



农业反刍动物重要乳性状表型测定方法及研究进展

王语浓¹, 唐永杰¹, 张雅丽², 苏峰³, 张俊⁴, 张毅¹, 王雅春¹, 俞英^{1*}

1. 中国农业大学动物科学技术学院, 北京 100193;

2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083;

3. 山东农业大学动物科技学院, 泰安 271018;

4. 北京市农林科学院信息技术研究中心, 北京 100097

* 联系人, E-mail: yuying@cau.edu.cn

收稿日期: 2023-01-18; 接受日期: 2023-04-14; 网络版发表日期: 2023-06-12

国家重点研发计划(批准号: 2021YFD1200903)和国家自然科学基金国际(地区)合作与交流项目(批准号: 31961143009)资助

摘要 乳性状作为农业反刍动物的重要经济性状, 其表型测定指标内容丰富, 测定方法繁多复杂. 为进一步凝练重要乳性状表型测定内容, 以更好地培育改良中国特色的乳用动物种质资源、创制产量品质优异的新基因资源, 本文从乳性状表型测定的常规乳性状表型与特色乳营养成分性状表型测定指标与测定方法、中红外光谱检测法, 以及特色乳用畜种简介等四个方面, 对我国主要农业反刍动物的重要乳性状表型的详细测定方法及其研究进展进行综述.

关键词 农业反刍动物, 泌乳性状, 乳成分, 表型测定方法, 高通量测定

牛、羊等农业反刍动物是人类较早驯化的哺乳动物. 目前农业反刍动物主要向乳用、肉用及乳肉/肉乳兼用型方向发展. 随着奶业和肉牛肉羊业的发展, 农业反刍动物的经济价值日益突出, 在畜牧业经济中占有十分重要的地位^[1,2]. 针对乳用、乳肉兼用牛以及乳用水牛和奶山羊, 在实际育种工作及生产中, 规范和创新乳性状表型的测定是进一步提升乳产量和乳品质的关键因素, 也是加强我国乳用动物种业自主创新的基石.

1 乳性状表型测定重要性

家养动物获得遗传进展的主要途径, 是通过重要

性状的生产性能测定(性状表型测定)获得表型值, 进而通过一套综合评定种畜遗传价值的计算方法和特定统计学方法进行遗传参数估计和育种值估计, 再利用育种值进行选种、选配等环节递进和循环推进(图1A). 反刍动物重要乳性状的表型测定是遗传改良工作的基石. 通过乳性状表型的持续监控及精准测定可以提高乳性状遗传参数估计值, 提高选择准确性, 从而加快性状改良的遗传进展. 对于乳用和乳肉兼用的牛、羊来说, 获得大量准确的乳性状表型测定数据, 既有助于牧场对其生产情况进行及时分析, 改进牧场的饲养管理计划, 长期关注测定数据变化, 又有利于提高牧场中种牛、种羊群的遗传素质, 扩大优秀种畜

引用格式: 王语浓, 唐永杰, 张雅丽, 等. 农业反刍动物重要乳性状表型测定方法及研究进展. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 931–944
Wang Y N, Tang Y J, Zhang Y L, et al. Phenotypic determination methods and research progress on important lactation traits in agricultural ruminants (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 931–944, doi: 10.1360/SSV-2022-0284

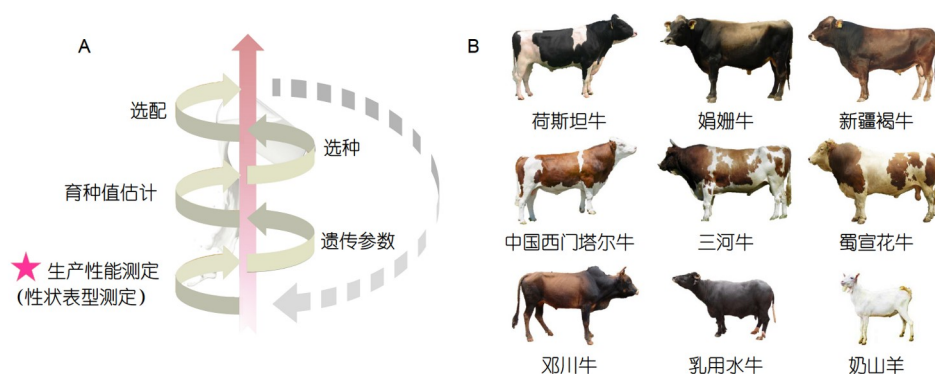


图 1 生产性能测定重要性及我国主要乳用/乳肉兼用反刍动物。A: 家畜获得遗传进展的主要途径; B: 我国主要乳用及乳肉兼用反刍动物(其中乳用水牛照片由广西水牛研究所郑威提供, 奶山羊照片由西北农林科技大学李聪提供)

Figure 1 Importance of production performance measurement the main dairy/dual-purpose ruminants in China. A: The main pathways through which livestock acquire genetic progression; B: The main dairy and dairy meat combined ruminants of China (the photo of dairy buffalo is provided by Zheng Wei of Guangxi Buffalo Research Institute; the photo of dairy goat is provided by Li Cong of Northwest A&F University)

的影响范围, 增加牧场经济效益。

本文将以重要乳用反刍动物——荷斯坦牛的乳性状表型测定方法为参照, 详细介绍和综述主要乳性状表型的测定方法、应用及其研究进展, 梳理乳性状表型鉴定研究成果, 为我国其他主要乳用及乳肉兼用牛品种——娟姗牛、西门塔尔牛、新疆褐牛、三河牛、蜀宣花牛等, 役乳肉兼用地方牛品种——邓川牛等, 以及乳用水牛与奶山羊(图1B)的乳性状重要性状表型的测定及利用提供借鉴和参考。

2 重要乳性状的测定方法及进展

反刍动物主要乳性状依据测定指标可分为两大类, 一类是常规乳性状, 即产奶量性状、乳中体细胞数, 以及总乳脂、总乳蛋白、总乳糖等常规乳成分性状; 第二类是特色乳营养成分性状, 包括细化的蛋白质类乳成分性状、脂肪酸类乳成分性状, 以及低聚糖类乳成分性状等。

2.1 常规乳性状表型测定指标及测定方法

(1) 测定对象及信息记录. 测定产后5天至干奶期的泌乳牛. 测定牛场需有较为完善的牛只系谱、繁殖等记录体系, 并在资料性附表中有所记录. 测定间隔时间范围为30±5天。

测定对象的表型在时间和空间上需要依据实验设计统一. 为了使表型之间具有可比性和精确性, 本部分

测定的产奶量、乳成分、体细胞数等指标, 与课题中的转录组、代谢组等分子表型, 需要在牛个体内以及个体间在时间和空间上应尽可能保持一致。

(2) 乳样采集及要求. 参考《中国荷斯坦牛生产性能测定技术规范》(NY/T 1450-2007)附录D对流量计进行校准, 通常每3个月校准一次. 准备奶牛生产性能(dairy herd improvement, DHI)测定专用管(或50 mL无酶无菌管)、DHI专用防腐剂、冰袋、采样架、泡沫箱、防酒精的记号笔等. 乳样应为牛只一测定日(24 h)中各次采乳样的混合样(40 mL). 每头牛按早中晚(4:3:3比例)三次挤奶, 每次采集的乳样都为各个乳区的混合样品, 采集乳样至加有防腐剂的DHI采样管或离心管中, 于4℃暂时保存, 以便此后的常规乳成分检测和特色乳营养成分检测. 每次采样后应充分混匀, 样品管子的管盖及管身都需要用记号笔标记正确的样品号或牛号. 采样完毕后需将流量计中剩余的乳样倒出。

(3) 乳样的保存、运输与接收. 每次采样后, 需确保采样管中的防腐剂完全溶解, 且与乳样混匀. 采集的乳样冷藏保存(2~7℃), 并于三天之内送至各地区奶牛生产性能测定中心进行测定. 需注意牛群资料齐全、管身信息标记清晰无误、样品损耗低。

(4) 奶牛生产性能测定^[3]. 奶牛的常规乳性状表型测定主要是指传统奶牛育种工作的基础工作——奶牛生产性能测定, 统一测定泌乳牛的产奶量、乳成分、体细胞数等性状. 常规乳性状测定准备工作及具体流程如图2所示。

(i) 产奶量相关性状及测定方法. ①日产奶量测定与操作参考《中国荷斯坦牛生产性能测定技术规范》(NY/T 1450-2007). 牛只的日产奶量通过记录挤乳后流量计中的数值, 并将测定日各次的读数相加得出^[4]. ②产奶量相关性状^[4~7]: 产奶量相关的主要性状有校正奶量、前奶量、累计奶量、305天奶量、305天校正奶量、高峰奶量、高峰日、持续力、干奶日和干奶天数、4%标准乳等. 其中, 校正奶量是指以泌乳天数和乳脂率校正计算奶量. 即将实际产奶量校正到产奶天数为150天, 乳脂率为3.5%, 以便比较不同泌乳阶段牛只的泌乳性能. 305天产奶量为以千克为单位, 从产犊当天到第305个泌乳日的累计产奶量. 如果泌乳天数不足305天则按全泌乳期实际产奶量统计, 但必须注明天数. 305天校正奶量是将产奶记录或目前实际产量校正为305天的近似产量, 以便于在相同基础上进行产奶量比较. 根据各品种的校正换算统一标准得到的参考系数进行校正.

(ii) 乳成分性状及测定方法^[8]. ①仪器性能检查: 根据行业标准NY/T 2659-2014制备质控样, 每个工作日每测定20~100个样品后, 应测定一个质控样. ②乳样测定方法: 1967年, 红外分析方法就开始应用于牛奶蛋白、脂肪和乳糖含量等乳成分性状的检测^[9]. 此后, 中红外光谱分析技术(mid-infrared spectroscopy, MIRS)逐渐成熟, 逐步适用于牛奶规模化质量检测. ③乳成分性状测定内容^[10]: 常见的乳成分性状内容有乳脂率(测定日送检乳样的乳脂肪在牛乳中所占的百分比)、乳蛋白率(送检乳样中所含蛋白质的百分比)、乳糖率(送检乳样中所含乳糖的百分比)、脂蛋比(送检乳样中乳脂

率与乳蛋白率的比值)和全乳固体(送检乳样中干物质含量的百分比). ④注意事项: 结果表述中仪器结果精确至小数点后2位, 单位为质量分数(%). 精密度注意重复性条件下的绝对差值和再现性条件下测定值的标准差要求.

(iii) 体细胞数相关性状及测定方法^[11]. ①仪器校正与性能检查: 乳样中体细胞数的检测仪器为体细胞数测定仪. 使用前参照标准乳样按仪器使用说明书要求对仪器进行校准. 每3个月需要校准一次仪器. 长期停用、维修后使用及稳定性实验参考《中国荷斯坦牛生产性能测定技术规范》(NY/T 1450-2007). ②体细胞数测定原理及方法: 体细胞数的测定原理是在测定仪中将样品与染色-缓冲溶液混合, 用显微镜感应细胞核内DNA染色后产生荧光的染色细胞, 并转化为电脉冲, 再放大记录电脉冲, 显示读数. ③体细胞数相关性状内容^[10]: 体细胞数相关的重要乳性状主要为体细胞数(SCC, 每毫升牛奶中体细胞的含量)、体细胞评分($SCS = \log_2(SCC/100000) + 3$)、前次体细胞数(上次测定日测得的体细胞数)、首次体细胞数(奶牛分娩后第一次测得的体细胞数)和牛奶损失(由体细胞数和产奶量计算的因乳房受细菌感染而造成的牛奶损失). 常用于反应乳房健康程度及监控牧场管理情况. ④注意事项: 在操作中需将试样置于 $(40 \pm 1)^\circ\text{C}$ 水浴锅中加热5分钟, 取出后颠倒再水平振摇, 使用专用染色-缓冲工作液, 在不低于 30°C 的条件下置入仪器测定. 直接读取仪器数据, 体细胞数单位为千个每毫升.

(iv) DHI报告. 收集并记录DHI测定牛只的相关信息, 经数据分析后, 可以反映奶牛场的选种配种、疾

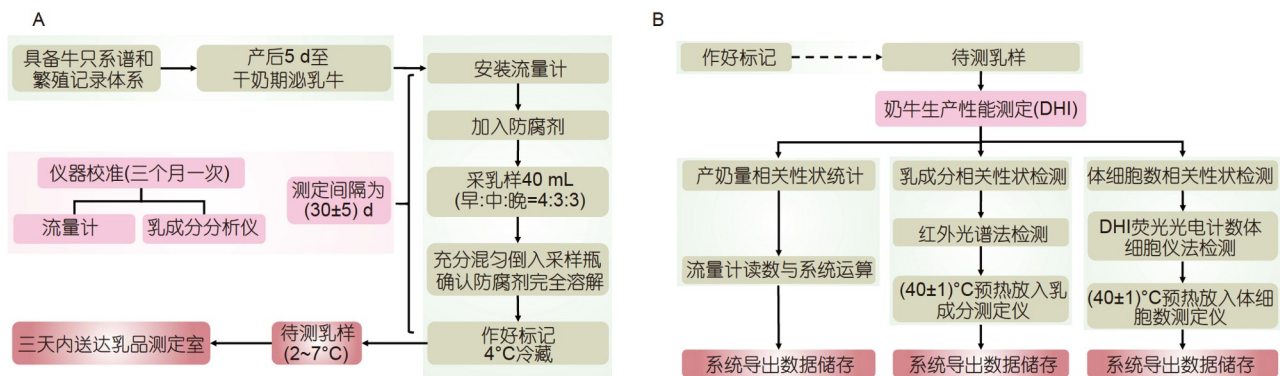


图2 常规乳性状测定准备工作(A)及表型测定流程图(B)(网络版彩图)

Figure 2 Flow charts of preparation for determining conventional lactation traits (A) and phenotypic test (B) (color online)

病、生产性能等的情况信息^[10]。最终以泌乳牛的生理特点及生物统计模型为推断依据, 呈现出推断后的包含40多个指标的DHI报告^[12]。常规乳性状的DHI测定报告中包括牛号、胎次、产犊间隔、泌乳天数等牛只基本信息, 本月及上月测定的产奶量、乳脂量、乳蛋白量、体细胞数等测定信息和305天产奶量、总乳脂量、总蛋白量等计算信息。

DHI报告内容包括记录、检测与推断等数据, 涉及奶牛场生产管理的各个方面, 记录奶牛的生产性状, 为育种工作提供重要信息素材^[10], 在其他乳用农业反刍动物中同样适用。

(5) 常规乳性状测定工作研究进展。DHI测定最早源于1852年的荷兰, 很多国家在奶牛生产中投入DHI测定也超过了百年, 我国DHI测定始于20世纪90年代初。在乳成分体细胞数测定仪推广前, 常规乳性状的测定主要通过人工计量及采集乳样分性状检测的方式开展。

产奶量根据各国具体条件或要求开展每周、每旬或每月一次的产奶量称量记录, 一般在产犊5天后开始记录, 再通过数据校正得到奶牛泌乳期产奶量。最初的乳成分测定是由美国在1923年开始的乳脂率测定。起初, 乳脂率的测定主要运用巴氏乳脂测定法、乳脂计测定等方法; 乳蛋白率主要采用甲醛氢氧化钠滴定法、凯氏定氮法等测定。体细胞数主要采用直接镜检法、荧光光学式测定、加州乳房炎检测法(California mastitis test, CMT)等方式^[13-15]。

推广使用乳成分测定仪、体细胞测定仪后, 则主要通过仪器来进行常规乳成分的测定, 以加快提供生产管理、育种和研究所需的数据。记录方式也从手工表格记录, 变化到计算机和网络数据记录。为了更好地服务奶牛遗传育种工作和奶牛场生产管理, 结合研究与生产中的实际需求, 形成了包括常规乳成分测定在内的DHI测定体系。

(6) 常规乳性状在现代乳性状选育改良的应用现状。1970年后, 我国的荷斯坦牛群进入选育提高阶段, 开展了系统的选育工作, 对品种、常规乳性状及其他奶牛生产性能进行登记记录。以此为数据参考基础, 经多年杂交育种工作, 形成“中国荷斯坦牛”品种^[16]。目前, 在广大的中小型牧场中选择优秀种子母牛、群体选配和个体选配等育种应用方案中, 乳性状测定都发挥着基础性的重要作用^[17]。

在现代的奶牛育种中还总结出一套行之有效的群体遗传改良技术措施, 即在进行准确规范的DHI测定后开展大规模青年公牛的基因组选择和后裔测定措施, 确定优质高产牛只核心群, 再经遗传评定找到优秀种公牛, 实现群体遗传改良^[16,18]。包括常规乳性状鉴定在内的奶牛生产性能测定在其中有着大数据基础的作用, 为现代农业反刍动物乳性状选育改良提供了科学依据。其中体现在乳蛋白量、乳脂肪量和体细胞评分在美国的总性能指数(total performance index, TPI)内占有较大权重, 分别为0.19, 0.19和0.04; 在中国奶牛性能指数(China performance index, CPI)内占有主要权重, 分别为0.35, 0.25和0.10^[19]。

此外, 通过个体泌乳期常规乳性状表型数据可以全面且准确地掌握个体的生产性能, 也丰富了育种指标中的性状信息, 为高产奶牛、乳用水牛及奶山羊的育种目标提供了可靠依据。在此基础上, 可以选育出遗传素质高的优秀种公牛, 品种改良工作可以有针对性地进行选种选配, 改良下一代个体的育种值^[18]。在奶牛养殖生产中可以根据牛只乳性状表型的不同, 选用相应的优势种公牛参与配种, 表型测定后的最终目的还是进行基因组选择。与泌乳性能相关的多项研究是在305天产奶量、乳成分含量等乳性状表型信息和育种值信息的基础上进行个体筛选, 再通过对比高低产实验群体筛选出候选功能基因^[20,21], 更容易在研究的基础上找到有显著遗传效应的基因, 为中国优质奶牛的分子育种提供准确的遗传标记信息^[22,23]。

常规乳性状仅为农业反刍动物泌乳性能中的一部分直接表现的性状。随着更多特色乳营养成分测定方法的完善, 提供给基因组选择的信息也将增多, 更利于选择高泌乳性能的优秀种畜。

2.2 特色乳营养成分表型测定指标及测定方法

常规乳成分的应用已经取得了一定的成效, 在乳用及乳肉兼用农业反刍动物上已取得大量成果。但为满足人类对于乳制品的营养及品质需求, 特色乳营养成分研究的关注度还有待提高。

(1) 蛋白质类特色乳营养成分性状及测定方法。

(i) 重要蛋白质类乳营养成分性状测定方法研究进展。乳中的蛋白质依据特性和存在形式主要分为乳清蛋白和酪蛋白两大类, 酪蛋白约占蛋白质总量的80%。酪蛋白主要有 α_s -酪蛋白、 β -酪蛋白、 κ -酪蛋白;

乳清蛋白主要有 α -乳白蛋白、 β -乳球蛋白以及少量的免疫球蛋白、乳铁蛋白和血清蛋白. 重要蛋白质类特色乳营养成分性状为每1升牛奶中各种类蛋白质的含量^[24,25].

牛乳中蛋白质的氨基酸构成比例较平衡, 摄入合成为人体蛋白时的氨基酸利用率高, 且其中组成和人体相近, 还有8种人体无法合成的氨基酸. 乳蛋白可以提供营养, 因此测定乳蛋白性状、探究乳蛋白基因组的关联分析在遗传育种的指导中有重要意义^[26].

乳样中总蛋白质含量的检测方法已较为成熟, 对于具体各类酪蛋白和乳清蛋白的检测方式还在不断探索中.

早期关于乳样酪蛋白检测的难点在于酪蛋白在水中的溶解性低和乳清蛋白对检测的干扰^[27]. 为解决这一问题, 相关研究对疏水相互作用色谱(hydrophobic interaction chromatography, HIC)检测方法进行了探索, 发现TSK色谱柱在乳制品酪蛋白含量检测中是定性定量分析较好的工具, 结果准确^[28,29]. 其间在1998年也有研究开始了对于反向高效液相色谱法(C-18柱)分离定量牛乳蛋白的实验, 定量了 α_{s1} -酪蛋白、 α_{s2} -酪蛋白、 β -酪蛋白、 κ -酪蛋白、 α -乳白蛋白和 β -乳球蛋白, 结果与牛乳蛋白参考值相似^[30]. 此后便陆续开展了反向高效液相色谱法关于C-4柱和C-8柱对于各蛋白含量检测的探究, 其中也包括对于水牛乳的检测分析^[31]. 针对具体蛋白质类型的研究也有相应的测定方法研究进展, 但因主要研究对象不同造成最终测定方法的结论有所差异^[32,33]. 此外, 1990年代还利用四阶导数紫外分光光度法直接测定了牛奶中总蛋白和酪蛋白与乳清蛋白比例^[34,35].

总之, 在乳样的蛋白质检测中, 反相液相色谱(reverse-phase liquid chromatography, RPLC)是公认的高效液相色谱法中分离度最高、适用和应用范围最广的分析方法, 但最有效适用的检测方法仍在继续探索. 本文将对检测较多种牛乳中蛋白质且应用较多的测定方法操作进行介绍.

(ii) 蛋白质类特色乳营养成分测定原理及方法.

①测定原理: 高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)的原理是以液体为流动相, 用高压输液系统, 将具有不同极性的溶剂、缓冲液等流动相泵入装有固定相的色谱柱, 各成分被分离后, 再进入检测器进行检测, 从而实现了对试样的分析. 反相

液相色谱是在此原理基础上, 由非极性固定相和极性流动相所组成的液相色谱体系. 在蛋白质类乳成分测定中, 该方法基于蛋白质分子的疏水性的不同而实现成分分离. ②所需仪器及试剂: 高效液相色谱仪, 配备溶液输送泵、自动进样器、二极管阵列检测器、化学工作站等; 超纯水系统; 旋涡混匀器. 色谱纯: 三氟乙酸(TFA)、乙腈(ANC); 实验用水: 18.2 M Ω cm高纯水; 分析纯; 分散剂溶液; 蛋白质标准品等. ③色谱条件^[25,26,36]: 根据仪器选用合适色谱柱与进样量, 要求250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m. 根据实际需求设置仪器柱温、检测波长、流动相等洗脱程序. 以Agilent 1100型高效液相色谱仪为例^[25], 色谱柱为Jupiter C₄柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 进样量20 μ L. ④标准溶液制备^[25,26,36]: 根据具体仪器要求制备标准溶液. 取9种蛋白质标准品, 加入分散剂溶解, 混匀, 缓慢摇动避免产生气泡, 再进行混合稀释, 制成一定浓度标准溶液. ⑤样品处理、标准曲线与定量方法^[26]: 按图3流程进行操作, 得到峰图对质量浓度绘制工作曲线, 并进行线性回归. 将最终样品溶液重复分析3次, 外标法定量.

(2) 脂肪酸类特色乳营养成分性状及测定方法.

(i) 重要脂肪酸类乳营养成分性状测定方法研究进展. 乳脂肪于人体作用十分重要, 它是供能物质, 也是脂溶性维生素存在的介质, 便于人体消化和利用脂溶性维生素^[37]. 对乳中脂肪酸类乳成分性状进行选育可以改善其中脂肪酸比例, 帮助人体吸收, 提高免疫力. 其中重要特色乳营养成分性状为每1升牛奶中所有脂类物质水解后产生的各种类脂肪酸的含量, 主要包括C10:0, C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C18:0, C14:1, C16:1, C18:1, C20:1, C18:2, C18:3, C20:4, C20:5, C22:6等约40种脂肪酸. 主要脂肪酸的选择需要通过前期测定, 找到既有高遗传力又有代表性的脂肪酸用于特色乳营养成分的选育改良.

与乳样中各类蛋白质测定的情况相同, 脂肪酸类特色乳营养成分的测定方法也正在不断探索和完善. 牛奶中脂肪酸性状表型测定方法主要有气相色谱法(gas chromatography, GC)和近红外光谱法(near infrared reflectance spectroscopy, NIRS)两种. 大部分文献的研究思路也是在该方法上进行探究, 其主要流程思路如图4所示^[38]. 其中, 色谱法更方便准确, 被广泛应用于脂肪酸的组成分析^[39,40].

各个脂肪酸的不饱和度、碳链长度以及双键的几

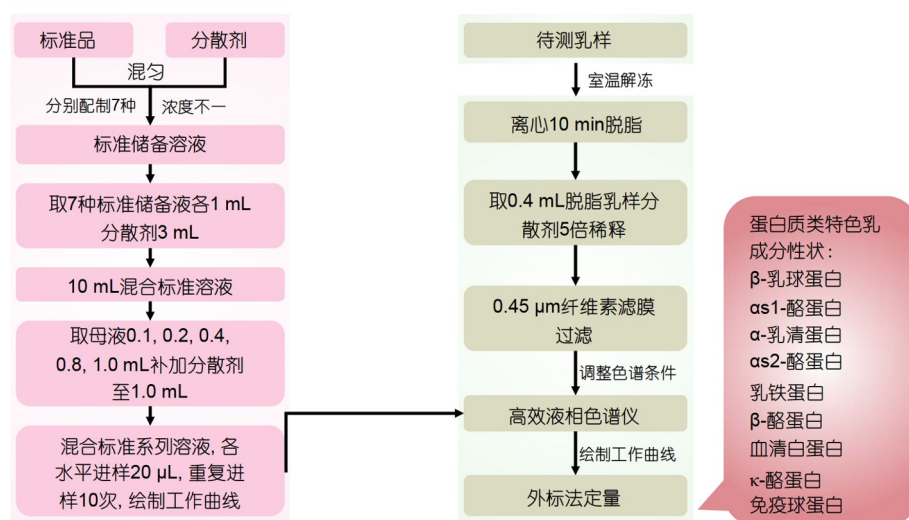


图3 乳中蛋白质组分测定流程图(网络版彩图)

Figure 3 Flow chart for determining the protein components in milk (color online)

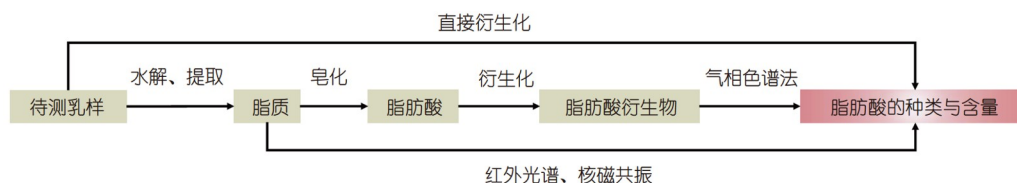


图4 牛奶中脂肪酸组分检测流程(网络版彩图)

Figure 4 Detection process of milk fatty acids (color online)

何构型不同故脂肪酸在色谱柱上保留的时间不同。以此为主要原理, 气相色谱法先将脂肪酸转化为脂肪酸甲酯, 再让样品通过色谱柱, 将各脂肪酸分离, 最终通过峰面积比确定各类脂肪酸的比例^[41]。

在样品前处理中常规的处理办法是通过水解、提取、皂化、衍生化获得脂肪酸衍生物, 减少了样本基质的干扰。目前, 衍生化最常用的方法是甲酯化, 有酸催化法、碱催化法两种。若使用酸催化法则需要先进行脂质皂化^[42], 碱催化法耗时较短, 但不能催化游离脂肪酸甲酯化^[43]。两种脂肪酸衍生化方法各有利弊, 通过对比五种甲酯化方式发现, 有较高甲酯化效率的是乙酰氯-甲醇法^[44]。常规处理办法步骤繁琐、试剂消耗大且可能会发生脂肪酸异构化而造成检测不准, 因此在基本原理背景下产生了直接衍生化的方法^[45]。

综合考虑脂肪酸类乳成分测定时的易于操作、耗材少、普及性高、检测方便等方面因素, 进一步对乙

酰氯-甲醇溶液甲酯化前处理气相色谱法分析的测定方法作详细介绍。

(ii) 脂肪酸类特色乳营养成分测定原理与方法。
①测定原理: 气相色谱法用气体作为移动相, 适用于有机化学中易于挥发而不发生分解的化合物的分离与分析。其中气相色谱-氢火焰离子化检测法(gas chromatography flame ionization detector, GC-FID)使用火焰电离检测器的氢火焰离子化检测法主要对烃类响应灵敏。脂肪酸类乳成分的主要检测思路是先将乳样经有机溶剂提取出粗脂肪。而后根据气相色谱法原理, 形成甲酯, 用正己烷萃取, 通过色谱柱分离, 检测器检测, 外标定量^[46]。②所需仪器试剂: 气相色谱仪(配FID检测器)、离心机。本文以Agilent 7890B气相色谱仪为标准说明。正己烷/异丙醇溶液; 硫酸钠溶液; 氢氧化钠甲醇溶液; 盐酸/甲醇溶液; 标准品。样品前处理^[41,46]: 参考文献中处理方式, 如图5所示, 处理样品后, 取上层

清液上机测定。③气相色谱条件^[41]: 参考文献色谱条件, 色谱柱型号为Agilent HP-88, 100 mm×0.25 mm, 0.20 μm, 采用程序升温进行检测。设置气相色谱仪测定条件。④定性定量方法^[41,47]: 通过37种脂肪酸混标和C18:1 trans-11(TVA)标准品进行气相色谱仪校正。参考图5中试剂对乳样中各种脂肪酸进行定性定量测定, 取平均值。以保留时间定性, 以面积百分比定量。测定值=试样中单个脂肪酸含量÷总脂肪酸含量×100%。

(3) 低聚糖类特色乳营养成分性状及测定方法。

(i) 重要低聚糖类乳营养成分性状研究进展。每1升牛奶中所含各种低聚糖的含量, 低聚糖类特色乳营养成分性状包括2'岩藻糖基化乳糖、6'-唾液乳糖、3'唾液酸乳糖、乳糖-N-四糖、二唾液酸化-N-四糖、乳-N-岩藻五糖 I、乳糖-N-岩藻五糖 II、乳糖-N-二岩藻六糖 I 等。

低聚糖对于幼小动物的发育有重要的生理活性^[48], 低聚糖在消化、抗炎、免疫调节和促进大脑发育中都有一定的作用^[49]。探究牛乳、羊乳中的低聚糖形成相关基因与通路, 有利于幼小动物的健康发育, 也会使乳制品增多有益于人体健康的特性。

目前在低聚糖的研究中, 因羊乳有营养成分较高、低聚糖成分与母乳更加类似的特点^[50], 所以在羊乳上进行低聚糖的提取及研究的内容较多, 且大部分目的在于加强婴幼儿的营养摄入^[49,50]。但我国从遗传

育种方向探究反刍动物乳中低聚糖形成相关基因和作用机理的研究较少, 且远少于乳中各类蛋白质和脂肪酸的研究。

随着色谱技术和质谱技术(mass spectrometry, MS)的出现与进步, 乳样中低聚糖的定性和定量方法也正在逐步建设, 以往一般采用纸层析、薄层析、正相或反向高效液相色谱法进行分离, 再通过单糖分析、甲基化分析、核磁共振光谱等进行表征, 也有运用多种质谱法从糖蛋白和糖脂中分离出低聚糖的方法^[51], 目前最常用的测定方法还是高效液相色谱法^[50]。美国加州大学戴维斯分校已经研发出用特殊的分离柱而测定出较为准确结果的先进方法^[48,52], 证明乳样中低聚糖的精准检测是可以逐步实现的。因此在低聚糖类乳性状测定方法上, 我国还需要建立更有效通用的检测手段。此外, 我国牛奶产量远超于羊奶, 在奶牛低聚糖乳性状方面通过分子遗传学和基因组学手段提高牛奶的营养价值也是一个突破方向。

(ii) 低聚糖类特色乳营养成分测定原理与方法。

①测定原理: 用葡聚糖凝胶层析法富集乳样中的低聚糖。低聚糖分离的原理主要是不同分子质量的低聚糖在分离过程中, 于凝胶颗粒内不断扩散并受到排阻作用, 通过分子筛作用分离^[53]。再使用灵敏度高, 结果重现性好的高效液相色谱法定量低聚糖^[50]。最终用质谱仪处理, 进行数据处理分析。②低聚糖提取与富集: 根

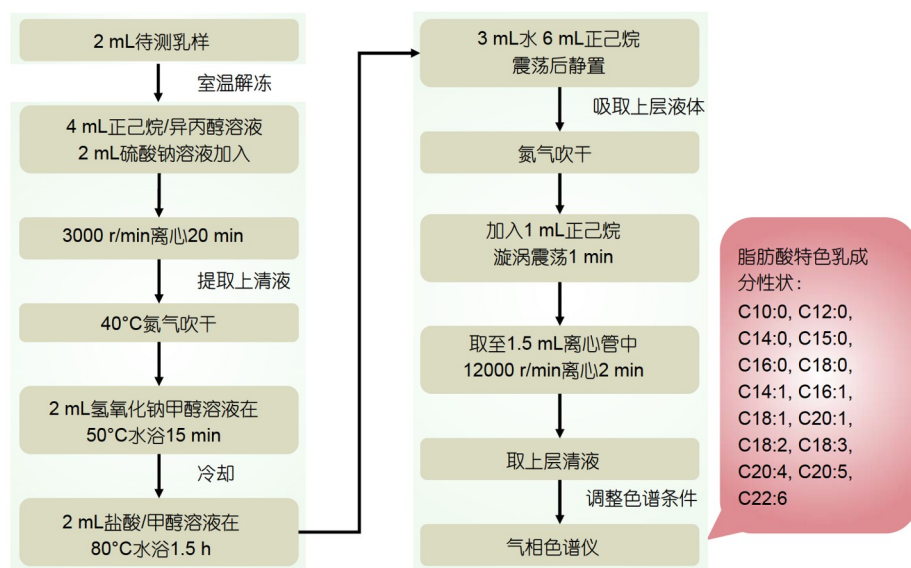


图 5 乳中脂肪酸组分测定流程图(网络版彩图)

Figure 5 Flow chart for determining the fatty acid components in milk (color online)

据文献^[48]内容绘制低聚糖类表型测定流程如图6, 进行低聚糖的提取与富集. ③高效液相色谱-质谱仪检测方法: 高效液相色谱仪, ACQUITY UPLC氨基色谱柱. 柱温、流速、流动相、洗脱程序参考张艳^[48]等的检测方式. 使用Q-Exactive Focus质谱仪, 电喷雾离子源; 设定程序条件, 按图6流程进行检测. 其中最后匹配查找的质量误差小于 10×10^{-6} ^[48].

此外, 近期高通量牛奶代谢组成为比较热门的研究热点. 越来越多的实验发现, 牛奶的代谢组与乳成分、体细胞数等性状息息相关^[54,55], 部分物质可能通过影响代谢通路从而影响重要乳性状^[56]. 牛奶代谢组可能会逐渐成为新的重要乳性状, 相关研究还需要加强关注. 牛奶中的代谢组检测技术主要为质谱技术和核磁共振技术(nuclear magnetic resonance, NMR), 一般使用液相色谱-质谱技术较多(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)^[57].

(4) 特色乳营养成分应用. 关于以上特色乳营养成分的研究中, A2奶是牛奶中的 β -酪蛋白为A2型 β -酪蛋白的牛奶, 可能会减轻学龄前儿童与牛乳不耐受相关的胃肠道症状和改善儿童认知表现^[58]. 目前A2奶已经开始商业应用, 但A2奶的确切功能还需进一步验证.

从基因组关联分析可以看出, 影响特色乳营养成分含量的遗传变异可以为奶牛的选育及功能性乳制品的生产提供理论依据, 因此收集牛群特色乳营养成分数据十分必要. 蛋白质类、脂肪酸类、低聚糖类和代

谢组特色乳营养成分都可以通过色谱法等方法来进行测定, 但测定的精确度还有待提高. 乳样中部分蛋白质已经可以通过高通量来进行测定^[59], 大部分特色乳营养成分的高通量、高灵敏度的分析方法还处在研发阶段. 所以目前关于特色乳营养成分主要存在的问题是如何对特色乳营养成分实现高通量的精准测定和如何进一步探索基因组对特色乳营养成分的影响, 进而从遗传育种角度提高牛奶品质.

2.3 牛奶MIRS检测指标

(1) 中红外光谱法的原理及内容. 中红外光谱是物质在中红外区的吸收光谱, 用来测量样品在 $2.5 \sim 25 \mu\text{m}$ 区域光谱吸收能力. 基频吸收中, 中红外光谱显示的吸收带的形成受特定功能基团的振动模式影响, 所以适用于有机化合物的研究. 此波段及其强度的定位与键的能量、环境和有机化合物在测定单位中的浓度有关^[60]. 牛奶中特色乳营养成分的浓度会影响中红外光谱中吸收峰的强度, 因此光谱中有特征的吸收峰的峰值与乳成分的分子量浓度呈函数关系, 故中红外光谱可以通过特征吸收峰的特点建立预测乳成分浓度的模型并不断校正, 对样品进行定性和定量分析^[61].

在乳成分检测中, 依据不同物质因组成不同而在中红外光谱中对应波长显示不同的原理进行物质含量的测定. 均质牛乳中蛋白质测定主要观测肽键的胺基($6.5 \mu\text{m}$ 处红外吸收); 脂肪测定观察甘油酯的羰基

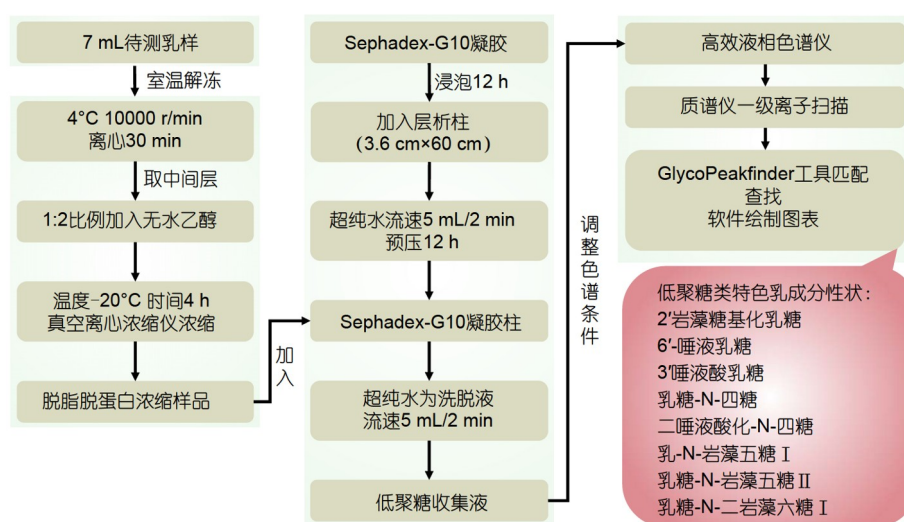


图6 乳中低聚糖组分测定流程图(网络版彩图)

Figure 6 Flow chart for determining the oligosaccharide components in milk (color online)

(5.7 μm 处红外吸收)和碳氢基(3.5 μm 处红外吸收);乳糖则观察羟基(9.6 μm 处红外吸收).以上乳脂、乳蛋白、乳糖的测定值加上0.7%维生素和无机盐即可在乳样的中红外光谱仪内计算出乳样中总固体含量.

(2) 牛奶的中红外光谱的应用.相较于传统乳品质检测分析方法, MIRS速度更快、步骤简单、准确度更高.高效液相色谱法、气相色谱法等测定方法准确度高,但对于设备仪器的要求也高,仅限实验室检测.因此对于MIRS在乳样检测与表型预测方面的研究越来越多.

在国外,中红外光谱法已经应用于牛奶成分的含量预测以及牛场中奶牛营养、健康、繁殖等状况的监控.目前国内的中红外光谱在牛奶方面则主要用于三聚氰胺和尿素等的掺假研究,用于预测的研究则较少.此外,中红外光谱法也应用在乳成分分析,利用傅里叶变换中红外光谱针对乳蛋白、乳脂和体细胞可以对牛奶进行分级研究^[62].

越来越多的研究证明,整体上中红外光谱还是一条与牛奶组分相对应的,且具有低、中、高遗传力的曲线^[63].此外,中红外光谱预测的总乳脂或多种脂肪酸具有遗传变异性,可以进行遗传选择,总体上呈中、高遗传力,且预测准确性不断提高.通过分析乳样的中红外光谱,对不同成分进行预测并进行遗传估计,可以挖掘新型经济性状^[64].

(3) 中红外光谱测定乳性状的前景.中红外光谱分析乳样的预处理过程简单,借助定制化、简化的仪器可以快速获得无损光谱,且成本较低、不限地点.光谱中也包含了多种乳样的信息,不仅可以测定乳样中常规营养成分,还能分析和预测经济相关的新牛奶表型,且对每个样本的描述是独一无二的^[64].目前有许多研究正在围绕如何利用牛奶MIRS数据进一步分析,主要针对牛奶中重要的且检测困难的经济性状的相关光谱区进行建模,再通过化学计量法得到具体准确的值,然后对模型进行校正,从而应用于研究与生产.从遗传育种学角度,探究中红外光谱数据与预测新的乳性状,完善乳性状准确高效检测方式,加强对新经济指标的遗传研究,有利于发现更多有经济价值的乳性状,进一步完善乳用动物种质资源精准鉴定.

但同时中红外光谱目前还存在大规模的乳样光谱数据收集、数据充分分析处理和光谱中出现的中高遗传变异解释^[64]等问题,还需要进一步研究中红外光谱数据收集、整理、储存、分析、应用模型建立等内容,探究光谱中与乳性状有关的波数以及数据处理和建模方法.

2.4 其他特色乳畜及乳性状测定简介

除乳用及乳肉兼用牛外,乳用水牛和奶山羊在乳用反刍动物中也占据重要地位.

(1) 乳用水牛.水牛是热带和亚热带地区的农业经济动物,以耐性强、抗病力强著称.据联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization, FAO)数据统计,2020年世界水牛存栏20353.2万头,水牛乳产量为13442.5万吨,其中我国水牛乳产量为292.0万吨.

乳用水牛主要分布在亚洲、北非和南欧.存栏量排名前列的国家有印度、巴基斯坦、中国、埃及、尼泊尔等.目前世界上乳用水牛存栏和水牛奶产量最多的国家是印度和巴基斯坦.世界著名的乳用水牛品种包括摩拉水牛、尼里-拉菲水牛、地中海水牛,分别原产于印度、巴基斯坦和意大利.我国目前已明确把发展乳用水牛作为南方奶业发展的战略选择,加强南方乳用水牛产业发展.但我国目前乳用水牛产业仍存在养殖规模需扩大、市场开发需加强、产业化体系需健全等问题^[65,66].

奶水牛的常规乳性状表型测定内容及方法与荷斯坦牛相似,不做赘述.

(2) 奶山羊.奶山羊是以产乳为主要用途的山羊,是不少国家供应鲜乳和乳制品的主要来源之一.奶山羊培育始于欧洲,饲养较多的国家有瑞士、意大利、西班牙和印度等.世界上主要的奶山羊有萨能奶山羊、吐根堡山羊、关中奶山羊等.

山羊奶品质佳,营养价值较高,部分乳蛋白结构与人奶相似,更易被人体吸收^[67,68].近年来,世界山羊养殖数量持续增长.据FAO数据显示,2018年全球奶山羊存栏约2.16亿只,其中我国为128.5万只.但奶山羊只均年产乳量在100 kg以上的国家前十位均为欧洲国家.

奶山羊的常规乳性状表型测定内容也与荷斯坦牛相似,只是305天产奶量记录为300天产奶量,是指从产羔当天到第300个泌乳日的累计产奶量.测定方法同前文所述(“奶牛生产性能测定”).此外,山羊奶的采样情况根据牧场的实际采样时间进行,一般取早晚两次乳样,按早:晚=1:1比例混匀.

3 展望

综上, 乳业是世界公认的经济、高效型的健康产业, 乳用农业反刍动物在畜禽种质资源保护和利用中占有十分重要的地位。乳性状表型的精准与高通量测定是高产量、高品质乳用动物种业振兴的基石。在乳性状表型测定过程中, 目前还存在样品运输难、检测量有限, 检测场地受限等问题。因此除了健全乳用反刍动物常规乳性状数据库和建立乳用及乳肉兼用牛、乳用水牛、奶山羊的育种数据平台外, 在重要乳性状的鉴定方法上还要往测得准、通量大、实用性强方向发展, 更要研发出适合我国特色乳用动物及特色乳营

养成分性状的测定方法及检测仪器。

进一步研发方便、快捷、精准、通量高的乳性状表型测定方法及仪器, 是今后乳用动物表型测定的研究重点。一方面, 需要通过加强中红外光谱法等对乳性状表型进行研究和预测, 挖掘新型的重要乳成分性状, 加快乳用反刍动物重要乳性状的遗传改良进展; 另一方面, 需要建立乳性状表型高通量鉴定技术平台, 建立全基因组水平的基因型高通量鉴定和筛选技术, 构建乳用反刍动物种质资源大数据信息化平台, 通过多项数据及数据趋势筛选出乳用目标性状突出的优异种质资源, 从而促进我国反刍动物乳品质量上升, 推动乳业长效高质量发展。

参考文献

- 1 Haenlein G F W. Past, present, and future perspectives of small ruminant dairy research. *J Dairy Sci*, 2001, 84: 2097–2115
- 2 Zhang Y. Animal Breeding (in Chinese). 2nd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2018. 1–12 [张沅. 家畜育种学. 第2版. 北京: 中国农业出版社, 2018. 1–12]
- 3 Liu C S, Li L L, Zhang S L, et al. Dairy Herd Improvement and Application (in Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 2016 [刘丑生, 李丽丽, 张胜利, 等. 奶牛生产性能测定及应用. 北京: 中国农业出版社, 2016]
- 4 Technical specification of Chinese Holstein cattle performance test (in Chinese). NY/T 1450-2007 [中国荷斯坦牛生产性能测定技术规范. NY/T 1450-2007]
- 5 Li G W. Chinese Students Drinking Granny Source Management Technical Manual (in Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 2006. 97–100 [李伟国. 中国学生饮用奶奶源管理技术手册. 北京: 中国农业出版社, 2006. 97–100]
- 6 Wang Y, Wen W. Dairy Herd Improvment Technology (in Chinese). Yinchuan: Ningxia People's Education Press, 2013. 31 [王瑜, 温万. 奶牛生产性能测定技术. 银川: 宁夏人民教育出版社, 2013. 31]
- 7 Wang G L, Wang J X. Questions and Answers about the Science of Raising Dairy Cows (in Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 2001. 233–234 [王根林, 王俊勋. 科学饲养奶牛技术问答. 北京: 中国农业出版社, 2001. 233–234]
- 8 Rapid determination of fat, protein, lactose and total solids in milk-infrared spectrometry (in Chinese). NY/T 2659-2014 [牛乳脂肪、蛋白质、乳糖、总固体的快速测定红外光谱法. NY/T 2659-2014]
- 9 Biggs D A. Milk analysis with the infrared milk analyzer. *J Dairy Sci*, 1967, 50: 799–803
- 10 Wang Y L, Gao T Y, Liu X Y. Questions and Answers on Dairy Husbandry Techniques (in Chinese). Beijing: China Agricultural University Press, 2004. 40–44 [王艳玲, 高腾云, 刘兴友. 奶牛饲养技术问答. 北京: 中国农业大学出版社, 2004. 40–44]
- 11 Enumeration of somatic cells in raw milk (in Chinese). NY/T 800-2004 [生鲜牛乳中体细胞的测定方法. NY/T 800-2004]
- 12 Wang X J, Wang X P, Tang H F. Scientific Construction and Production Management of Large-scale Dairy Farm (in Chinese). Zhengzhou: Henan Science and Technology Press, 2017. 153–154 [王学君, 王晓佩, 唐洪峰. 规模化奶牛场科学建设与生产管理. 郑州: 河南科学技术出版社, 2017. 153–154]
- 13 Wang H, Xu Z C. Determination of lactation performance of western×native hybrid cows under Sichuan rural conditions (in Chinese). *Sichuan Anim Vet Sci*, 1992, 1: 28–29 [王淮, 徐载春. 四川农村条件下西×本杂种母牛泌乳性能的测定. 四川畜牧兽医, 1992, 1: 28–29]
- 14 Zhao Y B. Dairy herd improvement of Simmental (in Chinese). *Chin Qinghai J Anim Vet Sci*, 1985, 5: 35–40 [赵义斌. 西德牛的生产性能测定. 青海畜牧兽医杂志, 1985, 5: 35–40]
- 15 Newton J E, Axford M M, Ho P N, et al. Demonstrating the value of herd improvement in the Australian dairy industry. *Anim Prod Sci*, 2021, 61: 220–229
- 16 Zhang S L, Sun D X. Past, now and future of dairy breeding industry (in Chinese). *China Animal Industry*, 2021, 15: 22–26 [张胜利, 孙东晓. 奶

牛种业的昨天、今天和明天. 中国畜牧业, 2021, 15: 22–26]

- 17 Xu H, Che R X, Xing B K, et al. Application and discussion of modern breeding technology in small and medium-sized dairy farm (in Chinese). *Today Anim Husb Vet Med*, 2022, 38: 62–63+73 [徐华, 车瑞香, 邢宝奎, 等. 现代育种技术在中小型奶牛场的应用与探讨. 今日畜牧兽医, 2022, 38: 62–63+73]
- 18 Wang L L. Application of DHI technology in breeding of high yield dairy cows (in Chinese). *Mod Anim Husb*, 2019, 9: 41 [王玲玲. DHI技术在高产奶牛选育中的应用. 当代畜禽养殖业, 2019, 9: 41]
- 19 Fan Q, Wang J C, Yu M Z. The revelation of Chinese dairy breeding based on changes of American total performance index (in Chinese). *China Dairy Cattle*, 2021, 7: 24–28 [范强, 王景春, 俞美子. 美国TPI修订对中国荷斯坦牛选育工作的启示. 中国奶牛, 2021, 7: 24–28]
- 20 Chen Y D, Zhang Y, Yang J, et al. Exploration of key functional genes affecting milk production traits in dairy cattle based on RNA-seq (in Chinese). *Biotechnol Bull*, 2020, 36: 244–252 [陈一丹, 张昱, 杨洁, 等. 基于转录组测序的奶牛产奶性状重要功能基因挖掘. 生物技术通报, 2020, 36: 244–252]
- 21 Li J. Identification of candidate genes for reproductive and milking traits and functional of *IGFBP7* gene in buffalo (in Chinese). Dissertation for Doctoral Degree. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018 [李俊. 水牛繁殖和泌乳性状候选基因筛选及*IGFBP7*基因功能解析. 博士学位论文. 武汉: 华中农业大学, 2018]
- 22 Li Q, Li Y, Shi L J, et al. Analysis of genetic effects of *FBP2* gene on milk production traits in Chinese Holstein (*Bos Taurus*) (in Chinese). *J Agric Biotechnol*, 2019, 27: 1582–1595 [李茜, 李妍, 石丽君, 等. 中国荷斯坦牛*FBP2*基因对产奶性状的遗传效应分析. 农业生物技术学报, 2019, 27: 1582–1595]
- 23 Yang Y Z, Huang J F, Tang S Q, et al. Genetic effect analysis on *RPL23A* and *ACACB* Gene of Chinese Holstein cattle (in Chinese). *China Cattle Sci*, 2022, 48: 4–8 [杨宇泽, 黄金峰, 唐韶青, 等. 中国荷斯坦牛*RPL23A*和*ACACB*基因对产奶性状的遗传效应分析. 中国牛业科学, 2022, 48: 4–8]
- 24 Chen J Z. The Bible of Nutritions (in Chinese). Shantou: Shantou University Press, 2006. 53–55 [陈建志. 101种营养物质实用指南. 汕头: 汕头大学出版社, 2006. 53–55]
- 25 Liu L J, Liu Y P, Mou G Q, et al. Determination of whey protein in fresh milk by reversed phase high performance liquid chromatography (in Chinese). *Food Sci Technol*, 2015, 40: 313–317 [刘利娟, 刘彦品, 牟光庆, 等. 反相高效液相色谱法同时测定鲜牛乳中的乳清蛋白. 食品科技, 2015, 40: 313–317]
- 26 Dong A J, Yang X, Zhang Y C, et al. Separation and quantification of major protein in yak milk by high performance liquid chromatographic method (in Chinese). *J Instr Anal*, 2012, 31: 972–976 [董爱军, 杨鑫, 张英春, 等. 高效液相色谱法分离测定牦牛乳中的8种蛋白质. 分析测试学报, 2012, 31: 972–976]
- 27 Chen J, Su M D, Tang X. Application of high performance liquid chromatography in the detection of whole protein in milk (in Chinese). *China Food Safe Mag*, 2020, 24: 167 [陈江, 苏美冬, 唐欣. 高效液相色谱法在牛乳整体蛋白检测中的应用. 食品安全导刊, 2020, 24: 167]
- 28 Chaplin L C. Hydrophobic interaction fast protein liquid chromatography of milk proteins. *J Chromatogr A*, 1986, 363: 329–335
- 29 Bramanti E, Ferri F, Raspi G, et al. New method for separation and determination of denatured caseins by hydrophobic interaction chromatography. *Talanta*, 2001, 54: 343–349
- 30 Bobe G, Beitz D C, Freeman A E, et al. Separation and quantification of bovine milk proteins by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem*, 1998, 46: 458–463
- 31 He S F, Chen H B, Long C Y, et al. Research progress on the detection methods of cow's milk allergen β -lactoglobulin (in Chinese). *J Food Safe Qual*, 2019, 10: 1763–1769 [何圣发, 陈红兵, 龙彩云, 等. 牛乳过敏原 β -乳球蛋白检测方法的研究进展. 食品安全质量检测学报, 2019, 10: 1763–1769]
- 32 Yang A J, Ji K F, Yang M F, et al. Ultra performance liquid chromatography detection of β -lactoglobulin in milk (in Chinese). *Mod Food Sci Technol*, 2021, 37: 333–339 [杨爱君, 纪坤发, 杨美丰, 等. 牛乳中 β -乳球蛋白检测方法的建立. 现代食品科技, 2021, 37: 333–339]
- 33 Zhao D W, Liu L, Xiao S Y. Study on analysis of whey protein by HPLC (in Chinese). *Food Res Dev*, 2011, 32: 93–95 [赵大伟, 刘玲, 肖诗英. 高效液相色谱分析乳清蛋白方法研究. 食品研究与开发, 2011, 32: 93–95]
- 34 Lüthi-Peng Q, Puhon Z. Determination of protein and casein in milk by fourth derivative UV spectrophotometry. *Anal Chim Acta*, 1999, 393: 227–234
- 35 Meisel H. Application of 4th-derivative spectroscopy to quantitation of whey-protein and casein in total milk protein. *Milchwissenschaft-milk Sci Int*, 1995, 50: 247–251

- 36 Wang J, Zhang Q H, Wang Z H, et al. Determination of major bovine milk proteins by reversed phase high performance liquid chromatography (in Chinese). *Chin J Anal Chem*, 2009, 37: 1667–1670 [王娟, 张庆合, 王志华, 等. 反相高效液相色谱法测定牛奶中的主要蛋白质. 分析化学, 2009, 37: 1667–1670]
- 37 Feng C P, He Y, Na R. Analysis of fatty acid composition of cattle and sheep milk and its products (in Chinese). *The Food Ind* 2018, 39: 305–310 [冯彩平, 贺莹, 那蕊. 吕梁地区牛、羊乳及其制品的脂肪酸组成分析研究. 食品工业, 2018, 39: 305–310]
- 38 Chen M Q, Zhang Y D, Wang F E, et al. Research progress of milk fatty acid detection methods (in Chinese). *J Food Safe Qual*, 2020, 11: 7992–7998 [陈美庆, 张养东, 王峰恩, 等. 牛奶脂肪酸检测方法的研究进展. 食品安全质量检测学报, 2020, 11: 7992–7998]
- 39 Simionato J I, Garcia J C, Santos G T, et al. Validation of the determination of fatty acids in milk by gas chromatography. *J Braz Chem Soc*, 2010, 21: 520–524
- 40 Narloch I, Wejnerowska G. Comparison of the effectiveness and environmental impact of selected methods for the determination of fatty acids in milk samples. *Molecules*, 2022, 27: 8242
- 41 Lv X Q, Shui M, Li C, et al. The analysis of fatty acid content in milk of Chinese Holstein in Beijing area (in Chinese). *China Dairy Cattle*, 2016, 3: 13–17 [吕小青, 水明, 李聪, 等. 北京地区荷斯坦牛生乳中脂肪酸含量的分析. 中国奶牛, 2016, 3: 13–17]
- 42 Amores G, Virto M. Total and free fatty acids analysis in milk and dairy fat. *Separations*, 2019, 6: 14
- 43 Mannion D T, Furey A, Kilcawley K N. Free fatty acids quantification in dairy products. *Int J Dairy Technol*, 2016, 69: 1–12
- 44 Huang Z, Sheng L H, Ma K, et al. Efficiency of five methods for fatty acids methyl esterification (in Chinese). *China Oils Fats*, 2013, 38: 86–88 [黄峥, 盛灵慧, 马康, 等. 5种脂肪酸甲酯化方法的酯化效率研究. 中国油脂, 2013, 38: 86–88]
- 45 Liu Z, Wang J, Li C, et al. Development of one-step sample preparation methods for fatty acid profiling of milk fat. *Food Chem*, 2020, 315: 126281
- 46 Xu X F, Zhang L L. Nutrition Metabolism and Study Methods of Dairy Cattle (in Chinese). Yinchuan: Ningxia People's Publishing House, 2016. 188–189 [徐晓锋, 张力莉. 奶牛营养代谢与研究方法. 银川: 宁夏人民出版社, 2016. 188–189]
- 47 Li Y L, Yang Z P, Chang L L, et al. The improvement of gas chromatography analysis of composition in milk fatty acid (in Chinese). *China Cattle Sci* 2012, 38: 18–21 [李云龙, 杨章平, 常玲玲, 等. 气相色谱法检测牛奶中脂肪酸组分方法的改进. 中国牛业科学, 2012, 38: 18–21]
- 48 Zhang Y, Lu J, Zhang S W, et al. Optimization of sample pretreatment and chromatographic separation conditions for identification of goat milk oligosaccharides by ultra performance liquid chromatography-Q-exactive focus tandem mass spectrometry (in Chinese). *Food Sci*, 2019, 40: 152–159 [张艳, 芦晶, 张书文, 等. 羊乳低聚糖超高效液相色谱-质谱鉴定中样品前处理方法及液相色谱条件优化. 食品科学, 2019, 40: 152–159]
- 49 Lan H L, Shi Y, Zhang L N, et al. Progress in qualitative and quantitative analysis of oligosaccharides in the milks of four mammalian species (in Chinese). *Food Sci*, 2022, 43: 370–378 [蓝航莲, 施悦, 张丽娜, 等. 4种哺乳动物乳中低聚糖的定性和定量分析研究进展. 食品科学, 2022, 43: 370–378]
- 50 Yue M X, Li B, Chen S, et al. Recent research advances in goat's milk oligosaccharides (in Chinese). *China Dairy Ind*, 2021, 49: 39–45 [岳明星, 李淳, 陈思, 等. 羊乳中功能性低聚糖的研究进展. 中国乳品工业, 2021, 49: 39–45]
- 51 Urashima T, Taufik E, Fukuda K, et al. Recent advances in studies on milk oligosaccharides of cows and other domestic farm animals. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2013, 77: 455–466
- 52 Aquino L F M C, de Moura Bell J M L N, Cohen J L, et al. Purification of caprine oligosaccharides at pilot-scale. *J Food Eng*, 2017, 214: 226–235
- 53 Wang J H. Studies on structures and anti-cataract activities of polysaccharids from *Dendrobium nobile* Lindl (in Chinese). Dissertation for Doctoral Degree. Hefei: Hefei University of Technology, 2011 [王军辉. 金钗石斛多糖的化学结构与抗白内障活性研究. 博士学位论文. 合肥: 合肥工业大学, 2011]
- 54 Fu L L. Differential metabolome between colostrum and normal milk in dairy cows and effects of supplementary yeast selenium-based on metabonomics (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2019 [付力立. 基于代谢组学研究奶牛初乳与常乳组分差异及补饲酵母硒的影响. 硕士学位论文. 成都: 四川农业大学, 2019]
- 55 Wang Y, Wen L, Mu T, et al. Metabolomics analysis of milk from Holstein cows with high and low milk fat percentage (in Chinese). *Chin J Anim Vet Sci*, 2022, 53: 1396–1408 [王影, 文亮, 母童, 等. 荷斯坦牛高、低乳脂率牛乳代谢组分析. 畜牧兽医学报, 2022, 53: 1396–1408]
- 56 Hou K. The effect and mechanism of artemisinin on milk metabolites in dairy cows (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Beijing: Beijing University of Agriculture, 2020 [侯昆. 青蒿素对奶牛乳汁代谢物的影响及其调控机制的研究. 硕士学位论文. 北京: 北京农学院, 2020]

2020]

- 57 Li Y Q, Zhang L L, Zhang W G, et al. Application of metabolomics techniques in different body fluid samples of dairy cows (in Chinese). *Heilongjiang Anim Sci Vet Med*, 2019, 5: 47–50 [李永强, 张玲玲, 张维刚, 等. 代谢组学技术在奶牛不同体液样品中的应用. *黑龙江畜牧兽医*, 2019, 5: 47–50]
- 58 Wang D, Wang Q Y, Wang H M, et al. Research progress of β -casein genetic polymorphism and A2 dairy products in milk (in Chinese). *China Dairy Cattle*, 2021, 3: 40–43 [王丹, 王青云, 王慧敏, 等. 牛乳 β -酪蛋白遗传多态性及A2型乳制品研究进展. *中国奶牛*, 2021, 3: 40–43]
- 59 Zhang R, Wu X Y, Jia W. High-throughput quantitative proteomic analysis of whey from goat and bovine milk in different lactation periods (in Chinese). *Food Sci*, 2022, 43: 107–113 [张荣, 吴欣雨, 贾玮. 不同泌乳期羊乳和牛乳的高通量定量乳清蛋白质组学. *食品科学*, 2022, 43: 107–113]
- 60 S. Suzanne N. Food Analysis (in Chinese). 5th ed. Wang Y H, Song L J, Lan D M, et al., transl. Beijing: China Light Industry Press, 2019. 120–127 [S·苏珊·尼尔森. 食品分析. 第5版. 王永华, 宋丽军, 蓝东明, 等, 译. 北京: 中国轻工业出版社, 2019. 120–127]
- 61 Liu Y, Zhao G H, Chen Z D, et al. Application of mid-infrared spectroscopy in detecting food adulteration (in Chinese). *Guangzhou Food Sci Technol*, 2002, 4: 43–45 [刘娅, 赵国华, 陈宗道, 等. 中红外光谱在食品掺假检测中的应用. *广州食品工业科技*, 2002, 4: 43–45]
- 62 Xiao S J, Wang Q H, Li C F, et al. Nondestructive testing and grading of milk quality based on Fourier transform mid-infrared spectroscopy (in Chinese). *Spectr Spectr Anal*, 2022, 42: 1243–1249 [肖仕杰, 王巧华, 李春芳, 等. 傅里叶变换中红外光谱的牛奶品质无损检测分级. *光谱学与光谱分析*, 2022, 42: 1243–1249]
- 63 Du C, Nan L, Yan L, et al. Genetic analysis of milk production traits and mid-infrared spectra in Chinese holstein population. *Animals*, 2020, 10: 139
- 64 Lou W Q, Luo H P, Liu L, et al. Advances in genetic aspects of mid-infrared spectrum related traits in cow milk (in Chinese). *Chin J Anim Science*, 2020, 56: 25–32 [娄文琦, 罗汉鹏, 刘林, 等. 牛奶的中红外光谱相关指标及遗传规律研究进展. *中国畜牧杂志*, 2020, 56: 25–32]
- 65 Wang J M, Yang Y, Miao Y W. Current situation and countermeasure research of Chinese dairy cattle industry (in Chinese). *Chin J Anim Sci*, 2020, 56: 177–180+131–132 [王金梅, 杨远, 苗永旺. 我国奶水牛业发展现状及对策研究. *中国畜牧杂志*, 2020, 56: 177–180+131–132]
- 66 Zhao M Y, Wang L X, Wang Y Q, et al. Development status and countermeasures of Yunnan milk buffalo industry (in Chinese). *Yunnan J Anim Sci Vet Med*, 2021, 1: 41–43 [赵梦莹, 王莉兴, 王秋燕, 等. 云南奶水牛产业发展现状及对策建议. *云南畜牧兽医*, 2021, 1: 41–43]
- 67 Ai B M. Practical Technical Manual of Animal Husbandry (in Chinese). Huhehot: Inner Mongolia People's Publishing House, 2015. 83–84 [艾宝明. 畜牧业养殖实用技术手册. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2015. 83–84]
- 68 Quan K, Li J. The Utilization and Breeding Technology of Mutton Sheep (in Chinese). Beijing: Science and Technology of China press, 2018. 44–45 [权凯, 李君. 肉羊良种利用与繁殖技术一本通. 北京: 中国科学技术出版社, 2018. 44–45]

Phenotypic determination methods and research progress on important lactation traits in agricultural ruminants

WANG YuNong¹, TANG YongJie¹, ZHANG YaLi², SU Feng³, ZHANG Jun⁴, ZHANG Yi¹,
WANG YaChun¹ & YU Ying¹

1 College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2 College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

3 College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China;

4 Information Technology Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China

As important economic traits of agricultural ruminants, lactation traits have a large number of phenotypic determination indices, and the identification methods of these indices are varied and complex. This study reviews the methods for determining the important lactation traits in agricultural ruminants of China to breed and improve the dairy animal germplasm resources with Chinese characteristics and to create new gene resources with excellent milk yield and quality. This review details the determination methods and research progress on the main lactation traits in the following four aspects: determination indices and methods of conventional lactation traits and unique milk composition traits, mid-infrared spectroscopy, and a brief introduction of the characteristic dairy species.

agricultural ruminants, lactation traits, milk composition, phenotype determination method, high-throughput identification

doi: [10.1360/SSV-2022-0284](https://doi.org/10.1360/SSV-2022-0284)