

# 非营养性抗热应激剂对热应激种公牛 生产性能及血液生化指标的影响

李付娟<sup>1,2</sup> 李玉林<sup>3</sup> 陈健<sup>2</sup> 张嘉保<sup>2</sup> 袁宝<sup>2</sup> 陈承祯<sup>2\*</sup>

(1. 吉林大学 畜牧兽医学院, 吉林 长春 130062; 2. 吉林大学 实验动物中心, 吉林 长春 130062; 3. 延边畜牧开发集团有限公司, 吉林 延吉 133000)

**摘要:** 选用 12 头延边黄牛、延黄牛和西门塔尔牛肉种公牛作为研究对象, 在夏季热应激时往日粮中添加一定比例的含小苏打、瘤胃素、乙酸钠等非营养性抗热应激剂, 试验期为 30 d。观察并统计它们的干物质采食量、精液产量、检测精液品质; 在试验开始和结束时采集血液样品并检测其相关离子、酶和激素的含量。结果发现, 与对照组相比较, 添加非营养性抗热应激剂的试验组显著提高了种公牛的干物质采食量、精液产量与精液品质。说明所添加的非营养性抗热应激剂能在一定程度上减缓热应激对肉种公牛的不利影响。

**关键词:** 抗热应激剂; 肉种公牛; 热应激

中图分类号: S823.211 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)01-0107-06

## Effects of Non-nutritional Heat-stress Alleviators on Performance and Blood Biochemical Parameters in Breeding Bulls under Heat Stress

LI Fu-juan<sup>1,2</sup>, LI Yu-lin<sup>3</sup>, CHEN Jian<sup>2</sup>,  
ZHANG Jia-bao<sup>2</sup>, YUAN Bao<sup>2</sup>, CHEN Cheng-zhen<sup>2\*</sup>

(1. College of Animal and Veterinary Medicine, Jilin University, Changchun 130062, China; 2. Center of Experimental Animal, Jilin University, Changchun 130062, China; 3. Yanbian Prologue Exploitation Clique Company Limited, Yanji 133000, China)

**Abstract:** 12 bulls which belong to Yanbian cattle, Yanhang cattle and Simmental were selected and divided into two groups. The experimental group was given non-nutritional heat stress alleviators during the heat stress in summer. The experiment lasted 30 days, the dry matter intake (DMI), semen volume per ejaculate (VOL) and semen quality were measured. At the beginning and end of the experiment, their blood was collected to determine the contents of related ions, hormone and enzymes in blood. The results indicate that non-nutritional heat-stress alleviating supplement can relieve the adverse effect of heat stress on bulls.

**Key words:** heat-stress alleviator; bull; heat stress

牛是耐寒怕热的家畜, 理想的环境温度为 10~15℃。然而随着全球气候变暖, 养牛产业化、集约化趋势的发展, 饲养密度不断增大, 导致牛所接触的环境温度和湿度不断升高, 夏季持续的高温高湿环境

收稿日期: 2011-10-07 修回日期: 2011-11-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30972100)、现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-38)和吉林省自然科学基金项目(201215009)

作者简介: 李付娟(1987—), 女, 硕士生, 主要从事饲料营养研究, E-mail: lifujuan730@yahoo.com.cn; \* 通讯作者: 陈承祯, 副教授, 博士, E-mail: cczjd@sina.com。

对种公牛的生产性能的影响越来越明显。当温湿指数(THI)达到72以上时,种公牛出现采食量降低、射精量减少、精子密度及活力降低、畸形率增加等繁殖性能障碍,许多种公牛站在夏季高温季节不得不停产,造成很大的经济损失。因此,减缓种公牛的热应激已成为种公牛夏季饲养关键。关于采用包括营养调控等多种调控措施来缓解奶牛热应激,已有较多研究报道,但关于如何减缓热应激对肉种公牛的影响的研究,还鲜有报道。

碳酸氢钠(小苏打)是体内重要的缓冲物质之一,能与瘤胃中的酸性物质中和,提高血液pH值及碱贮,加快胃肠的蠕动,增加动物的采食量,提高饲料的消化利用率,有效减缓解热应激对内分泌系统的影响。乙酸钠在体内可降解为乙酸,具有降温作用。瘤胃素能够通过改善瘤胃内环境,从而影响能量代谢,减少挥发性脂肪酸产量,提高丙酸与乙酸的比例,抑制甲烷产生,促进菌体蛋白的合成,改善蛋白质的利用率,从而降低饲料热增耗,缓解热应激。为探讨小苏打、乙酸钠、瘤胃素等非营养性抗热应激剂对热应激条件下肉种公牛的作用效果及作用机制,笔者进行了本试验。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验牛的选择与分组

从延边畜牧开发集团有限公司所属延边种公牛站选择正在生产的,年龄相近、生产性能稳定且比较接近的延边黄牛、延黄牛、西门塔尔3个品种种公牛各4头,共12头作为试验牛。试验共设2个处理,每个处理6头牛(表1),单槽饲喂。

其中处理1为对照组,饲喂基础日粮;处理2为试验组,在基础日粮基础上,每吨饲料添加1 kg非营养性抗热应激剂。各处理饲养管理按种公牛站日常管理正常进行。

### 1.2 检测试剂盒

血清离子检测采用终点法,试剂盒购自北京中生生物工程高技术公司;碱性磷酸酶检测采用动力学法,检测试剂盒购自北京中生生物工程高技术公司;血清激素检测采用放射免疫法,试剂盒购自北京华英免疫试剂研究所。

### 1.3 试验时间和地点

种公牛的饲养试验在延边种公牛站进行,从2010年7月10日—8月13日,共计35 d,其中前5 d为预试验期,后30 d为正式试验期。血液相关指标在吉林大学实验动物中心和吉林大学基础医学院相关实验室进行。

### 1.4 血液及精液的采集与处理

1.4.1 血液的采集与处理 在正式试验前(7月14日)和试验结束时(8月13日),牛颈静脉采血20 mL,在试管架上常温静置40 min左右,待血液凝固后,离心分离血清,放入-80℃冰箱保存待测。

1.4.2 种公牛采精方法 试验期内每10 d即在7月14日、7月24日、8月3日、8月13日按种公牛站日常精液生产操作规程生产冻精。

### 1.5 试验指标观察与检测

1.5.1 温度测定与计算 测量牛所处环境温度时在舍外及牛舍中部距地面1.5 m处挂置干湿球温度计,测定每日08:00、13:00、18:00的干湿温度,并换算成温湿指数。

$$THI = 0.72(T_d + T_w) + 40.6 \tag{1}$$

(1)式中 $T_d$ 和 $T_w$ 分别指干湿球温度计读数(℃)。

1.5.2 采食量 采食量按预试期、正式试验期进行统计。试验牛采用单槽饲喂。

$$\text{采食量} = \text{饲喂量} - \text{剩余量} \tag{2}$$

表1 试验设计与分组

Tab.1 Experimentation and grouping

品种 Breed	对照组 Control group	试验组 Eexperimental group
延边黄牛 Yanbian cattle	2	2
延黄牛 Yanhang cattle	2	2
西门塔尔牛 Simmental	2	2

对照组饲喂基础日粮,试验组在饲喂基础日粮的基础上每吨饲料添加1 kg非营养性抗热应激剂。

Control group cattles were feed on basical diet while experimental group cattles were feed 0.1% non-nutritional alleviating stress addition.

1.5.3 精液产量与品质观察和检测 主要观察检测采精量、原精活力、精子密度、顶体完整率、精子畸形率等指标,按常规进行。

(1) 采精量。采集的鲜精,按照国家标准和种公牛站日常生产方式制成细管,统计细管节数。

(2) 精子活力检测。在 38 ℃ 环境温度下,取精液 50 μL 置于载玻片上,加盖玻片立即在 200 ~ 400 倍显微镜的荧光屏上观察活力。

(3) 精子密度检查。用血球计数板计数。先将精液按比例稀释,用移液器吸取精子悬液 50 μL,滴于血细胞计数器的边缘,计数 5 个中方格内精子总数,换算成 1 mL 精子悬液中精子数量,作为精子密度的指标。

$$\text{精子密度} = \frac{\text{精子总数}}{\text{精液体积}} \times 10^8 / \text{mL} \quad (3)$$

(4) 顶体完整率。将精液制作抹片,用 1 ~ 2 mL 中性福尔马林进行固定,风干后姬母萨染色液染色 1.5 h,然后用清水冲洗,最后用显微镜进行观察。

$$\text{顶体完整率}(\%) = \frac{\text{顶体完整精子数}}{\text{精子总数}} \times 100 \quad (4)$$

(5) 精子畸形率的检测。取精液 1 滴置于载玻片一端,用一边缘光滑的盖玻片与载玻片呈 35° 角,将精液拖抹于载玻片上,放置约 15 min,自然风干。在风干抹片上滴 1 ~ 2 mL 中性福尔马林液固定 15 min 后,用清水轻轻冲洗,奔去固定液,自然风干。将抹片反扣在有平槽的有机玻璃板面上,在槽和抹片之间滴入姬母萨染色液,让其充满平槽并使抹片含固定精子的面蘸上染色液,染色 1.5 h 后用清水轻轻冲去染液,晾干后镜检。

$$\text{畸形精子率} = (\text{畸形精子数} / \text{精子总数}) \times 100\% \quad (5)$$

数据处理方法采用 SPSS13.0 软件对试验数据进行统计分析。

## 2 结果分析

### 2.1 试验期牛所处环境温湿指数变化情况

表 2 牛所处环境的温湿指数

Tab.2 Index of temperature and humidity where cattles around

试验期 Experimental stage	温湿指数 Temperature and humidity index		
	08:00	13:00	18:00
1 ~ 10 d	62.26 ± 7.53	78.76 ± 10.23	72.28 ± 8.33
11 ~ 20 d	68.52 ± 8.34	83.85 ± 11.37	74.37 ± 8.58
21 ~ 30 d	77.57 ± 10.08	85.49 ± 10.82	74.55 ± 8.91

根据文献报道,当 THI 达到 72 时,肉牛便处于热应激状态。因此,由表 2 可知,试验期种公牛处于热应激状态。

### 2.2 试验牛干物质采食量变化情况

表 3 试验牛干物质采食量

Tab.3 Dry matter intake of cattles

试验期 Experimental stage	干物质采食量 / [kg · (头 · d) <sup>-1</sup> ] (DMI)	
	对照组 Control group	试验组 Experimental group
1 ~ 10 d	14.35 ± 2.21	14.50 ± 2.31
11 ~ 20 d	11.84 ± 2.67	13.32 ± 2.55*
21 ~ 30 d	10.59 ± 2.72	12.24 ± 2.76*

### 2.3 试验牛采精量变化情况

由表 4、表 5 可知,随着温湿指数的上升,受热应激影响,种公

牛的精液产量下降,但从试验第 20 天开始,与对照组相比,试验组下降幅度显著或极显著降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),不同品种间种公牛的下降幅度无显著差异。

\* 表示差异 5% 水平显著性。\* significant at 0.05 level.

表4 不同处理试验牛的采精量

Tab.4 Semen volume per ejaculate (VOL) in different treatments

采精时间 Ejaculate time	精液产量/支(VOL)	
	对照组 Control group	试验组 Experimental group
试验前1天	500.50 ± 33.89	495.17 ± 33.36
试验第10天	386.67 ± 22.72	414.50 ± 48.92
试验第20天	350.83 ± 27.84	418.33 ± 23.38**
试验第30天	337.67 ± 34.07	480.50 ± 58.11**

\* 表示差异5%水平显著性; \*\*表示差异1%水平显著性。

\* significant at 0.05 level; \*\* significant at 0.01 level.

表5 不同品种试验牛的采精量

Tab.5 Semen volume per ejaculate (VOL) in different breeds

采精时间 Ejaculate time	精液产量/支(VOL)		
	延边黄牛 Yanbian cattle	延黄牛 Yanhang cattle	西门塔尔牛 Simmental
试验前1天	489.00 ± 37.07	529.33 ± 22.39*	471.67 ± 24.01
试验第10天	411.83 ± 33.19	417.50 ± 30.04	378.33 ± 45.35
试验第20天	400.83 ± 48.86	405.33 ± 31.84	370.00 ± 48.17
试验第30天	425.67 ± 64.87	414.17 ± 60.27	416.83 ± 68.89

\* 表示差异5%水平显著性。\* significant at 0.05 level.

### 2.4 精液品质分析

从表6可以看出,试验结束后种公牛的精子活力、精子密度、顶体完整率均比试验前低,畸形率比试验前高,说明随着种公牛所处环境温湿指数的升高,热应激降低了精液品质。与对照组相比,试验组下降幅度显著或极显著降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

表6 不同处理试验牛的原精品质

Tab.6 Semen quality in different treatments

项目 Item	对照组 Control group		试验组 Experimental group	
	试验前	试验结束	试验前	试验结束
活力/% Motility	70.21 ± 0.76	58.35 ± 0.69	70.04 ± 0.73	64.86 ± 0.55**
密度/( $10^{-8} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) Density	10.73 ± 0.96	8.54 ± 0.85	10.77 ± 0.72	9.21 ± 0.62*
顶体完整率/% Acrosome integrity rate	64.55 ± 2.43	55.33 ± 2.58	64.29 ± 2.87	59.62 ± 2.23*
畸形率/% Abnormal sperm rate	18.68 ± 1.05	24.36 ± 1.33	18.75 ± 1.14	21.25 ± 1.55*

\* 表示差异5%水平显著性; \*\*表示差异1%水平显著性。

\* significant at 0.05 level; \*\* significant at 0.01 level.

### 2.5 血液指标分析

由表7、表8可知,与对照组相比,试验组种公牛血液中碱性磷酸酶、磷、镁的含量在试验前后的变化趋势差异极显著( $P < 0.01$ ),钾、钠的变化趋势差异显著( $P < 0.05$ )。与延边黄牛相比,延黄牛血液中钙的含量在试验前后的变化趋势差异显著( $P < 0.05$ );西门塔尔牛血液中钙、游离三碘甲腺原胺酸的含量在试验前后的变化趋势差异显著( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论与结论

### 3.1 抗热应激对肉种公牛采食量的影响

本实验中,随着环境温湿指数的升高,种公牛的采食量减少,对照组种公牛的采食量减少26.20%;试验组种公牛的采食量减少了15.59%。这与国内外大多文献报道基本一致。

表 7 试验前后不同处理间血液指标变化

Tab.7 Change of blood index between experiment beginning and ending in different treatments

指标 Index	对照组 Control group	试验组 Experimental group
碱性磷酸酶/(U · L <sup>-1</sup> ) ALP	-4.00 ± 0.73	7.33 ± 0.13**
磷/(mmol · L <sup>-1</sup> ) P	0.02 ± 0.01	0.34 ± 0.05*
镁/(mmol · L <sup>-1</sup> ) Mg	0.01 ± 0.01	-0.12 ± 0.02**
钾/(mmol · L <sup>-1</sup> ) K	0.27 ± 0.06	0.58 ± 0.04*
钠/(mmol · L <sup>-1</sup> ) Na	-0.83 ± 0.11	2.30 ± 0.08
钙/(mmol · L <sup>-1</sup> ) Ca	-0.12 ± 0.02	-0.02 ± 0.01
游离三碘甲状腺原氨酸/(pmol · L <sup>-1</sup> ) T <sub>3</sub>	0.06 ± 0.01	0.36 ± 0.03*
皮质醇/(ugl · dL <sup>-1</sup> ) Col	0.28 ± 0.03	0.49 ± 0.09
促黄体素/(mIUl · mL <sup>-1</sup> ) LH	-0.03 ± 0.01	0.15 ± 0.02

\* 表示差异 5% 水平显著性; \*\* 表示差异 1% 水平显著性。

\* significant at 0.05 level; \*\* significant at 0.01 level.

表 8 试验前后不同处理间血液指标变化

Tab.8 Change of blood index between experiment beginning and ending in different breeds

指标 Index	延边黄牛 Yanbian cattle	延黄牛 Yanhang cattle	西门塔尔牛 Simmental
碱性磷酸酶/(U · L <sup>-1</sup> ) ALP	2.67 ± 0.15	3.33 ± 0.17	4.67 ± 0.31
磷/(mmol · L <sup>-1</sup> ) P	0.21 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.30 ± 0.03
镁/(mmol · L <sup>-1</sup> ) Mg	0.03 ± 0.01	-0.16 ± 0.03	-0.06 ± 0.02
钾/(mmol · L <sup>-1</sup> ) K	0.47 ± 0.04	0.52 ± 0.05	0.50 ± 0.06
钠/(mmol · L <sup>-1</sup> ) Na	3.27 ± 0.16	3.93 ± 0.12	4.03 ± 0.18
钙/(mmol · L <sup>-1</sup> ) Ca	0.01 ± 0.01	-0.10 ± 0.01*	-0.07 ± 0.01*
游离三碘甲状腺原氨酸/(pmol · L <sup>-1</sup> ) T <sub>3</sub>	-0.32 ± 0.02	-0.11 ± 0.02	0.28 ± 0.04*
皮质醇/(ugl · dL <sup>-1</sup> ) Col	0.42 ± 0.05	0.38 ± 0.06	0.49 ± 0.09
促黄体素/(mIUl · mL <sup>-1</sup> ) LH	0.08 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.04 ± 0.01

\* 表示差异 5% 水平显著性。\* significant at 0.05 level.

### 3.2 抗热应激对肉种公牛采精量的影响

本实验中,随着热应激的加强,试验种公牛的采精量减少,其中对照组减少 32.53%;试验组减少了 16.29%。这可能与种公牛阴囊在正常情况下具有特殊的温度调节机能,睾丸的温度可维持比体温低 3~7℃,为精子的生成提供适宜的热平衡环境。但是当睾丸温度超过 38℃时,阴囊的温度调节机能失去作用,生殖上皮细胞发生变性,影响精子的成熟和贮存,降低种公牛的采精量有关。本实验中试验组种公牛从试验的第 10 天开始采精量有所回升,可能是抗热应激剂对热应激的缓解效果在饲喂一段时间后才显示出来。

### 3.3 抗热应激对肉种公牛精液品质的影响

3.3.1 抗热应激对肉种公牛精子活力的影响 本实验对照组精子活力下降 16.89%;试验组下降 7.40%。可能原因是热应激促进附睾内精子的呼吸作用,使代谢基质迅速被消耗,导致排出的精子活力明显减弱。而试验组减弱的幅度显著低于对照组,可能是由于抗热应激剂对热应激的缓解作用。

3.3.2 抗热应激对肉种公牛精子密度的影响 本实验对照组种公牛精液密度下降 20.41%;试验组下降了 14.48%。可能是随着热应激程度的加剧,阴囊和睾丸热调节机能失去作用,睾丸的生精机能发生障碍,精子的生成受阻,形成较多的异常精子,导致精子密度明显变低。而试验组降低的幅度显著低于对照组,可能是由于抗热应激剂对热应激的缓解作用。

3.3.3 抗热应激对肉种公牛精子顶体完整率的影响 本实验对照组种公牛精液顶体完整率下降了 14.28%;试验组下降了 7.26%。可能是由于位于精子头部的顶体,含有与受精有关的蛋白酶、放射冠

穿透酶和透明质酸酶等,它对热应激极敏感,容易变性而脱落。夏季高温使睾丸温度升高,阻碍血液-睾丸的屏障作用,从而使精子产生自体免疫,增加顶体的变性脱落,从而降低顶体的完整率。而试验组降低的幅度显著低于对照组,可能是由于抗热应激剂对热应激的缓解作用。

3.3.4 抗热应激对肉种公牛精子畸形率的影响 本实验中,对照组种公牛精子畸形率上升了30.41%;试验组上升了13.33%。这可能是热应激引起种公牛阴囊、睾丸及附性腺功能异常,改变性腺分泌物的量及其成分,从而增加畸形精子的数量。

### 3.4 抗热应激对种公牛血液指标的影响

本试验结束时,种公牛血液钙离子浓度比试验前有所降低,对照组和试验组血液钠离子浓度比试验前也有所降低,可能是热应激减少种公牛的采食量使种公牛对钠、钙等矿物质的摄入量减少,排泄量增加,使得血液中的钠、钙含量减少。试验组钠离子浓度升高可能是由于该组的抗热应激剂含有较多钠离子的原因。试验种公牛血液中皮质醇、促黄体素均无显著变化;对照组血液中游离三碘甲腺原氨酸未发现显著变化,试验组显著增加,可能是试验后期天气有所转凉,减缓了热应激。

### 3.5 抗热应激剂对减缓种公牛热应激的作用

试验所用抗热应激剂的主要成分都具有较强的缓冲作用,可从3个方面减缓热应激对种公牛的不利影响:一是增强机体的缓冲力,与瘤胃中的酸性物质中和,提高血液pH及碱贮,加快胃肠的蠕动,使动物的采食量增加,饲料的消化利用率增强,缓解热应激对内分泌系统的影响;二是通过改善瘤胃发酵环境,从而对动物瘤胃内的能量代谢产生一定的影响,使挥发性脂肪酸产量减少,丙酸与乙酸的比例提高,抑制甲烷气体的产生,促进菌体蛋白的合成,改善蛋白质的利用率,从而降低饲料热增耗,缓解热应激;三是通过有效降低体温,缓解热应激。

随着种公牛所处环境温湿指数逐渐增高,热应激的影响愈明显,种公牛采食量逐渐下滑,采精量明显减少,精液品质显著下降。肉种公牛日粮中添加小苏打、瘤胃素、乙酸钠等非营养性抗热应激剂,能在一定程度上有效减缓热应激对种公牛生产性能的不利影响,是夏季种公牛饲养管理的有效措施之一,在生产实践中值得推广。

### 参考文献:

- [1] 范石军, 韩友文. 热应激的基本原理与影响因子[J]. 中国家禽, 2005, 27(13): 34.
- [2] 李高凯, 梁学武, 刘庆华. 奶牛热应激缓解剂效果及机制初探[J]. 中国牛业科学, 2006, 32(5): 19-21.
- [3] 李俊杰, 桑润滋, 田树军, 等. 不同季节肉用种公牛精液品质与生理常值、血清及精清生化指标相关关系研究[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(3): 232-241.
- [4] Ciro M, Barros Marcelo F, Pegorer. Importance of sperm genotype for fertility and embryonic development at elevated temperatures[J]. Theriogenology, 2005, 65(1): 210-218.
- [5] David O, Kleemann, Simon K Waiker. Fertility in South Australian commercial Merino Flocks: relationships between reproductive traits and environmental cues[J]. Theriogenology, 2005, 63(9): 2416-2433.
- [6] 刘九丽, 范景胜, 徐恢仲. 环境应激对种公牛精液品质的影响及应对措施[J]. 四川畜牧兽医, 2009, 37(8): 44.
- [7] 袁志航, 文利新, 袁慧, 等. 抗应激剂研究进展[J]. 动物医学进展, 2008, 29(增): 22-23.
- [8] 何德肆, 胡述光, 袁慧. 添加不同抗热应激剂对热应激奶牛体内微量元素影响的研究[J]. 家畜生态学报, 2005, 28(6): 22-25.
- [9] De S Torres - Jnior J R, de F A Pires M, de S W F, et al. Effect of maternal heat - stress on follicular growth and oocyte competence in Bos indicus cattle[J]. Theriogenology, 2008, 69(2): 155-166.
- [10] Collier R J, Collier J L, Rhoads R P, et al. Genes involved in the bovine heat - stress response[J]. J Dairy Sci, 2008, 91(2): 445-454.
- [11] 田树军, 桑润滋, 李俊杰, 等. 热应激对种公牛精液品质及血清激素水平的影响[J]. 云南畜牧兽医, 2002, 31(4): 29-31.
- [12] 田允波. 热应激对种公牛精液品质的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2003, 30(3): 32-34.
- [13] 杜华, 张晋钊, 马军, 等. 种公牛热应激反应与精液品质的探讨[J]. 吉林畜牧兽医, 2010, 31(1): 36-38.
- [14] 崔国庆. 热应激对种公牛精液品质的影响[J]. 河南畜牧兽医, 2007, 28(9): 38.
- [15] Huang C, Tsuruta S, Bertrand J K, et al. Environmental effects on conception rates of Holsteins in New York and Georgia[J]. J Dairy Sci, 2008, 91(2): 818-825.
- [16] Ravagnolo I, Misztal. Effect of heat stress on Nonreturn rate in Holstein cows genetic analyses[J]. J Dairy Sci, 2005, 88: 1855-1864.