методи

До ПЛР–продуктів застосовують електрофорез у поліакриламідному гелі з подальшим фарбуванням нітратом срібла або іншими регламентованими сполуками. У результаті одержують електрофореграми високої роздільної здатності. Даний метод найчастіше застосовують для ідентифікації STR та indel–маркерів [53]. У гелі можна електрофоретично розділити ДНК–молекули, які відрізняються за довжиною всього на 1 мікросателітний повтор. Як альтернативні модифікації також застосовують капілярний електрофорез. Детектування електрофоретичного піку може бути встановлене і шляхом флуоресцентного аналізу – для цього у ПЛР–реакції застосовують флуоресцентно мічені праймери [54].

Мас–спектрометрія

Відомо, що маса мікросателіта характеризується лінійною залежністю від його довжини. Таким чином, число повторів можна встановити з допомогою мас–спектрометрії. Слід відзначити, що використання такого підходу має певні складнощі, пов'язані з тим, що зі збільшенням довжини фрагмента зростає рівень його спорідненості до катіонів і, відповідно, знижується точність результату. Тому метод мас–спектроскопії здебільшого використовується для аналізу одноланцюгових фрагментів ДНК. Для розділення ланцюгів використовують штучно вкриті стрептавідином частинки, які набувають рухливості у магнітному полі. Альтернативний підхід відбору зразків передбачає мінісеквенування для накопичення одноланцюгових молекул ДНК після ПЛР–ампліфікації. Механізм реакції наступний: праймер гібридується з 3'–кінцем мікросателітної послідовності. Процес супроводжується елонгацією праймера, зупинення якої відбувається при появі у новоутвореному ланцюгу дидезоксинуклеотида, який зустрічається у фланкуючій послідовності, однак відсутній у структурі



мікросателіта [55 – 58]. Цінність даного методу полягає у тому, що він дозволяє встановити інсерційно–делеційний поліморфізм, який складно детектувати з допомогою інших підходів.

Широкомасштабне секвенування

У останні роки значного поширення набули технології повногеномного секвенування. Такі методи дозволяють здійснити одночасне секвенування ДНК для великої кількості зразків або встановити послідовність геномної ДНК для конкретної особини. При цьому підходи секвенування другого покоління потребують значно менше часу та фінансових витрат порівняно з традиційним методом Сенгера. Наразі серед найбільш перспективних технологій у даному аспекті виділяють «Піросеквенування», SOLiD – та «Ілюміна». Кожен з цих підходів є достатньо складним і потребує окремого детального огляду [59 – 62].

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Методи ідентифікації молекулярно–генетичних маркерів використовуються для розв'язання найрізноманітніших проблем у сучасному експериментальному рибництві. Наразі спостерігається активна еволюція даних підходів від широкоспектрального призначення до досить вузького спрямування. Водночас, в залежності від типу та можливостей, такі методики істотно відрізняються за складністю, достовірністю, собівартістю та тривалістю одержання результатів.

Таким чином, ефективність наукової роботи у рибництві з використанням молекулярно–генетичних маркерів значною мірою залежить саме від обгрунтованого вибору адекватної методики, яка з одного боку відповідатиме вимогам експерименту, а з іншого матиме виправданий трудовий та економічний ресурс. Оперуючи існуючими методами ідентифікації молекулярно–генетичних маркерів, можна вирішити досить вузьке коло завдань у сучасній сільськогосподарській генетиці. Тому комплексне застосування подібних методик та розроблення принципово нових підходів у даній галузі має пріоритетне значення як для рибництва, так і для біологічних наук у цілому.

ЛІТЕРАТУРА

1. Грициняк І. І. Актуальні завдання генетичних досліджень у рибному господарстві / І. І. Грициняк, С. І. Тарасюк // Проблеми розвитку морської та прісноводної аквакультури : матеріали семінару / Державний комітет рибного господарства України. — К., 2009. — С. 98—106.
2. Організація селекційно–племінної роботи в рибництві / [Гринжевський М. В., Шерман І. М., Грициняк І. І. та ін.]. — К. : Рибка моя, 2006. — 352 с.
3. Pihan Altinok. Molecular Diagnosis Of Fish Diseases: A Review / Ilhan Altinok, Pknur Kurt // Turkish Journal Of Fisheries And Aquatic Sciences. — 2004. — № 3. — P. 131—138.
4. Avise J. Molecular markers, natural history and evolution / Avise J. — Champan & Hall. ITP International Thomson Pub. Comp. USA, 2003. — 511 p.
5. Fish scales and SNP chips: SNP genotyping and allele frequency estimation in individual and pooled DNA from historical samples of Atlantic salmon (*Salmo salar*) / Susan E. Johnston, Meri Lindqvist, Eero Niemelä [et al.] // BMC Genomics. — 2013. — Vol. 14. — P. 439—445.
6. Multiplex preamplification PCR and microsatellite validation enables accurate single nucleotide polymorphism genotyping of historical fish scales / M. J. Smith,



- C. E. Pascal, Z. Grauvogel [et al.] // *Mol. Ecol. Resour.* — 2011. — № 11. — P. 268—277.
7. SNP discovery and allele frequency estimation by deep sequencing of reduced representation libraries / C. P. Van Tassel, T. P. Smith, L. K. Matukumalli [et al.] // *Nat Methods.* — 2008. — № 5. — P. 247—252.
 8. Highly cost-efficient genome-wide association studies using DNA pools and dense SNP arrays / S. Macgregor, Z. Zhao, A. Henders [et al.] // *Nucleic Acids Res.* — 2008. — № 36. — P. 35—39.
 9. Single-nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in nonmodel organisms / J. Seeb, G. Carvalho, L. Hauser [et al.] // *Mol. Ecol. Resour.* — 2011. — № 11. — P. 1—8.
 10. Spatiotemporal SNP analysis reveals pronounced biocomplexity at the northern range margin of Atlantic cod *Gadus morhua* / N. Therkildsen, J. Hemmer-Hansen, R. Hedeholm [et al.] // *Evol. Appl.* — 2013. — № 6. — P. 690—705.
 11. 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.
 12. Heterozygous indels as useful tools in the reconstruction of DNA sequences and in the assessment of ploidy level and genomic constitution of hybrid organisms / Carla Sousana-Santos, Joana I. Robalo, Maria-Joa O Collares-Pereira [et al.] // *DNA Sequence.* — 2005. — Vol. 16, № 6. — P. 462—467.
 13. A sequence-based variation map of zebrafish / A. Patowary, R. Purkanti, M. Singh [et al.] // *Zebrafish.* — 2013. — Vol. 10, № 1. — P. 15—20.
 14. Antagonistic roles of *Dmrt1* and *Foxl2* in sex differentiation via estrogen production in tilapia as demonstrated by TALENs / M. H. Li., H. H. Yang, M. R. Li [et al.] // *Endocrinology.* — 2013. — Dec., Vol. 154, № 12 : 48. — P. 14—25.
 15. Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers / D. Tautz. — *Nucleic Acids Res.* — 1989. — Vol. 17. — P. 6463—6471.
 16. Field D. Abundant microsatellite polymorphism in *Saccharomyces cerevisiae*, and the different distributions of microsatellites in eight prokaryotes and *S. cerevisiae*, result from strong mutation pressures and a variety of selective forces / D. Field, C. Wills // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* — 1998. — Vol. 95. — P. 1647—1652.
 17. A common language for physical mapping of the human genome / M. Olson, L. Hood, C. Cantor [et al.] // *Sciences.* — 1989. — Vol. 245, № 4925. — P. 1434—1435.
 18. Use of ethnicity-specific sequence tag site markers for Y chromosome microdeletion studies / K. Sachdeva, R. Saxena, A. Majumdar [et al.] // *Genet Test Mol Biomarkers.* — 2011. — Vol. 15, № 6. — P. 451—459.
 19. Mikrosatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.) / R. Crooijmans, V. Bierbooms, J. Komen [et al.] // *Animal Genetics.* — 1997. — Vol. 28. — P. 129—134.
 20. Michael O Connell. Microsatellite DNA in fishes / Michael O Connell, Jonathan M Wright // *Reviews in Fish Biology and Fisheries.* — 1997. — № 7. — P. 331—363.
 21. Zhang Xiao-Gu. Applications of microsatellite markers in studies of genetics and breeding of fish / Xiao-Gu Zhang, Jin-Gou Tong, Bang-Xi Xiong // *Chinese Journal of Agricultural Biotechnology.* — 2006. — № 3. — P. 83—87.
 22. Javier P. Development of a microsatellite genotyping tool for the fish Gilthead



- seabream (*Sparus aurata*): applicability in population genetics and pedigree analysis / P. Javier, M. Jose, B. Julia // Aquaculture Research. — 2010. — № 41. — P. 1514—1522.
23. 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 [et al.] // Genet. Mol. Res. — 2011. — Vol. 10, №3. — P. 1514—1517.
24. Chromosomal mapping of microsatellite repeats in the rock bream fish *Oplegnathus fasciatus*, with emphasis of their distribution in the neo-Y chromosome / Dongdong Xu, Bao Lou, Luiz Antonio Carlos Bertollo [et al.] // Molecular Cytogenetics. — 2013. — № 6. — P. 1755—1766.
25. Ellegren H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution / H. Ellegren // Nature Reviews Genetics. — 2004. — № 5. — P. 435—445.
26. 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.
27. Mosaic small supernumerary marker chromosome 1 at amniocentesis: prenatal diagnosis, molecular genetic analysis and literature review / CP Chen, M. Chen, YN Su [et al.] // Gene. — 2013. — Vol. 15; 529, № 1. — P. 169—175.
28. Chromosome studies of European cyprinid fishes: cross-species painting reveals natural allotetraploid origin of a *Carassius* female with 206 chromosomes / M. Knytl, L. Kalous, R. Symonová [et al.] // Cytogenet Genome Res. — 2013. — Vol. 139, № 4. — P. 276—283.
29. Loss of eyes in zebrafish caused by mutation of *chokh/rx3* / F. Loosli, W. Staub, K. Finger-Baier [et al.] // EMBO Rep. — 2003. — Vol. 4, № 9. — P. 894—899.
30. Hummel S. Ancient DNA typing: Methods, strategies and applications / Hummel S. — New York: Springer-Verlag, 2003. — 298 p.
31. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats / M. Gupta, Y. S. Chyi, J. Romero-Severson [et al.] // Theoret. Appl. Genet. — 1994. — № 89. — P. 998—1006.
32. Comparison of FISH and quantitative RT-PCR for the diagnosis and follow-up of BCR-ABL-positive leukemias / F. Bao, R. Munker, C. Lowery [et al.] // Mol. Diagn. Ther. — 2007. — Vol. 11, № 4. — P. 239—245.
33. Vergnaud G. Minisatellites: Mutability and Genome Architecture. / G. Vergnaud, F. Denoeud // Genome Research. — 2000. — № 10. — P. 899—907.
34. Allele-specific PCR in SNP genotyping / M. Gaudet, AG. Fara, I. Beritognolo [et al.] // Methods Mol. Biol. — 2009. — P. 415—424.
35. Rare allele enrichment and detection by allele-specific PCR, competitive probe blocking, and melting analysis / Z. Luming, W. Ying, Carl T. Wittwer // BioTechniques. — 2011. — Vol. 50, № 5. — P. 311—318.
36. Micro RNA-146 function in the innate immune transcriptome response of zebrafish embryos to *Salmonella typhimurium* infection / A. Ordas, Z. Kanwal, V. Lindenberg [et al.] // BMC Genomics. — 2013. — № 14. — P. 696—701.
37. SYBR, TaqMan, or both: highly sensitive, non-invasive detection of Cardicola blood fluke species in Southern Bluefin Tuna (*Thunnus maccoyii*) / M. Polinski, D. Hamilton, B. Nowak [et al.] // Mol. Biochem. Parasitol. — 2013. — Vol. 191, № 1. — P. 7—15.
38. Balakrishnan L. Flap Endonuclease 1. / L. Balakrishnan, Robert A. Bambara // Annual Review of Biochemistry. — 2013. — № 82. — P. 119—138.



39. Flap endonucleases pass 5'-flaps through a flexible arch using a disorder-thread-order mechanism to confer specificity for free 5'-ends / Nikesh Patel, John M. Attack, Jane A. Grasby // Oxford Journals Life Sciences Nucleic Acids Research. — 2013. — № 40. — P. 4507—4519.
40. Cloning and gene map assignment of the Xiphophorus DNA ligase 1 gene / R. Walter, R. Rolig, K. Kozak [et al.] / Mol. Biol. Evol. — 1993. — Vol. 10, № 6. — P. 1227—1238.
41. Embryonic exposure to cis-bifenthrin enantioselectively induces the transcription of genes related to oxidative stress, apoptosis and immunotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*) / Y. Jin, X. Pan, L. Cao [et al.] // Fish Shellfish Immunol. — 2013. — Vol. 34, № 2. — P. 717—723.
42. Development of novel visual-plus quantitative analysis systems for studying DNA double-strand break repairs in zebrafish / J. Liu, L. Gong, C. Chang [et al.] // Genet. Genomics. — 2012. — Vol. 39, № 9. — P. 489—502.
43. Identification of genes that promote or antagonize somatic homolog pairing using a high-throughput FISH-based screen / E. Joyce, B. Williams, T. Xie [et al.] // PLoS Genet. — 2012. — Vol. 8, № 5. — P. 567—574.
44. Brown B. Nuclear DNA. Population Genetics: Principles and Applications for Fisheries Scientists / B. Brown, J. Epifanio; ed. E. M. Hallerman — Bethesda, Maryland, USA, Amer. Fish. Society. — 2003. — P. 101—126.
45. Male infertility and copy number variants (CNVs) in the dog: a two-pronged approach using Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) and Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) / D. Cassatella, N. Martino, L. Valentini [et al.] // BMC Genomics. — 2013. — Dec. 27; Vol. 14, № 1. — P. 921—926.
46. Introgressive hybridization as a promoter of genome reshuffling in natural homoploid fish hybrids (*Cyprinidae*, *Leuciscinae*) / C. S. Pereira, M. A. Aboim, P. Ráb [et al.] // Heredity (Edinb). — 2013. — № 4. — P. 110—118.
47. Hybridisation, paternal leakage and mitochondrial DNA linearization in three anomalous fish (*Scombridae*) / J. A. Morgan, M. Macbeth, D. Broderick [et al.] // Mitochondrion. — 2013. — Vol. 13, № 6 — P. 852—861.
48. Mapping nonrecombining regions in barley using multicolor FISH / M. Karafiatova, J. Bartos, D. Kopecky [et al.] // Chromosome Res. — 2013. — Vol. 21, № 8. — P. 739—751.
49. Ravindra Kumar. Characterization and physical mapping of 18S and 5S ribosomal genes in Indian major carps (*Pisces*, *Cyprinidae*) / K. Ravindra, B. Kushwaha, N. S. Nagpure // Micron. — 2013. — № 49. — P. 40—45.
50. Gamble T. Identification of sex-specific molecular markers using restriction site associated DNA sequencing (RAD-seq) / T. Gamble, D. Zarkower // Mol. Ecol. Resour. — 2014. — № 10. — P. 675—780.
51. Carbonari M. Correlation between terminal restriction fragments and flow-FISH measures in samples over wide range telomere lengths / M. Carbonari, T. Tedesco, M. Fiorilli // Cell Prolif. — 2014. — Vol. 47, № 1. — P. 20—27.
52. Pericentromeric location of the telomeric DNA sequences on the European grayling chromosomes / K. Ocalewicz, G. Furgala-Selezniew, M. Szmyt [et al.] // Genetica. — 2013. — Vol. 141, № 10-12. — P. 409—416.
53. Southern E. M. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis / E. M. Southern // J. Mol. Biol. — 1975. — Vol. 98, № 3. — P. 503—517.
54. John M. Butler. Forensic DNA typing biology, technology, and genetics of STR markers / John M. Butler. — [Second edition]. — USA : Elsevier, 2005 — 345 p.



55. New perspectives on diastereoselective determination of hexabromocyclododecane traces in fish by ultra high performance liquid chromatography–high resolution orbitrap mass spectrometry / D. Zacs, J. Rjabova, V. Bartkevics [et al.] // *J. Chromatogr.* — 2014. — № 21. — P. 1330—1339.
56. Asakawa M. Food poisonings by ingestion of cyprinid fish / M. Asakawa, T. Noguchi // *Toxins (Basel)*. — 2014. — Vol. 6, № 2. — P. 539—555.
57. Biliary PAH metabolites, EROD activity and DNA damage in dab (*Limanda limanda*) from Seine Estuary (France) / M. H. Devier, M. Le Du–Lacoste, F. Akcha [et al.] // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* — 2013. — Vol. 20, № 2. — P. 708—722.
58. Insight into molecular pathways of retinal metabolism, associated with vitellogenesis in zebrafish / L. Levi, T. Ziv, A. Admon [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2012. — Vol. 302, № 6. — P. 626—644.
59. Deep transcriptome sequencing of *Pecten maximus* hemocytes: A genomic resource for bivalve immunology / M. Pauletto, M. Milan, R. Moreira [et al.] // *Fish Shellfish Immunol.* — 2014. — Vol. 37, №1. — P. 154—165.
60. De novo whole transcriptome analysis of the fish louse, *Argulus siamensis*: first molecular insights into characterization of Toll downstream signalling molecules of crustaceans / P. Sahoo, B. Kar, A. Mohapatra [et al.] // *Exp. Parasitol.* — 2013. — Vol. 135, № 3. — P. 629—641.
61. The identification of microRNAs in the whitespotted bamboo shark (*Chiloscyllium plagiosum*) liver by Illumina sequencing / J. Zhang, Y. Liu, X. Zhang [et al.] // *Gene.* — 2013. — Vol. 527, № 1. — P. 259—265.
62. Deep mRNA sequencing analysis to capture the transcriptome landscape of zebrafish embryos and larvae / H. Yang, Y. Zhou, J. Gu [et al.] // *PLoS One.* — 2013. — Vol. 8, № 5. — P. 456—464.

REFERENCES

1. Hrytsynyak, I. I., & Tarasyuk, S. I. (2009). Aktual'ni zavdannya henetychnykh doslidzhen' u rybnomu hospodarstvi. *Problemy rozvytku mors'koyi ta prysnovodnoyi akvakul'tury: materialy seminaru.* (pp. 98-106). Kyiv : Derzhavnyy komitet rybnoho hospodarstva Ukrainy.
2. Hrynzhevs'kyy, M. V., Sherman, I. M., & Hrytsynyak, I. I. et al. (2006). *Orhanizatsiya selektsiyno-pleminnoyi roboty v rybnytstvi.* Kyiv: Rybka moya.
3. Ilhan, Altinok, & Ilknur, Kurt. (2004). Molecular Diagnosis Of Fish Diseases: A Review. *Turkish Journal Of Fisheries And Aquatic Sciences*, 3, 131-138.
4. Avise, J. (2003). *Molecular markers, natural history and evolution.* USA: Champan & Hall. ITP International Thomson Pub. Comp.
5. Johnston, Susan E., Lindqvist, Meri, & Niemelä, Eero. (2013). *BMC Genomics*, 14, 439-445.
6. Smith, M. J., Pascal, C. E., & Grauvogel, Z. et al. (2011). Multiplex preamplification PCR and microsatellite validation enables accurate single nucleotide polymorphism genotyping of historical fish scales. *Mol. Ecol. Resour.*, 11, 268-277.
7. Van Tassell, C. P., Smith, T., & Matukumalli, L. K. et al. (2008). SNP discovery and allele frequency estimation by deep sequencing of reduced representation libraries. *Nat. Methods*, 5, 247-252.
8. Macgregor, S., Zhao, Z., & Henders, A. et al. (2008). Highly cost-efficient genome-wide association studies using DNA pools and dense SNP arrays. *Nucleic Acids Res.*, 36, 35-39.



9. Seeb, J., Carvalho, G., & Hauser, L. et al. (2011). Single-nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in nonmodel organisms. *Mol. Ecol. Resour.*, 11, 1-8.
10. Therkildsen, N., Hemmer-Hansen, J., & Hedeholm, R. et al. (2013). Spatiotemporal SNP analysis reveals pronounced biocomplexity at the northern range margin of Atlantic cod *Gadus morhua*. *Evol. Appl.*, 6, 690-705.
11. Guo, B., Zou, M., & Wagner, A. (2012). Pervasive indels and their evolutionary dynamics after the fish-specific genome duplication. *Mol. Biol. Evol.*, 10, 3005-3012.
12. Sousana-Santos, Carla, Robalo, Joana I., & Collares-Pereira, Maria-Joaõ et al. (2005). Heterozygous indels as useful tools in the reconstruction of DNA sequences and in the assessment of ploidy level and genomic constitution of hybrid organisms. *DNA Sequence*, 16, 6, 462-467.
13. Patowary, A., Purkanti, R., & Singh, M. et al. (2013). A sequence-based variation map of zebrafish. *Zebrafish*, 10, 1, 15-20.
14. Li, M. H., Yang, H. H., & Li, M. R. et al. (2013). Antagonistic roles of Dmrt1 and Foxl2 in sex differentiation via estrogen production in tilapia as demonstrated by TALENs. *Endocrinology*, 154, 12 : 48, 14-25.
15. Tautz, D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.*, 17, 6463-6471.
16. Field, D., & Wills, C. (1998). Abundant microsatellite polymorphism in *Saccharomyces cerevisiae*, and the different distributions of microsatellites in eight prokaryotes and *S. cerevisiae*, result from strong mutation pressures and a variety of selective forces. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 1647-1652.
17. Olson, M., Hood, L., & Cantor, C. et al. (1989). A common language for physical mapping of the human genome. *Sciences*, 245 (4925), 1434-1435.
18. Sachdeva, K., Saxena, R., & Majumdar, A. et al. (2011). Use of ethnicity-specific sequence tag site markers for Y chromosome microdeletion studies. *Genet. Test. Mol. Biomarkers*, 15, 6, 451-459.
19. Crooijmans, R., Bierbooms, V., & Komen, J. et al. (1997). Mikrosatellite markers in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Animal Genetics*, 28, 129-134.
20. Connell Michael O, & Wright, Jonathan M. (1997). Microsatellite DNA in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7, 331-363.
21. Zhang, Xiao-Gu, Jin-Gou, Tong, & Bang-Xi, Xiong. (2006). Applications of microsatellite markers in studies of genetics and breeding of fish. *Chinese Journal of Agricultural Biotechnology*, 3, 83-87.
22. Javier, P., Jose, M., & Julia, B. (2010). Development of a microsatellite genotyping tool for the fish Gilthead seabream (*Sparus aurata*): applicability in population genetics and pedigree analysis. *Aquaculture Research*, 41, 1514-1522.
23. Yang, J. Q., Zhou, X. D., & Liu, D. et al. (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.
24. Xu, D., Lou, B., & Bertollo, C. L. A. et al. (2013). Chromosomal mapping of microsatellite repeats in the rock bream fish *Oplegnathus fasciatus*, with emphasis of their distribution in the neo-Y chromosome. *Molecular Cytogenetics*, 6, 1755-1766.
25. Ellegren, H. (2004). Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics*, 5, 435-445.



26. Gheyas, A. A., Cairney, M., & Gilmour, A. E. et al. (2006). Characterization of microsatellite loci in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and cross-amplification in other cyprinid species. *Molecular Ecology Notes (Accepted)*, 3, 455-461.
27. Chen, C. P., Chen, M., & Su, Y. N. et al. (2013). Mosaic small supernumerary marker chromosome 1 at amniocentesis: prenatal diagnosis, molecular genetic analysis and literature review. *Gene*, 15; 529, 1, 169-175.
28. Knytl, M., Kalous, L., & Symonová, R. et al. (2013). Chromosome studies of European cyprinid fishes: cross-species painting reveals natural allotetraploid origin of a Carassius female with 206 chromosomes. *Cytogenet Genome Res.*, 139, 4, 276-283.
29. Loosli, F., Staub, W., & Finger-Baier, K. C. et al. (2003). Loss of eyes in zebrafish caused by mutation of *chokh/rx3*. *EMBO Rep.*, 4, 9, 894-899.
30. Hummel, S. (2003). *Ancient DNA typing: Methods, strategies and applications*. New York: Springer-Verlag.
31. Gupta, M., Chyi, Y. S., Romero-Severson, J., & Owen J. L. (1994). Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoret. Appl. Genet.*, 89, 998-1006.
32. Bao, F., Munker, R., & Lowery, C. et al. (2007). Comparison of FISH and quantitative RT-PCR for the diagnosis and follow-up of BCR-ABL-positive leukemias. *Mol. Diagn. Ther.*, 11, 4, 239-245.
33. Vergnaud, G., & Denoeud, F. (2000). Minisatellites: Mutability and Genome Architecture. *Genome Research*, 10, 899-907.
34. Gaudet, M., Fara, A. G., & Beritognolo, I. et al. (2009). Allele-specific PCR in SNP genotyping. *Method. Mol. Biol.*, 415-424.
35. Luming, Z., Ying, W., & Wittwer, Carl T. (2011). Rare allele enrichment and detection by allele-specific PCR, competitive probe blocking, and melting analysis. *BioTechniques*, 50, 5, 311-318.
36. Ordas, A., Kanwal, Z., & Lindenberg, V. et al. (2013). Micro RNA-146 function in the innate immune transcriptome response of zebrafish embryos to *Salmonella typhimurium* infection. *BMC Genomics*, 14, 696-701.
37. Polinski, M., Hamilton, D. B., & Nowak, B. et al. (2013). SYBR, TaqMan, or both: highly sensitive, non-invasive detection of *Cardicola* blood fluke species in Southern Bluefin Tuna (*Thunnus maccoyii*). *Mol. Biochem. Parasitol.*, 191, 1, 7-15.
38. Balakrishnan, L., & Bambara, R. (2013). Flap Endonuclease 1. *Annual Review of Biochemistry*, 82, 119-138.
39. Patel, N., Atack, J. M., & Grasby, J. A. (2013). Flap endonucleases pass 5'-flaps through a flexible arch using a disorder-thread-order mechanism to confer specificity for free 5'-ends. *Oxford Journals Life Sciences Nucleic Acids Research*, 40, 4507-4519.
40. Walter, R. B., Rolig, R. L., & Kozak, K. A. et al. (1993). Cloning and gene map assignment of the Xiphophorus DNA ligase 1 gene. *Mol. Biol. Evol.*, 10, 6, 1227-1238.
41. Jin, Y., Pan, X., & Cao, L. et al. (2013). Embryonic exposure to cis-bifenthrin enantioselectively induces the transcription of genes related to oxidative stress, apoptosis and immunotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*). *Shellfish Immunol.*, 34, 2, 717-723.
42. Liu, J., Gong, L., & Chang, C. et al. (2012). Development of novel visual-plus quantitative analysis systems for studying DNA double-strand break repairs in



- zebrafish. *Genet Genomics*, 39, 9, 489-502.
43. Joyce, E. F., Williams, B. R., & Xie, T. et al. (2012). Identification of genes that promote or antagonize somatic homolog pairing using a high-throughput FISH-based screen. *PLoS Genet.*, 8, 5, 567-574.
 44. Brown, B., & Epifanio, J. (2003). *Nuclear DNA. Population Genetics: Principles and Applications for Fisheries Scientists*. E. M. Hallerman. (Ed.); Amer. Fish. Society. Bethesda, Maryland, USA.
 45. Cassatella, D., Martino, N., & Valentini, L. et al. (2013). Male infertility and copy number variants (CNVs) in the dog: a two-pronged approach using Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) and Fluorescent In Situ Hybridization (FISH). *BMC Genomics*, Dec. 27; 14, 1, 921-926.
 46. Pereira, C. S., Aboim, M. A., & Ráb, P. et al. (2013). Introgressive hybridization as a promoter of genome reshuffling in natural homoploid fish hybrids (Cyprinidae, Leuciscinae). *Heredity (Edinb.)*, 4, 110-118.
 47. Morgan, J. A., Macbeth, M., & Broderick, D. et al. (2013). Hybridisation, paternal leakage and mitochondrial DNA linearization in three anomalous fish (*Scombridae*). *Mitochondrion*, 13, 6, 852-861.
 48. Karafiatova, M., Bartos, J., & Kopecky, D. et al. (2013). Mapping nonrecombining regions in barley using multicolor FISH. *Chromosome Res.*, 21, 8, 739-751.
 49. Ravindra, K., Kushwaha, B., & Nagpure, N. (2013). Characterization and physical mapping of 18S and 5S ribosomal genes in Indian major carps (*Pisces, Cyprinidae*). *Micron.*, 49, 40-45.
 50. Gamble, T., & Zarkower, D. (2014). Identification of sex-specific molecular markers using restriction site associated DNA sequencing (RAD-seq). *Mol. Ecol. Resour.*, 10, 675-780.
 51. Carbonari, M., Tedesco, T., & Fiorilli, M. (2014). Correlation between terminal restriction fragments and flow-FISH measures in samples over wide range telomere lengths. *Cell Prolif.*, 47, 1, 20-27.
 52. Ocalewicz, K., Furgala-Selezniow, G., & Szmyt, M. et al. (2013). Pericentromeric location of the telomeric DNA sequences on the European grayling chromosomes. *Genetica*, 141, 10-12, 409-416.
 53. Southern, E. M. (1975). Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.*, 98, 3, 503-517.
 54. Butler, John M. (2005). *Forensic DNA typing. Biology, technology, and genetics of STR markers*. (2nd ed.) USA: Elsevier.
 55. Zacs, D., Rjabova, J., & Bartkevics, V. (2014). New perspectives on diastereoselective determination of hexabromocyclododecane traces in fish by ultra high performance liquid chromatography-high resolution orbitrap mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 21, 1330-1339.
 56. Asakawa, M., & Noguchi, T. (2014). Food poisonings by ingestion of cyprinid fish. *Toxins (Basel)*, 6, 2, 539-555.
 57. Devier, M. H., Du-Lacoste, M. Le., & Akcha, F. et al. (2013). Biliary PAH metabolites, EROD activity and DNA damage in dab (*Limanda limanda*) from Seine Estuary (France). *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 20, 2, 708-722.
 58. Levi, L., Ziv, T., & Admon, A. et al. (2012). Insight into molecular pathways of retinal metabolism, associated with vitellogenesis in zebrafish. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 302, 6, 626-644.
 59. Pauletto, M., Milan, M., & Moreira, R. et al. (2014). Deep transcriptome sequencing of *Pecten maximus* hemocytes: A genomic resource for bivalve immunology. *Fish Shellfish Immunol.*, Jan., 31.



60. Sahoo, P., Kar, B., & Mohapatra, A. et al. (2013). De novo whole transcriptome analysis of the fish louse, *Argulus siamensis*: first molecular insights into characterization of Toll downstream signalling molecules of crustaceans. *Exp. Parasitol.*, 135, 3, 629-641.
61. Zhang, J., Liu, Y., & Zhang, X. et al. (2013). The identification of microRNAs in the whitespotted bamboo shark (*Chiloscyllium plagiosum*) liver by Illumina sequencing. *Gene*, 527, 1, 259-265.
62. Yang, H., Zhou, Y., & Gu, J. et al. (2013). Deep mRNA sequencing analysis to capture the transcriptome landscape of zebrafish embryos and larvae. *PLoS One*, 8, 5, 456-464.

МОЛЕКУЛЯРНО–ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ И МЕТОДЫ ИХ ИДЕНТИФИКАЦИИ В СОВРЕМЕННОМ РЫБОВОДСТВЕ (ОБЗОР)

И. И. Грициняк, info@ifr.com.ua, Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев

О. В. Залоило, ozaloilo@yahoo.com, Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев

И. А. Залоило, zaloilo@yahoo.com, Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев

Н. А. Борисенко, b_natalia@i.ua, Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев

Цель. За последние годы в современном экспериментальном рыбоводстве широко используются молекулярно–генетические маркеры. В данное время эта методика представлена дифференцированными подходами с индивидуальными механизмами и четко очерченными возможностями. Многочисленные публикации о молекулярно–генетических маркерах в научной периодике преимущественно представляют собой сугубо практические данные. Таким образом, обобщение и анализ существующей информации об общих принципах действия и границах возможностей основных методов с использованием молекулярно–генетических маркеров является актуальной проблемой. В частности, такое описание позволит более эффективно планировать эксперимент и получать желаемые результаты с повышенной достоверностью.

Результаты. В работе рассмотрены основные типы переменных участков ДНК, которые могут быть использованы в качестве молекулярно–генетических маркеров при определении уровня гибридизации, проведении генетической инвентаризации популяции и исследовании других проблем современного рыбоводства. Также статья содержит обзор основных современных методов, которые используются для идентификации молекулярно–генетических маркеров.

Научная новизна. Данная работа является обобщением современных представлений о механизмах экспериментальной работы с использованием молекулярно–генетических маркеров. Информация представлена в форме последовательного изложения принципов и назначения каждого из методов, а также весомых достижений в рыбоводстве при их использовании.

Практическая значимость. Представленный обзор классических и современных литературных данных о молекулярно–генетических маркерах может быть использован при планировании, модернизации и коррекции схем опытов в современном рыбоводстве.

Ключевые слова: молекулярно–генетические маркеры, молекулярно–генетические методы, ПЦР, ДНК, микросателлиты.



MOLECULAR GENETIC MARKERS AND METHODS OF THEIR IDENTIFICATION IN MODERN FISH-FARMING (REVIEW)

I. Hrytsyniak, info@ifr.com.ua, Institute of Fisheries NAAS, Kyiv

O. Zaloilo, ozaloilo@yahoo.com, Institute of Fisheries NAAS, Kyiv

I. Zaloilo, zaloilo@yahoo.com, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

N. Borysenko, b_natalia@i.ua, Institute of Fisheries NAAS, Kyiv

Purpose. *The application of molecular genetic markers has been widely used in modern experimental fish-farming in recent years. This methodology is currently presented by a differentiated approach with individual mechanisms and clearly defined possibilities. Numerous publications in the scientific literature that are dedicated to molecular genetic markers for the most part offer purely practical data. Thus, the synthesis and analysis of existing information on the general principles of action and the limits of the main methods of using molecular genetic markers is an actual problem. In particular, such a description will make it possible to plan more effectively the experiment and to obtain the desired results with high reliability.*

Findings. *The main types of variable parts of DNA that can be used as molecular genetic markers in determining the level of stock hybridization, conducting genetic inventory of population and solving other problems in modern fish-farming are described in this paper. Also, the article provides an overview of principal modern methods that can be used to identify molecular genetic markers.*

Originality. *This work is a generalization of modern ideas about the mechanisms of experiments with molecular genetic markers in fish-farming. Information is provided in the form of consistent presentation of the principles and purpose of each method, as well as significant advances during their practical application.*

Practical value. *The proposed review of classic and modern literature data on molecular genetic markers can be used for planning, modernization and correction of research activity in modern fish-farming.*

Key words: *molecular genetic markers, molecular genetics methods, PCR, DNA, microsatellites.*

