西北地区 3 个鸡群体的遗传变异分析 *

张建勤[1],孙兆军[2],陈 宏[1,3]
(1 西北农林科技大学 动物科技学院,陕西 杨凌,712100;2 宁夏大学 新技术应用研究开发研究中心,宁夏 银川 750021;
3 徐州师范大学 细胞与分子生物学研究所,江苏 徐州 221116)

[摘 要] 利用 4 个微卫星标记对西北地区的固原鸡、固原红鸡和略阳乌鸡群体进行遗传变异分析。结果表明,地方品种固原鸡、略阳鸡和培育品种固原红鸡在 4 个位点的平均杂合度分别为 0.748 7,0.709 2 和 0.733 2,平均有效等位基因数分别为 5.129 0,3.505 8 和 4.468 9,平均多态信息含量分别为 0.716 6,0.646 6 和 0.570 4。表明固原鸡、略阳鸡和固原红鸡均具有较大的遗传变异。

[关键词] 鸡;微卫星标记;遗传变异;西北地区
[中图分类号] S831.2 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2007)05-0063-06

Study on genetic diversity in three northwest chicken populations

ZHANG Jian-qin[1], SUN Zhao-jun[2], CHEN Hong[1,3]
(1 Colledge of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;
2 The Applied Research and Development Center For New Technology of Ningxia University, Yinchuan, Ninxia 750021, China;
3 Institute of Cellular and Molecular Biotechnology, XuZhou Normal University, XuZhou, JiangSu 221116, China)

Abstract: The evalution of genetic resource of three northwest chicken populations was analyzed by using microsatellite marker on 4 loci. The result indicated that the average heterozygos of natural Guyuan chicken、natural Lueyang chicken and cultivate Guyuan red chicken was 0.748 7, 0.709 2 and 0.733 2, respectively, the mean effective number allelic was 5.129 0, 3.505 8 and 4.468 9, respectively, the average polymorphism information content was 0.716 6, 0.646 6 and 0.570 4, respectively. The study indicated that there were abundant genetic diversity in three chicken populations, which provided theoratical basis for protection and exploitation of the northwest chicken breeds.

Key words: chicken; microsatellite; genetic diversity; northwest

我国禽类资源十分丰富,但是由于我国地大物博,各省、地区跨越的经纬度不同,受地理环境、自然条件的约束,禽类资源分布很不平衡,总的趋势是东北、西北地区禽类资源相对较少,华东、华中、华南和西南地区禽类资源相对丰富。固原鸡是西北地区仅有的几个地方品种之一,是宁夏唯一保存较好的蛋肉兼用地方良种,具有明显的抗寒耐旱性,体形较大、体质结实、觅食力强、蛋重较大、肉质鲜美,是适应于黄土高原干旱寒冷生态条件的宝贵品种资源,在当地养鸡业中起着不可替代的作用,一直为宁夏西海固地区的主要养殖品种。但由于固原鸡是一个古老的地方品种,具有中国土种鸡普遍的缺点(产蛋量低、性成熟晚,就巢性强,生长速度慢),难以满足养禽业对经济利益的追求,导致现存数量已不足 5 万,面临濒危境地。固原红鸡是以固原鸡为父本的一个培育品种,其继承了固原鸡所有优点,并且克服

* [收稿日期] 2006-04-04
[基金项目] 国家自然科学基金项目(30460097),西北农林科技大学校青年专项(08080251)
[作者简介] 张建勤(1974-),女,陕西宝鸡人,讲师,在读博士,主要从事动物遗传育种研究。
[通讯作者] 孙兆军(1962-),男,宁夏银川人,研究员,硕士生导师,主要从事生物技术研究。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

了一部分缺点,现存活量已超过10万,但还未经过品种鉴定。略阳鸡是目前陕西省唯一一个保护较好的地方鸡品种,也是目前体型最大的乌鸡品种。长期的闭锁繁育,形成了略阳鸡的固有特征,以体大、肉多、肉质好、乌皮而著称,并且作为重要的肉用和药用品种在生产中发挥着重要的作用。上述3个鸡群体均地处偏远的西北山区,一直未受到重视,未被开发利用,又由于各种原因其遗传资源流失严重,急需保护。本研究利用微卫星DNA分子标记技术,从分子水平对这3个鸡群体目前的遗传结构进行了分析,以期为今后开展北方鸡品种遗传育种、资源保护及开发利用工作提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 血样的采集 2005-04-21在陕西省略阳县随机采集112只略阳鸡的血样;2001-03-02在宁夏固原随机采集36只固原鸡和38只固原红鸡血样。所有血样均翅静脉采集2～3 mL,分装在1.5 mL离心管中,加入肝素抗凝,-20 ℃以下保存备用。整个实验过程及分析于2004-03～2005-07在西北农林科技大学动物科技学院分子生物实验室完成。

1.1.2 试 剂 蛋白酶K、*Taq* DNA聚合酶、dNTP、PCR Buffer、琼脂糖、丙烯酰胺、Tris和pBR322DNA/Msp I Markers均购自西安沃尔生生物试剂公司

1.2 微卫星扩增引物的合成

采用家禽GenBank上公布的4对引物(表1)进行试验,GenBand提供退火温度均为55 ℃,但在试验中不同引物的实际退火温度见表1。引物由华美生物公司西安分公司合成。

表1 4对微卫星引物的名称、序列结构、退火温度及所在染色体位置

Table.1 Name,sequence structure,anealing temperature and loading in chromosomes of the 4 microsatellite primers

引物 Primer name	上游引物 Forward	下游引物 Reverse	退火温度/℃ Temperature	所在染色体 Chrom
MCW55	5′TTTGTAGTTACCTGGTACTGA-3′	5′GTTTGCATTGTCTACAGCTCCTTG-3′	55	3
MCW128	5′CACATCCTTCTTAGCAGTCAG-3′	5′CTGATGAAAAATTGTCCAAGTAG-3′	56	4
MCW246	5′TCATAAGGCAGAGAATTCATC-3′	5′TTTCCATTCAGACAACAAGGG-3′	58	4
MCW258	5′TTCTTAGTCCTTGCCAGAGGG-3′	5′CTGCAGGAGGATGTGTCCTAG-3′	56	3

1.3 鸡基因组DNA的提取

利用酚抽提法提取鸡基因组DNA。

1.4 鸡基因组DNA的PCR扩增

PCR反应体系为12.0 μL,其中*Taq* DNA聚合酶(5 U/μL)0.1 μL,10 ×PCR缓冲液1.2 μL,$MgCl_2$缓冲液1.2 μL,dNTPs(2.5 mmol/L)0.19 μL,上、下游引物(10 μmol/L)各0.25 μL,DNA模板(50 mg/μL)0.5 μL,超纯水8.56 μL,瞬时离心,轻微振荡后,再离心10 s,4 ℃放置约30～60 min后进行PCR扩增。微卫星PCR反应程序为:95 ℃预变性2 min;94 ℃变性30 s,56 ℃退火30 s,72 ℃延伸45 s,进行36个循环;72 ℃延伸10 min,4 ℃保存。

1.5 鸡基因组DNA PCR扩增产物的电泳检测

取微卫星PCR扩增产物进行80 g/L变性聚丙烯凝胶电泳,银染法检测电泳结果,具体操作参照陈宏主编《分子遗传学实验指导》[1]。

1.6 数据统计分析

1.6.1 基因频率、基因型频率的计算及χ^2检验

设某一基因位点上有A和B两个等位基因,其基因频率分别为p和q,则:

$$p=(2AA+AB)/2N\ ;\ q=(2BB+AB)/2N。$$

式中:AA为AA基因型频率;AB为AB型基因频率;BB为BB型基因频率;N为样本数。

χ^2适合性检验:

$$\chi^2=(O_i-E_i)^2/E_i。$$

式中:O_i为实际次数;E_i为理论次数。

1.6.2 遗传杂合度和平均遗传杂合度的计算 假设一个微卫星标记位点上n个等位基因的频率分别为P_1、P_2,…,P_n,则有:

$$j=\sum_{i=1}^{m}P_i^2\ ;\ h=1-\sum_{i=1}^{m}P_i^2\ ;$$

$$J=\frac{1}{L}\sum_{i=1}^{m}J_i\ ;\ \widetilde{H}=1-\frac{1}{L}\sum_{i=1}^{m}J_i。$$

式中:j为位点纯合度;h为位点杂合度;J为平均位点纯合度;$\widetilde{H}$为平均位点杂合度;L为位点数。

1.6.3 多态信息含量(PIC)的计算

$$\mathrm{PIC}=1-\sum_{i=1}^{m}p_i^2-\sum_{i=1}^{m-1}\sum_{j=i+1}^{m}2p_i^2p_j^2\ ;$$

$$\overline{\mathrm{PIC}}=\frac{1}{L}\sum_{i=1}^{m}\mathrm{PIC}。$$

式中:$\overline{\mathrm{PIC}}$为位点平均多态信息含量;L为微卫星位

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

点数; P_i 和 P_j 分别为第 i 和 j 个等位基因在群体中的频率; m 为等位基因数。

1.6.4　有效等位基因数(Ne)和平均有效等位基因数($\overline{Ne}$)的计算　有效等位基因数反映了等位基因间的相互影响,用来测定群体的遗传变异。

$$N_e = 1/\sum_{i=1}^{n} p_i^2 ;\ \overline{N_e} = \frac{1}{L}\sum_{i=1}^{m} N_e 。$$

2　结果与分析

2.1　3 个鸡群体在 4 个微卫星位点扩增产物的电泳结果

结果表明,3 个鸡群体在 4 个微卫星位点上均有多态性,部分扩增产物电泳结果见图 1～3。

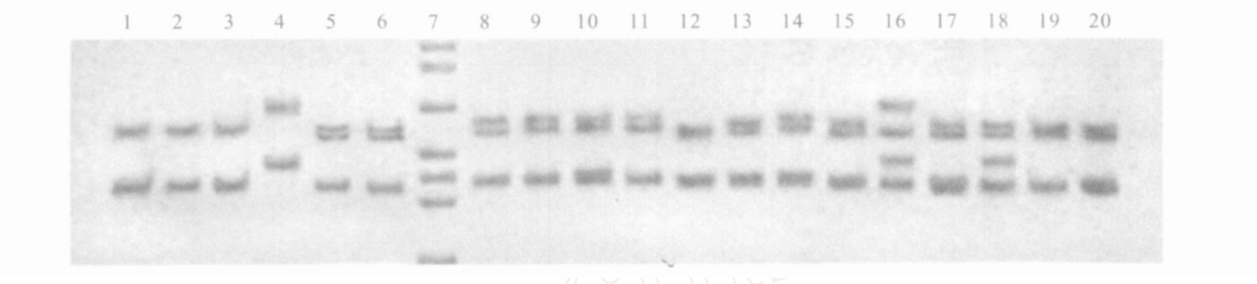

图 1　MCW55 引物扩增略阳鸡 DNA 聚丙烯凝胶电泳图谱(部分结果)

1～6、8～20. 略阳鸡 DNA 扩增片段;7. PBR322/ MSP Ⅰ,从上到下各条带长度依次为:242 ,238 ,217 ,201 ,180 ,160 和 147 bp

Fig. 1　Electrophoresis result of MCW55 in Lueyang chicken

1～6、8～20 DNA amplified length of Lueyang chicken;7. PBR322/ MSP Ⅰ,the length of the lane is 242 ,238 ,217 ,201 ,180 ,160 and 147 bp ,respectively.

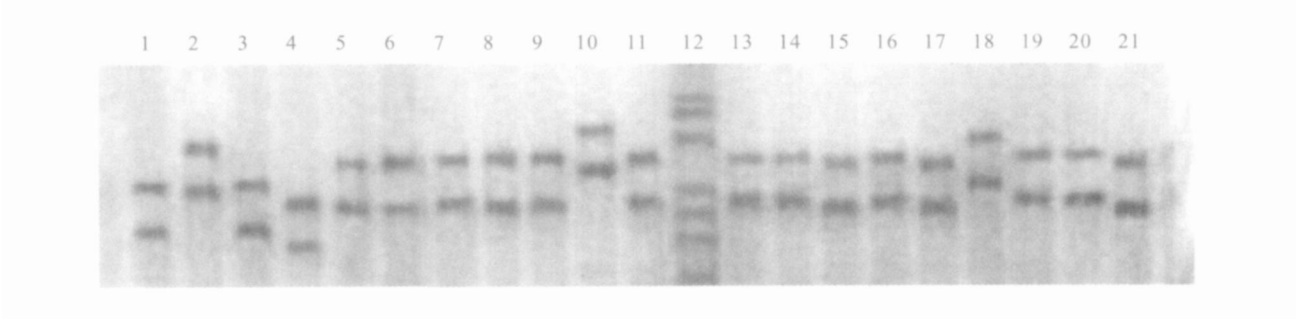

图 2　MCW258 引物扩增固原鸡 DNA 聚丙烯凝胶电泳图谱(部分结果)

1～11、13～21 固原鸡 DNA 扩增片段;12. PBR322/ MSP Ⅰ,从上到下各条带长度依次为:242 ,238 ,217 ,201 ,180 ,160 和 147 bp

Fig. 2　Electrophoresis result of MCW258 in Guyuan chicken

1～11、13～21 DNA amplified length of Guyuan chicken;12. PBR322/ MSP Ⅰ,the length of the lane is 242 ,238 ,217 ,201 ,180 ,160 and 147 bp ,respectively.

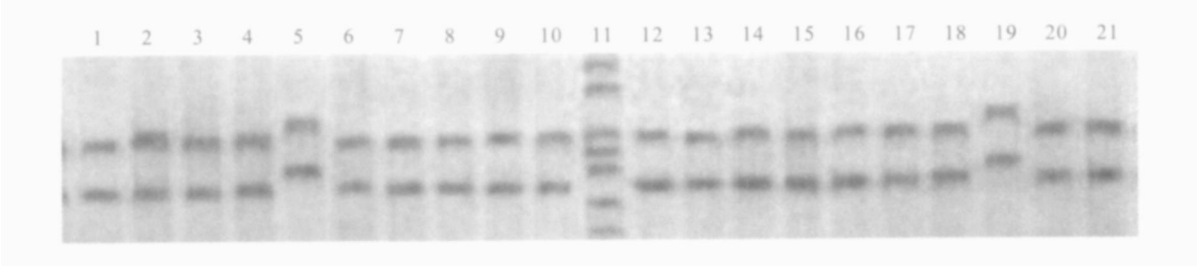

图 3　MCW258 引物扩增固原红鸡 DNA 聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱(部分结果)

1～10、12～21 固原红鸡 DNA 扩增片段;11. PBR322/ MSP Ⅰ,从上到下各条带长度依次为: 238 ,217 ,201 ,180 ,160 和 147 bp

Fig. 3　Electrophoresis result of MCW258 in Guyuan red chicken

1～10 ,12～21 DNA amplified length of Guyuan red chicken;11. PBR322/ MSP Ⅰ,the length of the lane is 238 ,217 ,201 ,180 ,160 and 147bp ,respectively.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2.2 3 个鸡群体在 4 个微卫星位点上的等位基因频率

表 1 表明,固原鸡在 MCW_{55} 位点处于不平衡状态,在 MCW_{128} 位点处于平衡状态,在 MCW_{258} 和 MCW_{246} 位点处于极不平衡状态;固原红鸡在 MCW_{55} 位点处于不平衡状态,在 MCW_{128} 位点处于平衡状态,在 MCW_{246} 和 MCW_{258} 位点处于极不平衡状态;略阳鸡在 MCW_{55} 和 MCW_{128} 位点均处于极不平衡状态,在 MCW_{246} 位点处于平衡状态,在 MCW_{258} 位点处于不平衡状态。

表 1 3 个鸡群体基因频率及 χ^2 检验

Table 1 Genofrequency of 3 chicken breeds and χ^2 test at the 4 microsatellite loci

位点 Loci	群体 Populations	基因频率 Genofrequency A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	χ^2 检验 χ^2 test
MCW_{55}	固原鸡 Guyuan chicken	0.086 2	0.155 2	0.196 0	0.120 7	0.017 2	0.189 7	0.189 7	0.034 6	0.017 2				22.9 *
	固原红鸡 Guyuan red chicken	0.030 3	0.090 9	0.242 4	0.197 0	0.060 6	0.136 4	0.242 4	0.600 0					22.8 *
	略阳鸡 Lueyang chicken	0.277 8	0.222 2	0.277 8	0.222 2									32.744 4 **
MCW_{128}	固原鸡 Guyuan chicken	0.022 2	0.066 7	0.066 7	0.288 9	0.088 9	0.022 2	0.066 7	0.355 5	0.022 2				8.433 2
	固原红鸡 Guyuan red chicken	0.047 6	0.065 2	0.195 7	0.239 1	0.065 2	0.239 0	0.152 2						10.379 4
	略阳鸡 Lueyang chicken	0.100 0	0.350 0	0.100 0	0.450 0									52.098 8 **
MCW_{246}	固原鸡 Guyuan chicken	0.500 0	0.500 0											0 **
	固原红鸡 Guyuan red chicken	0.500 0	0.500 0											0 **
	略阳鸡 Lueyang chicken	0.277 8	0.166 7	0.111 1	0.444 4									9.562 3
MCW_{258}	固原鸡 Guyuan chicken	0.034 5	0.017 2	0.086 2	0.069 0	0.224 2	0.086 2	0.155 2	0.017 2	0.155 2	0.017 2	0.069 0	0.069 0	34.978 7 **
	固原红鸡 Guyuan red chicken	0.037 8	0.245 2	0.226 4	0.113 2	0.113 2	0.169 8	0.037 7	0.056 7					58.000 0 **
	略阳鸡 Lueyang chicken	0.062 5	0.281 3	0.093 8	0.093 8	0.093 8	0 375 0							34.351 7 *

注:*表示差异显著;**表示差异极显著

Note: *refers to significant difference; **refers to extremely significant difference.

2.3 3 个鸡群体在 4 个微卫星位点上的平均杂合度

平均杂合度是度量群体遗传变异的主要指标之一,也是最易直接获取的指标,本试验结果见表 2。由表 2 可知,3 个鸡群的平均杂合度均较高,其中固原鸡的平均杂合度与固原红鸡非常接近,分别为 0.748 7和 0.733 2;略阳鸡平均杂合度为 0.709 2,在 3 个鸡群中最低。

2.4 3 个鸡群体在 4 个微卫星位点上的多态信息含量

PIC 可用来描述微卫星位点的变异程度,当 PIC > 0.5 时,为高度多态位点;0.25 < PIC < 0.5 时为中度多态位点;当 PIC < 0.25 时,为低度多态位点[2-4]。表 3 表明,MCW_{55}、MCW_{128}、MCW_{246} 和 MCW_{258} 位点在 3 个鸡群体中均表现为高度多态,说明这 3 个鸡群具有丰富的遗传多态性。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2　3 个鸡群体在 4 个微卫星位点的杂合度和平均位点杂合度

Table 2　Average heterozygosities and the mean locus heterozygosities of 3 chicken breeds at the 4 microsatellite loci

位点 Loci	固原鸡 Guyuan chicken	固原红鸡 Guyuan red chicken	略阳鸡 Lueyang chicken
MCW_{55}	0.842 4	0.818 4	0.746 8
MCW_{128}	0.785 6	0.809 2	0.655 0
MCW_{246}	0.500 0	0.500 0	0.685 2
MCW_{258}	0.866 8	0.805 0	0.749 9
$\widetilde{H}$	0.748 7	0.733 2	0.709 2

表 3　3 个鸡群体在 4 个微卫星位点上的多态信息含量

Table. 3　PIC of the 3 chicken breeds at the 4 microsatelliste loci

位点 Loci	固原鸡 Guyuan ckicken	固原红鸡 Guyuan red chicken	略阳鸡 Lueyang chicken
MCW_{55}	0.822 4	0.794 3	0.699 6
MCW_{128}	0.814 0	0.330 8	0.592 2
MCW_{246}	0.375 0	0.375 0	0.580 8
MCW_{258}	0.854 8	0.781 7	0.713 7
$\overline{PIC}$	0.716 6	0.570 4	0.646 6

2.5　3 个鸡群体在 4 个微卫星位点上的有效等位基因数

有效等位基因数与平均杂合度和多态信息含量一样,均可用来度量群体的遗传多样性。表 4 表明,固原鸡在 4 个位点上的平均有效等位基因数最高,略阳鸡最低。表明固原鸡与略阳鸡和固原红鸡相比,具有丰富的遗传多态性。

表 4　3 个鸡群体在 4 个微卫星位点上的有效等位基因数

Table 4　Effective numbers of allelic in the 3 chicken breeds at the 4 microsatellite loci

位点 Loci	固原鸡 Guyuan chicken	固原红鸡 Guyuan red chicken	略阳鸡 Lueyang chicken
MCW_{55}	6.343 2	5.507 2	3.949 4
MCW_{128}	4.665 1	5.240 3	2.898 6
MCW_{246}	2.000 0	2.000 0	3.176 6
MCW_{258}	7.507 8	5.128 0	3.998 4
$\overline{Ne}$	5.129 0	4.468 9	3.505 8

3　讨　论

平均杂合度、有效等位基因数和多态信息含量均可用来度量群体的遗传多样性。本研究结果显示,在所选的 4 个微卫星位点上,固原鸡的平均杂合度为 0.748 7,固原红鸡为 0.733 2,略阳鸡为 0.709 2;固原鸡平均有效等位基因数为 5.129 0,高于固原红鸡(4.468 9)和略阳鸡(3.505 8);固原鸡平均多态信息含量为 0.716 6,固原红鸡为 0.570 4,略阳鸡为 0.646 6。从上述 3 项指标来看,固原鸡的遗传多态性最丰富。从平均杂合度、有效等位基因数来看,固原红鸡的多态性高于略阳鸡;而从平均多态信息含量来看略阳鸡的多态性高于固原红鸡。这种不一致现象可能是由于不同鸡品种所固有的遗传特性造成的,也有可能是所选择位点和不同评估指标的统计学基础不同造成的。

从遗传角度研究群体,就是研究基因在群体中的行为。当群体规模较大时,基因频率受突变和漂变的影响很小的,而主要受迁移、选择及同型交配这 3 个因素影响。本研究结果表明,4 个位点在 3 个鸡群中大多处于不平衡或极不平衡状态,由于 3 个鸡群均地处西北交通闭塞的地区,地理上的封闭,降低了迁移对基因频率及基因种类的影响,不平衡的主要原因应该是选择和同型交配所致。

揭示群体遗传结构的最终目的是对种质资源的现状作出正确的评估,为种质资源的保护、开发和利用提供科学的理论依据,为下一步育种工作提出一个明确的方向。在本研究中,固原鸡和略阳鸡均属于古老的地方品种,具有中国土种鸡共有的缺点(产蛋量低、性成熟晚,就巢性强,生长速度慢)[5],不能满足养殖业对经济利益的追求,因此养殖数量锐减,均已面临濒危境地,目前分别为宁夏回族自治区和陕西省的保护品种。本研究中,固原鸡和略阳鸡在 4 个微卫星位点的平均杂合度分别为 0.748 7 和 0.709 2,平均有效等位基因数分别 7.507 8 和 3.998 4,平均多态信息含量分别为 0.716 6 和 0.646 6。说明这 2 个古老的北方鸡品种均具有丰富的遗传变异,可作为未来育种的良好素材。由于陕西省近几年对略阳鸡选育力度较强,群体整齐度相对较高,所以群体遗传变异较低,与本研究微卫星标记分析结果相符。

固原红鸡是以固原鸡为父本的一个培育品种,已经过系统选育,个别性状选择压力相对较大,遗传变异相对较小,但未经过品种鉴定。张细权等[6-8],杨勇等[9],吴萍[10],刘莉等[11]和朱庆等[12-13]研究报道,培育品种鸡的平均杂合度范围一般介于 0.2～0.5,但在本研究中,固原红鸡微卫星标记平均杂合度为 0.733 2,明显高于报道数据。表明,固原红鸡具有较高的遗传变异,要作为一个品种还需加大选择力度,进一步纯繁选育,以提高群体整齐度和生产性能。这为宁夏回族自治区固原红鸡进一步培育及品种鉴定提供了理论依据。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[参考文献]

[2] 陈 宏,雷初朝.分子遗传学实验指导[J].陕西杨凌:西北农林科技大学出版社,2005.

[2] Van Der Beek S. The use of genetic markers in poultry breeding[D]. The Netherlands:Wageningen University,1999.

[3] Crooijmans R P M A,Preter A M. Preliminary linkage map of the chicken genome based on microsatellite markers: 77 new markers mapped [J]. Poul Sw,1996,75:746-754.

[4] Cheng H H,Crittenden L B. Microsatllite markers for genetic mapping in the chicken[J]. Poul Sci,1994,73:539-546.

[5] 程光潮,黄凡美,周勤宣.中国地方鸡种种质特性[M].上海:上海科技出版社,2000.

[6] 张细权,吕雪梅,杨玉华,等.用微卫星多态性和RAPD分析广东地方鸡种的群体遗传变异[J].遗传学报,1998,25(2):112-119.

[7] 张细权,吕雪梅.用微卫星和RAPD分析珍稀家鸡品种的遗传变异[C]//第九次全国动物遗传育种学术讨论会论文集.北京:[s.n.],1997:61-65.

[8] 张细权.优质鸡遗传多样性的研究[D].北京:中国农业大学,1999.

[9] 杨 勇,朱 庆.利用微卫星标记分析家鸡的群体遗传变异[J].四川大学学报:自然科学版,2000,32(增刊),148-152.

[10] 吴 萍.应用微卫星标记分析中国地方鸡品种的遗传变异[J].生物多样性.2003,11(6) 461-466.

[11] 刘 莉,陈国宏.微卫星DNA及其在家禽遗传育种中的应用[J].中国农业科学,2000,17(6):21-25.

[12] 朱 庆,李 亮.四川地方乌骨鸡种群遗传变异的微卫星DNA分析[J].四川畜牧兽医,2002,29(8):26-29

[13] 朱 庆,李 亮.不同地方乌骨鸡种群遗传多样性的微卫星DNA分析[J].畜牧兽医学报,2003,34(3):213-216.

(上接第62页)

[23] Russell J B,O'Connor J D,Fox D G,et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: Ⅰ. Ruminal fermentation [J] .J Anim Sci,1992,79:1503-1509.

[24] Sniffen C J,O'Connor J D,Van Soest P J,et al. A net carbohydrate and protein system evaluating cattle diets: Ⅱ. Carbohydrate and protein availability [J]. J Anim Sci,1992,70:3562-3577.

[25] Pitt R E,Van Kessel J S,Fox D G,et al. Prediction of ruminal volatile fatty acids and pH within the Net Carbohydrate and Protein System [J].J Anim Sci,1996,74:226-244.

[26] 高 民,卢德勋.可发酵碳水化合物对纤维物质降解动力学影响的研究[J].内蒙古畜牧科学,1997(1):5-8;22.

[27] Teeri T T. Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases [J]. Trends Biotechnol,1997,15:160-167.

[28] 李福昌.肉牛小肠玉米淀粉的消化率及其对能量转化的调控[D].北京:中国农业大学,1998.

[29] 李胜利.肉牛VFA能量转化效率及营养调控的研究[D].北京:中国农业大学,1996.

[30] 李建国.肉牛小肠蛋白质、淀粉和脂肪对能量转化的调控研究[D].北京:中国农业大学,1999.

[31] 孙海洲,卢德勋,斯 琴.生长肥育羊葡萄糖营养整体优化规律的研究[J].内蒙古畜牧科学,1999(1):25-29.

[32] Mackle T R,Dwyer D A,Ingvartsen K L,et al. Effects ofinsulin and amino acids on milk protein concentration and yield from dairy cows [J].J Dairy Sci,1999,82:1512-1524.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net