

Doğal levrek (*Dicentrarchus labrax*) Anaçlarında Mikrosatelit Polimorfizmi

Bilge Karahan

Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, 35100 Bornova, İzmir, Türkiye
*E-mail: bilge.nomm@ege.edu.tr

Abstract: *Microsatellite polymorphism of natural sea bass (Dicentrarchus labrax) breeders.* Determination of genetic structure of available aquaculture stocks is an important subject for protecting biodiversity and reducing effects of escapes from farms and also for getting good results for long term from selective breeding. In the study broodstock (Akvatek 149, Egemar 81) of two hatcheries were compared using microsatellite polymorphism, changes in parameters for loci depending on the population were observed. Allel numbers of 12 loci that were investigated were between 3 and 17 when populations considered separately. DLA0064 was found to be the most polymorphic locus for Akvatek ($H_o=0.9697$, $H_e=0.8479$) and DLA0070 was found to be the most polymorphic locus for Egemar ($H_o=0.8333$, $H_e=0.8433$). According to all results, it can be said that microsatellite polymorphism might show changes depending on the populations.

Key Words: Sea bass, *Dicentrarchus labrax*, microsatellites, polymorphism, genetic diversity.

Özet: Su ürünleri yetiştiriciliğinde eldeki stokların genetik yapısını tanımlamak, biyolojik çeşitliliğin korunması ve çiftliklerden doğaya kaçışın etkilerinin en aza indirilmesinin yanında, uygulanan seleksiyon yoluyla ıslah programlarının da uzun vadede yararlı sonuçlar ortaya çıkarması gibi açılardan önemlidir. Çalışmada iki kuluçkahanenin anaç stoklarının (Akvatek 149, Egemar 81 adet) genetik yapısı mikrosatelit polimorfizmi açısından karşılaştırılmış, lokuslara ait parametrelerin popülasyonlara göre değiştiği gözlenmiştir. İncelenen 12 adet lokusun allel sayıları popülasyonlar ayrı ayrı ele alındığında 3 ile 17 arasında değişmektedir. Akvatek için en polimorfik lokus DLA0064 ($H_o=0.9697$, $H_e=0.8479$), Egemar için DLA0070 ($H_o=0.8333$, $H_e=0.8433$) olarak belirlenmiştir. Tüm sonuçlara göre mikrosatelit polimorfizminin popülasyonlara göre değiştiği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Levrek, *Dicentrarchus labrax*, mikrosatelit, polimorfizm, genetik çeşitlilik.

Giriş

Levrek (*Dicentrarchus labrax*) Akdeniz ve Avrupa'nın Atlantik kıyılarında doğal olarak yayılım gösteren ve bu bölgelerde yetiştiriciliği en yaygın yapılan bir türdür. Türkiye'de de alabalıktan sonra kültürde ikinci sırada gelmektedir. Bu bağlamda bu türün genetik yönetimi ve seleksiyon yoluyla üretiminin daha verimli bir hale getirilmesi sektöre önemli katkılar sağlayacaktır. Bu amaca yönelik olarak öncelikle eldeki popülasyonların genetik özellikleri hakkında fikir sahibi olunması önemli bir konudur.

Popülasyon genetiği açısından bakıldığında levreklerde popülasyon farklılaşması tüm deniz balıkları içinde en çok çalışılmış olanıdır (Haffray ve diğ. 2007). Akdeniz'in çeşitli bölgelerinden ve Atlantik kıyılarından örnekler alınarak birçok levrek popülasyonu genetik açıdan incelenmiştir. Bu çalışmalarda allozim, mitokondrial DNA ve mRNA ile nükleus DNA'sı üzerinde bulunan mikrosatelit lokusları en çok kullanılan belirteçlerden olmuştur (Allegrucci ve diğ. 1997, Caccone ve diğ. 1997, Sarropoulou ve diğ. 2009, Chistiakov ve diğ. 2005).

Mikrosatelitler; genom içinde 100 defaya kadar tekrarı bulunan türe özgü lokuslardır. Yüksek derecede polimorfik olmaları sayesinde aileler ve hatta bireyler arasındaki farklılıkların dahi gözlenmesine olanak sağlamaktadırlar (Magoulas, 2003, Karahan, 2004, Xiao-Gu ve diğ. 2006). Avrupa levreğine ait genetik bağlantı haritası 174 mikrosatelit belirteciyle (marker) oluşturulmuştur (Chistiakov ve diğ. 2005). Bu gün dünyada balıklar üzerinde seleksiyon yoluyla yapılan ıslah çalışmalarında mikrosatelitler en önemli belirteçlerdir. Akrabalı yetiştiriciliğin

izlenmesi, ana baba analizleri ve kantitatif karakter lokuslarının tahmini, stokların genetik olarak tanımlanması, doğal ile yetiştiricilik stoklarının karşılaştırılması, çiftliklerden doğaya kaçışın doğal popülasyonların genetik yapısı üzerine etkileri bu belirteçler sayesinde ortaya konmaktadır (Magoulas, 2003).

Bir işletmedeki anaç popülasyonunun genetik yapısının bilinmesi, o işletmede uygulanacak herhangi bir selektif ıslah çalışması için gerekli bir konudur. Yapılan pek çok çalışmada en başta salmon olmak üzere, alabalık, halibut, morina, levrek ve çipura gibi yaygın olarak üretimi yapılan balık türleri için moleküler belirteçler yardımıyla ıslah programları oluşturulmuş ve sektörel düzeyde devam ettirilmiştir (Garcia de Leon ve diğ. 1988, Norris ve diğ. 2000, Innocentis ve diğ. 2005 Xiao-Gu ve diğ. 2006).

Bu çalışmada iki ayrı kuluçkahanenin doğadan elde ettiği levrek anaçları 12 adet mikrosatelit belirteci yardımıyla incelenmiştir. Burada elde edilen sonuçlar seleksiyon yoluyla yapılacak ıslah çalışmalarında kullanılacak yararlı kaynaklar olacaktır. Aynı zamanda ekonomik değeri yüksek olan özelliklerin değerlendirilmesi bu sayede kolaylaşacaktır. Coğrafik olarak farklı iki bölgeye ait genetik farklılaşmanın incelenmesi de daha sonraki seleksiyon yoluyla ıslah çalışmalarının planlanmasında yardımcı olacaktır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılan levrekler (*Dicentrarchus labrax*) EgeMar ve Akvatek su ürünleri işletmelerinin doğal anaç popülasyonlarından elde edilmiştir. EgeMar'ın sahip olduğu 81, Akvatek'in ise 149

adet anacı analiz edilerek, polimorfik yapıları ortaya konmuştur. Balıklar anazetizik madde (2 phenoxyethanol) kullanılarak bayıltılmış ve kuyruk kısmından kan alınarak 2 ml'lik EDTA'lı tüplerde DNA izolasyonu yapılmak üzere saklanmıştır.

Kandan genomik DNA izolasyonu Fenol-Kloroform kullanılarak yapılmıştır (Lopera-Barrero ve diğ. 2008). Bu yöntemle göre 100 µl kana 300 µl TNE solusyonu, 100 µl %20'lik SDS ve 50 µl proteinaz-k (10 mg/ml) eklendi, bütün gece boyunca 50°C'de bekletilmiş, ertesi gün ilk olarak bunun üzerine 445 µl fenol eklenerek 10dk hafif sallanmıştır. Daha sonra 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek üst kısmı ayrılmıştır. 445 µl fenol-kloroform eklenmiş ve tekrar 10 dk hafif sallanmıştır. Tekrar santrifüjün ardından üst kısma 445 µl kloroform:izoamilalkol eklenerek yine hafif sallanmıştır. Santrifüjden sonra üst kısma -20'de bekletilmiş olan %99,6'lık analitik etanol eklenmiş, karıştırılmış ve bu şekilde DNA gözle görünür hale getirilmiştir. Elde edilen DNA peleti etanolde uzaklaştırılarak kurutulmuş, TE bufferda çözülmüş ve +4°C'de ve saklanmıştır.

Elde edilen DNA'lardan 12 adet mikrosatelit lokusu PCR yöntemiyle yükseltgenerek çoğaltılmıştır (Tablo 1). PCR ürünlerinin DNA dizi analizi ABI 3100 cihazı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Her lokusa ait allel sayı ve büyüklükleri jel imajı üzerinden STRand v.2.4.19 programı kullanılarak belirlenmiştir.

Her örneğe ve her lokusa ait alleller belirlendikten sonra uygun yazılımlar ile istatistiksel değerlendirmeler yapılmıştır. Bu analizler için GENETIX ve POPULATIONS programları kullanılmıştır (Belkir ve diğ. 1996, Langella, 1999). Allel frekansları ve genetik çeşitlilik GENETIX 4.0 yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır (Nei, 1978). F_{is} (Wier ve Cockerham, 1984) ve genetik uzaklıklar POPULATIONS yazılımı ile hesaplanmıştır (Nei ve diğ. 1983).

Bulgular

Çalışmada ele alınan iki işletme anaç populasyonunun genetik durumlarını ortaya koymak amacıyla levrek balıklarına ait 12 adet mikrosatelit lokusu incelenmiştir (Chistiakov ve diğ. 2005). Analiz sonuçlarına göre populasyonlardaki heterozigotluk ve allel frekansları ile populasyonlar arasındaki genetik uzaklıklar belirlenerek her iki kuluçkahaneye ait genetik çeşitlilik ortaya konmuştur.

Her lokusa ait allel sayıları iki populasyon için de belirlenmiş ve Şekil 1'de sunulmuştur. Allel sayıları 3 ile 17 arasında değişmiştir. Bu sonuçlara göre DLA0078 (Akvatek: 16, Egemar: 17), DLA0066 (Akvatek: 15, Egemar: 16), DLA0073 (Akvatek: 16, Egemar: 15) en fazla sayıda allele sahipken, DLA00686 (Akvatek: 5, Egemar: 3)'ünün ise her iki populasyonda da en az sayıda alleli bulunan lokus olduğu gözlenmiştir.

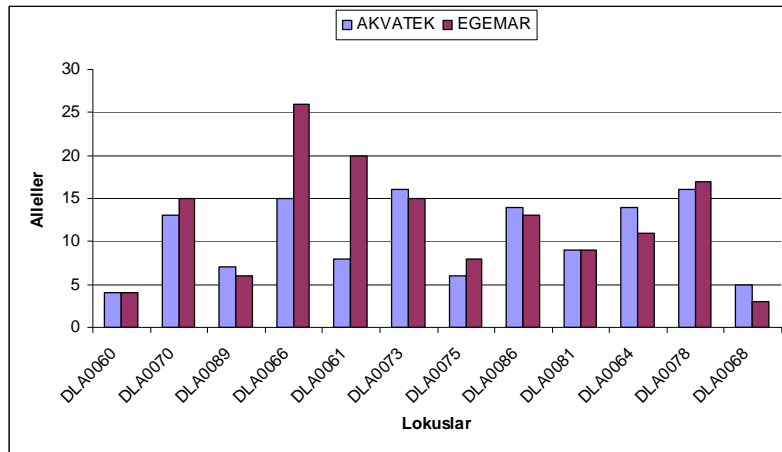
Allel sayılarının belirlenmesiyle her lokusa ait allel frekansları ile heterozigotluk seviyeleri hesaplanmıştır. Gözlenen ve beklenen heterozigotluklarla iki populasyona ait genetik parametreler, her lokus için Tablo 2'de verilmektedir. Gözlenen heterozigotluklar karşılaştırıldığında, iki işletmede farklı lokusların polimorfik olduğu görülmektedir. Buna göre Akvatek için en polimorfik lokus DLA0064 ($H_G=0.9697$) iken, Egemar için DLA0070 ($H_G=0.8333$) en polimorfik lokus olarak belirlenmiştir. Her iki populasyonda da en az polimorfik lokus DLA0089 (sırasıyla $H_G=0.2180$ ve 0.3623)'dur.

Her lokus için hesaplanan F_{is} değerlerinin her iki populasyonda önem sınırları içinde olduğu gözlenmiştir ($P<0.005$).

İki populasyon arasındaki genetik uzaklık 0.0725 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan mikrosatelit lokusları.

Lokus	Tekrar	Boyut aralığı	reverse 5'-3' sekans	forward 5'-3' sekans
DLA 0060	(CA)12(TA)3aa(CA)2	119-131	TGTAGTAATAATGCGCTCTGCAA	GAGAGTTCATCCTGTTCGCTC
DLA 0070	(AC)30	126-155	GCCATCTGGCTAGCTTCACT	TCTGCTTGCATCTGTGGAAT
DLA 0089	(GT)15	127-135	GTCAAACAGCCACCTA	ACGAGTAATGAGGACCCA
DLA 0066	(AG)22	135-161	GGCCATATGTGCTTGTCTT	GTTGACCGAGTCTTAGC
DLA 0061	(TG)14	153-167	CTCCCTGTCCATCTGTCTC	AAAGGCCAGTGAAACTCATGT
DLA 0073	(CT)36	157-181	AGTTCAGAGCGGCAACTGT	CATGACTTCATGTGCTAATGTCC
DLA 0075	(CA)15	180-186	GGCAGAGATGGGAAATAGACA	CACATACACAAGCTTAACCC
DLA 0086	(AC)26	191-205	ACCTGGTGATTGGCAATTCT	GCTAGAGGATTCATGTCGCTT
DLA 0081	(CA)16	202-222	ATACCGAGCGACCATGTTG	GACGAAGACTTCAGACGAGCTAT
DLA 0064	(GA)23	222-250	TTCTATGCTCCTGCGGTTTT	GTCAGTCACATTCCTGGCTG
DLA 0078	(AG)29	223-243	CACAAGGAACCGAGACAAGA	AAGACTGGACCTCTGGAGACC
DLA 0068	(CA)7cgc acg(CA)3	247-266	GCATTAGCATTGATTGTCCTG	CAACACCTGTTCTCTGAACC



Şekil 1. İki popülasyonda her lokusa ait allel miktarları.

Tablo 2. İki ticari kuluçkahaneye ait anaçların 12 mikrosatelit lokusu açısından genetik çeşitliliğinin özeti.

	Lokuslar	s	b	a	H _e	H _b	F _{is}
AKVATEK	DLA0064	14	217-249	221	0.9697	0.8479	-0.136
	DLA0081	9	201-217	207	0.7748	0.7160	-0.078
	DLA0066	15	125-159	137	0.8931	0.8303	-0.072
	DLA0073	16	150-184	164	0.9104	0.8767	-0.035
	DLA0070	13	119-149	135	0.6579	0.7341	0.108
	DLA0061	8	154-172	158	0.6241	0.5749	-0.082
	DLA0075	6	180-190	184	0.8182	0.6459	-0.263
	DLA0060	4	122-126	122	0.3378	0.4109	0.181
	DLA0078	16	216-254	230	0.7402	0.7638	0.035
	DLA0068	5	244-276	246	0.6667	0.5323	-0.246
	DLA0086	14	172-214	202	0.4956	0.7255	0.321
	DLA0089	7	122-132	124	0.2180	0.2578	0.158
EGEMAR	DLA0064	11	217-239	219	0.3636	0.7172	0.505
	DLA0081	9	201-219	207	0.7424	0.7222	-0.020
	DLA0066	16	123-157	137	0.6615	0.8754	0.252
	DLA0073	15	152-180	162	0.6575	0.8741	0.254
	DLA0070	15	113-153	137	0.8333	0.8433	0.019
	DLA0061	10	150-172	158	0.7342	0.7426	0.018
	DLA0075	8	178-192	184	0.7887	0.7285	-0.076
	DLA0060	4	116-126	124	0.5570	0.5240	-0.057
	DLA0078	17	198-254	230	0.6269	0.8656	0.283
	DLA0068	3	246-264	246	0.4419	0.4897	0.109
	DLA0086	13	184-206	198	0.6667	0.8164	0.192
	DLA0089	6	124-132	124	0.3623	0.3887	0.075

s=Her lokusa ait allel sayıları, b=allel büyüklük aralığı (baz çifti), a=en yüksek frekanslı allelin büyüklüğü, H_e=gözlenen heterozigotluk, H_b=beklenen heterozigotluk. (P<0.05), F_{is} (F istatistikleri).

Her iki popülasyon da F_{is} değerlerine göre Hardy-Weinberg dengesi içinde bulunmaktadır.

Tartışma ve Sonuç

Çalışmada baz büyüklükleri 119 ile 266 arasında değişen, oldukça polimorfik 12 adet levrek mikrosatelit lokusu belirteç olarak kullanılmıştır. Bu güne kadar yapılan bir çok çalışmada Akdeniz'in çeşitli bölgelerinde bulunan levrek popülasyonları mikrosatelit DNA polimorfizmi açısından incelenmiştir. Bahri-Sfar ve arkadaşlarının (2000) yaptığı geniş bir çalışmada 19

bölgeden örnekler alınmış, 6 mikrosatelit lokusu kullanılarak bu popülasyonların genetik yapısı araştırılmıştır. Diğer bir çalışmada Fransa ve İspanya kıyılarından alınan örnekler yine 6 mikrosatelit belirteci yardımıyla incelenmiştir (Garcia de Leon ve diğ. 1995). Yapılan çalışmada iki kuluçkahanede kullanılan fakat Ege Denizi'nin farklı bölgelerinden toplanmış olan anaç popülasyonlarının 12 mikrosatelit belirteci tarafından incelenmesi daha detaylı sonuçlar ortaya koyarak bu konudaki literatüre önemli bir katkı sağlamaktadır.

Her lokusa ait alleller ve allel frekansları incelendiğinde popülasyonlar içinde mikrosatelit polimorfizminin lokusa bağlı

olduğu görülmüştür. Ele alınan populasyonlar için bazı lokusların allel sayıları 17'ye kadar çıkarken (DLA0078-Egemar), allel sayıları 3 ile sınırlı kalan lokuslar (DLA0068-Egemar) da ortaya çıkmıştır. Böylece her lokusun karakteristiği açıkça izlenebilmektedir.

İki populasyon aynı lokuslar açısından incelendiğinde, allel sayılarında ve buna bağlı olarak allel frekansı ve heterozigotluklarda çeşitli farklılıklar gözlenmiştir. Bu sonuç mikrosatellit polimorfizminin populasyondan populasyona değiştiğini açıkça göstermektedir. Yetiştiricilik açısından genellikle etkin populasyon büyüklüğünün az olması ve kontrolsüz ıslah programları kültürü yapılan türlerde genetik dağılımın azalmasında en etkili nedenlerdendir (Hansen ve diğ. 2001). Aynı zamanda, ıslah programları uygulamak üzere oluşturulan stokların genetik çeşitliliğinin ne şekilde dağılım gösterdiğini anlamak da oldukça önemlidir (Zhu ve diğ. 2006). Bu çalışmanın sonuçlarına göre daha sonra yapılması planlanan ıslah çalışmalarında kullanılacak olan lokuslar ve aynı zamanda anaç olarak seçilecek olan bireyler de daha net biçimde belirlenebilecektir.

Genel olarak her iki populasyonda tahmin edilen heterozigotluk değerleri aynı türün farklı bölgelerdeki doğal

populasyonları ile karşılaştırıldığında benzer dağılım göstermektedir. H_C ve H_B değerleri bazı levrek populasyonlarında sırasıyla 0.69 ile 0.84 arasında hesaplanmıştır (Castilho ve McAndrew, 2000). Bu da iki kuluçkahaneye ait anaç populasyonlarında, doğal populasyonlarla paralel bir genetik dağılımın olduğunu göstermekte, bu bağlamda anaçlarda herhangi bir akrabalık bulunmamakta ve bu durum yetiştiricilik açısından oldukça olumlu görülmektedir. Yetiştiricilik kontrolsüz bir şekilde yapıldığında akrabalığın artmasıyla birlikte artan homozigotluk ile o populasyondaki gen çeşitliliğinin azalacağı beklenen bir sonuçtur. Homozigotluğun artması verimin düşmesi şeklinde kendini gösterebilir, bunun yanında çevre koşullarına karşı direncin azalmasıyla birlikte hastalıklara daha kolay yakalanma, deformasyonların artması, yemin ete dönüşüm oranının azalması bu konuda görülme olasılığı olan olumsuz etkilerden başlıcalarıdır (Karahan ve diğ. 2007). Bu yüzden doğal populasyonların genetik yapısının bilinmesi, bu yapının korunabilmesi açısından önemlidir. Bu çalışma sonuçlarından ortaya çıkan genetik çeşitlilik, bu kuluçkahanelerde yapılacak dikkatli bir programlamayla her nesil için kontrol altında tutularak devam ettirilebilir.

Kaynaklar

- Allegrucci, G., C., Fortunato, V., Sbordoni, 1997. Genetic structure and allozyme variation of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, *D. punctatus*) in the Mediterranean Sea. Marine Biology. Vol. 128, 347-358.
- Bahri-Sfar, L., C., Lemaire, O., C., Ben Hasisine, F., Bonhomme, 2000. Fragmentation of sea bass populations in the western and eastern Mediterranean as revealed by microsatellite polymorphism. The Royal Society 267. pp:929-935.
- K. Belkhir, P. Borsa, J. Goudet, L. Chikhi and F., Bonhomme. 1996. Genetix, Version. 4.0-logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome et Populations, CNRS UPR 9060, Université Montpellier 2, Montpellier, France. <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix.htm>.
- Caccone, A., F., Allegrucci, C., Fortunato, V., Sbordoni, 1997. Genetic differentiation within European sea bass (*D. labrax*) as revealed by RAPD-PCR assays. The Journal of Heredity.88(4), 316-124.
- Castilho, R., B., C., McAndrew, 2000. Microsatellite polymorphism in wild populations of European sea bass. Preliminary results, CHIEAM-Options Méditerranéennes. Pp.265-272.
- Chistiakov, A. D., B., Hellems, C., S., Haley, A., S., Law, C., S., Tsiggenopoulos, G., Kotoulas, D., Bertotto, A., Libertini, A., M., F., Volckaert, 2005. A microsatellite linkage map of European sea bass. Genetics. 10.1534/genetics.104.039719.
- Garcia de Leon, F. J., M., Canonne, E., Quillette, F., Bonhomme, B., Chatain, 1988. The application of microsatellite markers to breeding programmes in the sea bass, *Dicentrarchus labrax*. Aquaculture 159. pp. 300-316.
- Garcia de Leon, F. J., J., F., Dallas, B., Chatain, M., Canonne, J., J., Versini, F., Bonhomme, 1995. Development and use of microsatellite markers in sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Perciformes: Serranidae). Molecular Marine Biology and Biotechnology 4. pp:62-68.
- Haffray, P., C. S., Tsiggenopoulos, F., Bonhomme, B., Chatain, A., Magoulas, M., Rye, A., Triantafyllidis, C., Triantaphyllidis, 2007. European sea bass-*Dicentrarchus labrax*. Genimpact Final Scientific Report.
- Hansen, M.M., D.E., Ruzzante, A.E., Nielsen, K.L.D., Mensberg, 2001. Brown trout (*Salmo trutta*) stocking impact assessment using microsatellite DNA markers. Ecol. Appl. 11, 148-160.
- Innocentis, S., E., Miggiano, A., Ungaro, S., Livi, L., Sola, D., Crosetti, 2005. Geographical origin of individual breeders from gilthead sea bream (*Sparus aurata*) hatchery broodstocks inferred by microsatellites profiles. Aquaculture 247. pp.227-232.
- Karahan, B., 2004. Comparing genotypic differences of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L. 1758) using microsatellites. (In Turkish). Doktora Tezi. E. Ü. Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü.
- Karahan, B., E., Özcan-Gökçek, M., Hekimoğlu, 2007. Su ürünleri yetiştiriciliğinin genetik yapıya etkisi ve alınabilecek önlemler. Aquaculture&Fisheries, Sayı:8, 32-36.
- Langella, O. 1999. Populations v. 1.2.30. GNU General Public License. <http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/>.
- Lopera-Barrero, M., N., J., A., Povh, P., R., Ribeiro, P., C., Gomes, C., B., Jacometo, T., S., Lopes, 2008. Comparison of DNA extraction protocols of fish fin and larvae samples: modified salt (NaCl) extraction. Short Communication. Ciencia e Investigación Agraria 35 (1): 64-74.
- Magoulas, A., 2003. Application of molecular markers to aquaculture and broodstock management with special emphasis on microsatellite DNA. CHIEAM-Options Méditerranéennes, pp:153-168.
- Nei, M., T. Maruyama, C. I. Wu. 1983. Models of evolution of reproductive isolation. Genetics 103:557-579.
- Nei, 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89. pp:583-590.
- Norris, A., T., D., G., Bradley, E., P., Cunningham, 2000. Parentage and relatedness determination in farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*) using microsatellite markers. Aquaculture 182. pp.73-83.
- Sarropoulou, E., P., Sepulcre, B., L., Poisa, V., Mulero, J., Meseguer, A., Figueras, B., Novoa, V., Terzoglou, R., Reinhardt, A., Magoulas, G., Kotoulas, 2009. Profiling of infection specific mRNA transcripts of the European seabass *Dicentrarchus labrax*. BioMed Central (BMC). 10:157.
- Wier, B., S., C., C., Cockerham, 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38. pp:1358-1370.
- Xiao-Gu, Z., Jin-Gou, Tong, X., Bang-Si, 2006. Applications of microsatellite markers in studies of genetics and breeding of fish. Chinese journal of agricultural biotechnology 3. pp.83-87.
- Zhu, Z., Y., G., Lin, L., C., Lo, X., Y., Xu, F., Feng, R., Chou, G., H., Yue, 2006. Genetic analyse of Asian sea bass stocks using novel polymorphic microsatellites. Aquaculture 256. pp.167-173.