

УДК 636.52/58:575.113/118

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНОГО ПОЛИМОРФИЗМА У СТРАУСОВОДСТВЕ

Осадчая Ю., Жало В., Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
e-mail:seledat@ukr.net

В статье обобщены литературные данные касательно микросателлитного полиморфизма у страусов и его использования для построения генетической карты. Исследователями Китайского аграрного университета было исследовано 150 голов страусов по 30 микросателлитам. На один локус приходилось число аллелей от 5 на локус CAU78 до 34 на локус CAU85. Значения наблюдаемой гетерозиготности колебалось от 0,467 (локус CAU78) до 0,993 (локус CAU16), в то время как для ожидаемой гетерозиготности – от 0,510 (локус CAU78) до 0,953 (локус CAU85). Наивысший индекс полиморфизма (PIC) наблюдался по локусам CAU85 (0,932), CAU64 (0,861) и CAU32, 75 (0,852), соответственно. Микросателлитные маркеры, используемые в исследовании, были очень полиморфны, о чем свидетельствует большое количество обнаруженных аллелей и высокий уровень гетерозиготности.

Ключевые слова: микросателлиты, полиморфизм, страусы, генетическая карта

MICROSATELLITE POLYMORPHISM IN OSTRICH

Osadchaya Yu., Zalo V.

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, e-mail:seledat@ukr.net

The article summarizes the published data on microsatellite polymorphism in ostriches and its use for the construction of the genetic map. Researchers China Agricultural University has been investigated 150 ostriches on 30 microsatellites. One locus had the number of alleles per locus from 5 to 34 CAU78 locus CAU85. The values of the observed heterozygosity ranged from 0.467 (locus CAU78) to 0.993 (locus CAU16), while for the expected heterozygosity - from 0.510 (locus CAU78) to 0.953 (locus CAU85). The highest index of polymorphism (PIC) was observed at loci CAU85 (0,932), CAU64 (0,861) and CAU32, 75 (0,852), respectively. Microsatellite markers used in the study were highly polymorphic, as evidenced by the large number of alleles detected and a high level of heterozygosity.

Key words: microsatellites, polymorphism, ostriches, genetic map

Введение. В последние годы изучение молекулярной генетики внесло свой вклад в более глубокое признание использования генетической информации сельскохозяйственных животных. Это привело к созданию междисциплинарных программ геномов разных видов животных. Основной целью отображения генома животных является определение местоположение и расстояние между генами на хромосомах, а также для поиска генетических маркеров и определения качества продукции (локусы количественных признаков – QTL). В наше время зарегистрировано несколько генетических карт в сельскохозяйственных животных, таких как свиньи [21], крупный рогатый скот [16], овцы [7] и куры [8, 9].

За последние несколько лет страусоводство набирает популярность во всем мире как новая отрасль сельскохозяйственной деятельности [2], так как от этих птиц можно получить диетическое мясо, ценные шкуры, перья и яйца [3, 4, 12, 22]. Нарастающий интерес к бескилевым птицам, особенно страусам и эму привел к увеличению спроса на информацию о них [5, 13, 23], а особенно их генетических аспектах [6, 11, 14, 17,18,19, 25, 26]. Эти исследования направлены на определение генетической структуры страусов, например, оценки генетической изменчивости и анализа взаимосвязи между особями, принадлежащими к данной популяции [28].

Данная статья освещает ряд исследований, посвященных генетическому анализу популяции страусов с использованием молекулярных методов [17]. Полученные результаты могут быть использованы для тестирования генетического разнообразия и идентификации

новых микросателлитных последовательностей. Следующий этап исследований должен включать изучение генома страусов, поскольку в настоящее время в доступной литературе есть нехватка данных о генетических картах сцепления для любых бескилевых. Однако, предварительная генетическая карта страуса разработана Хуанг и др. [14]. Ученые проанализировали 104 полиморфных микросателлитных маркеров с использованием двух поколений страусов.

Основная цель данного исследования заключалась в определении полиморфизма отдельных микросателлитных маркеров, характерных для страусов, так как микросателлитный полиморфизм широко используется в исследованиях по картографии генома.

Материалы и методы. Экспериментальный материал состоял из перьев, собранных из 150 страусов страусиной фермы в Styrzów, на которой птиц содержат в условиях соответствующих рекомендациям ЕС, Комитета Европейской конвенции о защите животных, содержащихся на фермах (T-AP) - Проект «Рекомендации по бескилевые (страусы, эму и нанду)» [24].

ДНК страусов ученые выделяли из перьев (не инвазивным методом) с помощью DNeasy Tissue KIT 250 из Qiagen. Каждый образец был осмотрен с помощью спектрофотометра и электрофореза. Анализировали 30 микросателлитных последовательностей [25]. Характеристика локусов представлена в таблице 1.

Усиление выбранных микросателлитных последовательностей проводили с использованием термоциклера PTC-200 (MJ Research). ПЦР проводили в общем объеме 10 мл, содержащих 10 нг матричной ДНК, 0,5 мМ каждого нуклеотида, 100 нмоль каждого праймера, 1,5 мМ MgCl₂, 50 мМ KCl, 10 мМ Трис-HCl, 0,01% Triton X 100 и 0,5 единицы ДНК-полимеразы (POLGEN). Условия ПЦР были оптимизированы для всех 30 пар праймеров. Протокол ПЦР ставили с шагом денатурации в течение 5 мин при 94 °С, 35 циклов при 94 °С в течение 45 с, 52,5-69,5 °С в течение 45 с (отжиг) и при 72 °С в течение 90 с (расширение), с конечной стадией элонгации 10 мин при 72 °С.

Флуоресцентные ПЦР-продукты разделяли с помощью электрофореза с использованием четырех капилляров генетического анализатора Applied Biosystems 3130 и программного обеспечения GeneScan. Результаты были визуализированы и генотипированы с использованием GeneScan 2.1. Кроме того, компьютерная программа GeneMapper (Applied Biosystems) была использована для автоматического определения размера аллеля для отдельных маркеров.

1. Характеристики 30 микросателлитных локусов страуса

Микросателлит	Последовательность микросателлита	Повторение мотива	Количество аллелей	Длина аллелей
CAU1	TTACAAGCAAGGTAGAACCCA	(AC) ₈ AT(GC) ₃ (AC) ₇	10	86–104
	GCAAGCAACCCAATCCCTG			
CAU3	AACTAAGTATAGCCCTGTTACA	(CA) ₉	6	115–125
	TGCGAGTCTTTCTAGTTCTAC			
CAU7	CACTCCTGTCCCCTACTTG	(AC) ₁₈	12	185–211
	CTGTAGTGTATTTAGAGACTGA			
CAU11	CCTTGACAGTCTTCCCATATGAC	(CA) ₁₂	7	98–114
	AACACAGAGGGCTTAGTCCTACA			
CAU14	ATTTAACTTCTCTAAGGCACTC	(CA) ₁₆	14	142–178
	GAGGAGCAATTCAGACAGAC			
CAU16	TGTCCCTGCAGTCTCAGTTTT	(CA) ₂₇	7	188–204
	GCCAGGTATGTGCATGTGTC			
CAU17	CGTAAACCCAGATAATCACAA	(CA) ₂₂	11	160–180
	AGTGGCATTGTAGCTCTTCA			
CAU22	TGACTGTAAATAAGCGAATGT	(AC) ₁₁	7	140–154
	CATATATTAAGCCACTCTAAAAT			
CAU23	AGGAACCGTGGAACACATTT	(CA) ₁₀	7	165–193
	GAGCTGTGAACGTCTTCATCC			
CAU25	ATGGGGCAGCATAAGAGTGT	(CA) ₅ CT(CA) ₈	6	197–207
	CCAGGTGAATTTGCCACATA			
CAU30	AGGGGAGCGTTCTCACTCA	(CA) ₁₉	9	117–137
	GCCACAAAGCAAAAGACCAC			
CAU32	ATACTGGTTTTGATTTGTGTGAT	(CA) ₁₀	7	177–205
	CATGGGAAGGGCAATAGATTT			
CAU34	ATTTGATAGCCAGAGCAGTTC	(CA) ₁₂	7	194–208
	TCTTACAAGATTTCACTATATACA			
CAU40	ACGGGGAGACTCAAGGATG	(CA) ₉	9	138–156
	GCTTGCGTGTGCATGAGTAT			
CAU42	AGTCCAGCCCGCATAAC	(CA) ₁₀	7	182–198
	CCTCTGTGGAGAGAACTGTGTG			
CAU43	ACTGAGTGCCCAGGTTTGG	(CA) ₁₇	6	211–221
	TGCTGTTTCTTCTTCTTTTAGGG			
CAU44	GCAAAGCAGTGCCTTAGTCAA	(CA) ₁₂	5	227–237
	AGCGTGTATCTGCCACATGA			
CAU57	AAGAGGCAACAGGAATAGGTA	(CA) ₇ (TA) ₅ (CA) ₅	6	201–221
	CAAAAATCTGGCTTGTCACCTA			
CAU64	AGCACCTCATCCCTCAAAC	(CATA) ₇ (CA) ₆ (TA) ₄	9	161–183
	AGATTTGGAGCATGGACTATT			

Микросателлит	Последовательность микросателлита	Повторение мотива	Количество аллелей	Длина аллелей
CAU65	TGAGAGTCTCCCAGAAATGC	(TA) ₁₂ (CA) ₉	6	181–191
	CAGAGAAATATATGCCTGTAAAT			
CAU68	TCTAAGCACTACCATCACGG	(TA) ₇ (CA) ₈ ... (CA) ₁₅	6	265–275
	GCTCCTTTTCATCTTTTAGGC			
CAU69	TGAGTAAGGCATGCTGCTTC	(GA) ₁₉	6	100–112
	CCTAAATGCAACCCTTCTGTTT			
CAU75	ACAGACCAGGGAGTCCAGCA	(GC) ₇ (AC) ₁₈	7	186–210
	ACCCTGCACCTTGACAACAT			
CAU76	GCACCAATCTTGATGTCCTG	(CA) ₁₁ CG(CA) ₅	10	220–254
	ACCTACCCAGAATGGCTTGA			
CAU78	CAGGTGGAAAGTGGGTATGC	(AC) ₈ C ₅	5	113–121
	GCTTTGTAAGTGTGGGTGTGG			
CAU83	AAACAAGCCGCTAGTGAGGA	(AC) ₁₆	8	198–218
	TGCAGACTCAGACCAGCATC			
CAU84	TATCAGTGCCATTATCGTCTC	(CA) ₁₂	7	202–214
	TGTCCCTTCTGTTTCTAATACT			
CAU85	GAGGTGCCTGTCTTGTTTAC	(AC) ₂₆	16	204–276
	AAAAGCACCTTCCCACATTG			
CAU97	TGCACGCACTAACTCCTGTC	(CA) ₁₀	5	152–166
	AGTTCCTTCCAAATGCTT			
CAU98	CACTCCACCGAATGCCTTTA	(CA) ₁₂	8	134–178
	TTTGTTTCAGGTGCAGAATGC			

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием программы Cervus [15]. Она включала в себя: определение частоты выявленных аллелей, оценивание наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, индекс полиморфизма (PIC) и вероятность исключения случайного совпадения аллелей (PE).

Наблюдаемая гетерозиготность H_o была оценена для всех микросателлитных локусов рассматриваемой популяции. Ожидаемая гетерозиготность H_e была рассчитана по формуле Отта [20] и Уир [27], PIC оценивалась по Botstein и др. [1].

Результаты и обсуждение. В целом по 30 микросателлитным локусам было идентифицировано 343 аллели. Наиболее полиморфными были локусы: CAU84, CAU32, CAU7, CAU75 и CAU76, характеризующиеся наибольшим количеством аллелей. Число аллелей на один локус колебалось от 5 по локусу CAU78 до 34 по локусу CAU85. По каждому микросателлитному локусу изучено в среднем 11,43 аллелей. Хотя другими учеными [17], анализировавшими 5 микросателлитных локусов был идентифицирован 51

аллель. Число аллелей в этих исследованиях на локус колебалось от 5 (локус ВИА-OS22) до 16 аллелей (локус VIAS-OS29). Среднее число аллелей на локус составляло 10,2.

Аналогичное исследование на выделения и характеристику 70 новых микросателлитных маркеров у страусов провели Тан и др. [25]. Число аллелей, полученных ими, колебалось от 2 до 16, в среднем 5,6 по локусу. Тем не менее, в исследованиях Уорд и др. [26], число аллелей по локусу колеблется от 5 до 18 и в Kimwele и др. [19] – от 6 до 25 аллелей.

На основании частоты отдельных аллелей исследуемых микросателлитных локусов оценили наблюдаемую гетерозиготность (H_o). Значения наблюдаемой гетерозиготности колебалась от 0,467 по локусу CAU78 до 0,993 по локусу CAU16 (табл. 2). Значения ожидаемой гетерозиготности (H_e) колебалось в диапазоне от 0,510 по локусу CAU78 до 0,953 по локусу CAU85. Следует отметить, что оба значения (H_o и H_e) в исследуемой популяции страусов были относительно высокими. По данным Kimwele и др. [19] значение средней гетерозиготности страусов, разводимых в Национальном парке Найроби, а также содержащихся на фермах в Кении, колеблется от 0,40 до 0,79. В свою очередь, Kawka др. [17], рассматривая генетическую изменчивость внутри и между тремя подвидами страусов, определили, что наблюдаемая гетерозиготность колеблется в пределах от 0,463 до 0,663, а ожидаемая – от 0,481 до 0,679.

Учеными также было исследовано генетическое разнообразие в популяциях эму, содержащихся на фермах в Австралии и Таиланде [10]. Всего было изучено 5 микросателлитных локусов. Следует отметить, что в обеих популяциях значение ожидаемой гетерозиготности колебалось в широких пределах. Для страусов, разводимых на фермах Австралии ожидаемая гетерозиготность составляла 0,44–1,0 в то время как для птицы, разводимой в Таиланде – 0,28–0,89.

2. Наблюдаемая (H_o) и ожидаемая (H_e) гетерозиготность страусов

Локус	H_o	H_e	Локус	H_o	H_e
CAU1	0,880	0,867	CAU43	0,913	0,836
CAU3	0,953	0,737	CAU44	0,860	0,688
CAU7	0,807	0,701	CAU57	0,713	0,832
CAU11	0,960	0,839	CAU64	0,893	0,876
CAU14	0,960	0,821	CAU65	0,700	0,820
CAU16	0,993	0,862	CAU68	0,780	0,850
CAU17	0,840	0,859	CAU69	0,967	0,840
CAU22	0,913	0,814	CAU75	0,867	0,869
CAU23	0,780	0,724	CAU76	0,873	0,853

Локус	H _o	H _e	Локус	H _o	H _e
CAU25	0,820	0,738	CAU78	0,467	0,510
CAU30	0,967	0,809	CAU83	0,833	0,781
CAU32	0,687	0,868	CAU84	0,833	0,841
CAU34	0,780	0,685	CAU85	0,953	0,939
CAU40	0,953	0,757	CAU97	0,853	0,754
CAU42	0,513	0,664	CAU98	0,900	0,722
В среднем	0,840	0,791			
SE	0,023	0,018			

Еще одним важным показателем, используемым для характеристики генетической изменчивости локуса, является индекс полиморфизма (PIC). Наибольшее значение для этого показателя, более 0,7, наблюдалось для локусов CAU85 (0,932), CAU64 (0,861) и CAU32, 75 (0,852) (табл. 3). Эти микросателлиты наиболее полиморфными и наиболее информативны при анализе генетических связей. Самые низкие значения (PIC=0,462) были характерны для локуса CAU78. Тогда как в предыдущем исследованиях, проведенных на страусах Kawka и др. [17], значение PIC располагалось в диапазоне от 0,117 до 0,786. Следует подчеркнуть, что почти все микросателлитные маркеры, выбранные для анализа были высокополиморфны или характеризовались высокими значениями индекса полиморфизма.

Среди наименее полиморфных микросателлитных маркеров можно отметить локус CAU78.

3. Индекс полиморфизма (PIC) и вероятность исключения случайного совпадения аллелей (PE) для микросателлитных локусов страусов

Локус	PIC	PE	Локус	PIC	PE
CAU1	0,850	0,888	CAU43	0,812	0,841
CAU3	0,692	0,689	CAU44	0,642	0,637
CAU7	0,677	0,730	CAU57	0,812	0,857
CAU11	0,819	0,860	CAU64	0,861	0,905
CAU14	0,794	0,820	CAU65	0,792	0,815
CAU16	0,845	0,889	CAU68	0,828	0,859
CAU17	0,840	0,877	CAU69	0,818	0,852
CAU22	0,785	0,808	CAU75	0,852	0,895
CAU23	0,704	0,763	CAU76	0,834	0,876
CAU25	0,690	0,677	CAU78	0,462	0,446
CAU30	0,781	0,808	CAU83	0,756	0,797
CAU32	0,852	0,897	CAU84	0,818	0,846
CAU34	0,643	0,656	CAU85	0,932	0,972

Локус	PIС	РЕ	Локус	PIС	РЕ
CAU40	0,718	0,731	CAU97	0,719	0,743
CAU42	0,646	0,710	CAU98	0,689	0,720

Также была подсчитана вероятность исключения случайного совпадения аллелей для каждого локуса (табл. 3). Значение РЕ находились в диапазоне от 0,446 в локусе CAU78 в 0,972 на локус CAU85. Тогда как Kawka и др. [17] проанализировали пять микросателлитных локусов и получили очень высокую вероятность исключения случайного совпадения аллелей от 0,77 до 0,98. Анализ 30 микросателлитных представленных локусов дает очень высокую вероятность исключения неправильного происхождения – от 0,77 до 0,98. Представленные результаты показывают, что анализ этих 30 микросателлитных локусов может быть успешно применен в идентификации происхождения страусов, разводимых в Польше.

В целом, микросателлитные маркеры, используемые в исследовании ученых, были очень полиморфны, о чем свидетельствует большое количество обнаруженных аллелей и высокий уровень гетерозиготности. Эти микросателлитные маркеры могут быть использованы для генетического картирования страусов а также построения сравнительных карт других бескилевых, таких как эму и нанду.

Литература

1. Botstain D. Construction of a linkage map in man using restriction fragment length polymorphism / Botstain D., White R.L., Skolnick M., Dawid R.W. // Am J Hum Genet. – 1980. – Vol.32. – p.314–331.
2. Cooper R.G. Ostrich nutrition: a review from a Zimbabwean perspective / Cooper R.G., Horbańczuk J.O. // Rev Sci Tech Off Int Des Epizoot. – 2004. – Vol. 23. – p.1033–1042.
3. Cooper R.G. Nutrition and feed management in the ostrich (*Struthio camelus domesticus*) / Cooper R.G., Horbańczuk J.O., Fujihara N. // Anim Sci J. – 2004. – Vol. 75. – p. 175–181.
4. Cooper R.G. Avian influenza in ostriches (*Struthio camelus*) / Cooper R.G., Tomasik C., Horbańczuk J.O. // Avian Poult Biol Rev. – 2007. – Vol. 18. – p. 87–92.
5. Cooper R.G. Sex-based comparison of limb segmentation in ostriches aged 14 months with and without tibiotarsal rotation / Cooper R.G., Naranowicz H., Maliszewska E., Tennett A., Horbańczuk J.O. // J S Afr Vet Assoc. – 2008. Vol. 79. – p.142–144.
6. Davids A.H. Estimation of genetic distances and heterosis in three ostrich (*Struthio camelus*) breeds for the improvement of productivity / Davids A.H. // Master Thesis, Stellenbosch University. – 2011. – 523 p.

7. Gortari M.J. A second-generation linkage map of the sheep genome / Gortari M.J., Freking B.A., Cuthbertson R.P., Kappes S.M., Keele J.W., Stone R.T., Leymaster K.A., Dodds K.G., Crawford A.M., Beattie C.W. // *Mamm Genome*. – 1998. Vol.9. – p. 204–209.
8. Groenen M.A. A consensus linkage map of the chicken genome / Groenen M.A., Cheng H.H., Bumstead N., Benkel B.F., Briles W.E., Burke T., Burt D.W., Crittenden L.B., Dodgson J., Hillel J., Lamont S., Leon A.P., Soller M., Takahashi H., Vignal A. // *Genome Res*. – 2000. Vol.10. – p. 137–147.
9. Groenen M.A. A comprehensive microsatellite linkage map of the chicken genome / Groenen M.A., Crooijmans R.P., Veenendaal A., Cheng H.H., Siwek M., Poel J.J. // *Genomics*. – 1998. Vol. – 49. – p. 265–274.
10. Hammond E.L. Microsatellite analysis of genetic diversity in wild and farmed emus (*Dromaius novaehollandiae*) / Hammond E.L., Lymbery A.J., Martin G.B., Gtoth D., Wetherall J.D. // *J Hered*. – 2002. – Vol. 93. – p. 376–380.
11. Horbańczuk J.O. A search for sequence similarity between chicken (*Gallus domesticus*) and ostrich (*Struthio camelus*) microsatellite markers / Horbańczuk J.O., Kawka M., Sacharczuk M., Cooper R.G., Boruszewska K., Parada R., Jaszczak K. // *Anim Sci Pap Rep*. – 2007. Vol. 25. – p. 283–288.
12. Horbańczuk J. Cholesterol content and fatty acid composition of ostrich meat as influence by subspecies / Horbańczuk J., Sales J., Celeda T., Konecka A., Zieba G., Kawka P. // *Meat Sci*. – 1998. Vol. 50. – p. 385–388.
13. Horbańczuk J.O. Ostrich farming in Poland—its history and current situation after accession to the European Union / Horbańczuk J.O., Tomasik C., Cooper R.G. // *Avian Poult Biol Rev*. – 2008. Vol. – 1. – p. 65–71.
14. Huang Y. A preliminary microsatellite genetic map of the ostrich (*Struthio camelus*) / Huang Y., Liu Q., Tang B., Lin L., Liu W., Zhang L., Li N., Hu X. // *Cytogenet Genome Res*. – 2008. – Vol. 121. – p. 130–136.
15. Kalinowski S.T. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment / Kalinowski S.T., Taper M.L., Marshall T.C. // *Mol Ecol*. – 2007. – Vol. –16. – p. 1099–1106.
16. Kappes S.M. A second-generation linkage map of the bovine genome / Kappes S.M., Keele J.W., Stone R.T., McGraw R.A., Sonstegard T.S., Smith T.P., Lopez-Corrales N.L., Beattie C.W. // *Genome Res*. – 1997. – Vol. 7. – p. 235–249.
17. Kawka M. Genetic characteristics of the ostrich population using molecular methods / Kawka M., Horbańczuk J.O., Sacharczuk M., Zięba G., Łukaszewicz M., Jaszczak K., Parada R. // *Poult Sci*. – 2007. – Vol. 86. – p. 277–281.

18. Kawka M. Identification of genetic markers associated with laying production in ostriches (*Struthio camelus*)—a preliminary study / Kawka M., Sacharczuk M., Cooper R.G. // Anim Sci Pap Rep. –2010. – Vol. 28. – p. 95–100.
19. Kimwele C.N. molecular genetic analysis of the communal nestin of the ostrich (*Struthio camelus*) Kimwele C.N., Graves J.A. / Kimwele C.N., Graves J.A. // Mol Ecol. – 2003. – Vol. 12. – p. 229–236.
20. Ott J. Strategies for characterizing highly polymorphic markers in human gene mapping / Ott J. // Am J Hum Genet. – 1992. – Vol. 51. – p. 283–290.
21. Rohrer G.A. A comprehensive map of the porcine genome / Rohrer G.A., Alexander L.J., Hu Z., Smith T.P., Keele J.W., Beattie C.W. // Genome Res. – 1996. – Vol. 6. – p. 371–391.
22. Sales J. Ratite Meat / Sales J., Horbańczuk J.O. // Worlds Poult Sci J. – 1998. – Vol. 54. – p. 59–67.
23. Sales J. Carcase characteristics of emus (*Dromaius novaehollandiae*) / Sales J., Horbańczuk J.O., Dingle J., Coleman R., Sensik S. // Br Poult Sci. – 1999. – Vol. 40. – p. 145–147.
24. Standing Committee of the European Convention for the protection of animals kept for farming purpose (T-AP) (1997) Draft Recommendation Concerning Ratites (Ostriches, Emus and Rheas). 33rd Meeting, Strasbourg, 22–25 April, 1997. – p. 1–16.
25. Tang B. Isolation and characterization of 70 novel microsatellite markers from ostrich (*Struthio camelus*) genome / Tang B., Huang Y.H. Lin L. Hu X.X., Feng J.D., Yao P., Zhang L., Li N. // Genome. – 2003. – Vol. 46. – p. 833–840.
26. Ward W.K. Ostrich microsatellite polymorphism at the VIAS-OS4, VIAS-OS8, VIAS-OS14, VIAS-OS22 and VIAS-OS29 loci / Ward W.K., McPartlan H.C., Matthews M.F., Murray N.D., Robinson N.A. // Anim Genet. – 1998. – Vol. 29. – 331 p.
27. Weir B.S. Genetic data analysis / Weir B.S. // Sunderland: Sinauer Associates, 1990. – 145 p.
28. Zhou X. A study of molecular genetic markers in ostrich breeding / Zhou X., Ning L., Lao Z., Qingwei C. // In: Proceedings of international conference on development of ostrich estate, Xian, 3–5 April, 2004. – p. 236–238.