

基于生长表型的大黄鱼肌肉脂肪酸含量预测

张永杰^{1,2}, 周锐涛^{1,2}, 顾林林^{1,2}, 方 铭^{1,2}

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 海水养殖生物育种全国重点实验室, 福建 厦门 361021)

[摘要] 脂肪酸 (主要是 $n-3$ PUFA、 $n-6$ PUFA) 含量是大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 遗传选育过程中评价鱼类肌肉品质的重要指标。脂肪酸含量与鱼类生长发育密切相关, 然而直接对个体进行脂肪酸测定需要宰杀, 而且测定过程也比较繁琐。本研究通过气相色谱质谱联用仪 (GC-MS) 对 670 尾大黄鱼肌肉组织样品的脂肪酸含量进行测定, 采用易观测的性状 (体重、体长、体高、体厚) 为指标, 使用 PIXANT (multi-phenotype imputation based on mixed fast random forest) 软件对大黄鱼肌肉中不同指标的脂肪酸含量进行预测, 评估采用易于观测的生长性状来预测大黄鱼脂肪酸含量的可行性及不同指标下大黄鱼肌肉脂肪酸的遗传力。

[关键词] 大黄鱼; 生长表型; 脂肪酸; 含量预测; 气相色谱质谱联用仪; 生长性状

[中图分类号] S 911

The Prediction of Muscle Fatty Acid Content in Large Yellow Croaker Based on Growth Phenotype

ZHANG Yongjie^{1,2}, ZHOU Ruitao^{1,2}, GU Linlin^{1,2}, FANG Ming^{1,2}

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. State Key Laboratory of Mariculture Breeding, Xiamen 361021, China)

Abstract: The fatty acid content (mainly $n-3$ PUFA and $n-6$ PUFA) of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) is a crucial indicator for evaluating fish muscle quality in the genetic breeding process and is closely related to fish growth and development. However, direct measurement of individual fatty acid traits requires slaughtering, and the determination of fatty acid content is relatively cumbersome. In this study, the fatty acid content of muscle tissue samples from 670 large yellow croakers was determined using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Easily observable traits (body weight, body length, body height, and body thickness) were used in conjunction with the multi-phenotype imputation based on mixed fast random forest (PIXANT) algorithm to predict the fatty acid content of various indicators in the muscle of large yellow croaker. The feasibility of using easily observable growth traits to predict fatty acid content in large yellow croaker was evaluated, along with the heritability of muscle fatty acids under different indicators.

Keywords: *Larimichthys crocea*; growth phenotype; fatty acid; content prediction; GC-MS; traits

0 引言

脂类是鱼类必需的营养物质, 是构成生物体的基本物质, 是细胞膜磷脂的重要组成成分。而且,

[收稿日期] 2024-08-20

[基金项目] 国家海水鱼产业技术体系大黄鱼种质资源和品种改良岗位科学家项目 (CARS-47-G04); 福建省自然科学基金重点项目 (2021J02045)

[通信作者] 方铭 (1979—), 男, 教授, 博导, 从事鱼类遗传育种方向研究。E-mail: fangming618@126.com

<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

脂类是鱼类一般营养成分中占比变化最大的, 种类之间变动范围为 0.2% ~ 64%^[1], 即脂类含量最低的种类与含量最高的种类之间相差可能达百余倍之多。即便同类, 也可能因年龄 (大小)、生理状态、营养条件等有很大的变动。并且, 有明显脂肪滴蓄积现象^[2]。脂肪酸 (fatty acid, FA) 作为鱼油中的主要营养物质, 对维持鱼类生长发育具有重要作用。根据饱和度的不同可以将脂肪酸分为饱和脂肪酸 (saturated fatty acid, SFA)、单不饱和脂肪酸 (monounsaturated fatty acid, MUFA) 和多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA)。PUFA 是指含有 2 个或 2 个以上双键、碳原子数为 16 ~ 22 的直链脂肪酸, 其含量是评价鱼肉营养价值的重要指标^[3-4], 常常作为鱼类肌肉品质好坏的重要表征。鱼类 PUFA 通常由其前体经去饱和作用和碳链延长作用合成。海水鱼类由于天然食物中富含高不饱和脂肪酸, 不需要自身额外合成, 因此大多数海水鱼类合成高不饱和脂肪酸能力较弱^[5], 所以需要在饲料中添加一些鱼油鱼粉, 以补充鱼类生长发育至关重要的 PUFA。然而, 随着养殖规模的扩大, 鱼油鱼粉的价格也水涨船高。近年来, 不少水产科技工作者致力于寻找新的有潜力且具有经济意义的脂肪源来代替或部分代替鱼油鱼粉在水产养殖业中的应用^[6], 或者希望通过遗传选育技术培育出能够高效利用配合饲料且不影响大黄鱼 *n*-3 PUFA 含量的新品种^[7]。

表型 (phenotype) 值是指能够反映生物体细胞、组织、器官、个体和群体结构及功能特征的物理、生理和生化性状的观测值^[8]。表型可分为连续变异或不连续变异。连续变异表型较易受环境因素影响, 其基因型则会受多个等位基因影响^[9]。目前育种选择方法可分为两大类: 表型选择 (phenotypic selection, PS) 和基因组选择 (genomic selection, GS)。表型选择是直接测定目标性状的表型值, 根据表型值判断是否符合既定的育种目标, 比如鱼类肌肉脂肪酸含量这一表型, 目前常用的测定方法主要是气相色谱法^[10-11]、高效液相色谱法^[12]、红外光谱法^[13]、核磁共振法^[14]、生物学检测法^[15]等。气相色谱法虽然分析速度快、应用范围广, 但是定性能力较弱, 不能直接给出定性结果; 高效液相色谱法灵敏度不如气相色谱法, 且溶剂需要严格纯化; 红外光谱法灵敏度相对较低, 且成本较高; 核磁共振法价格较贵; 生物学检测法操作复杂, 耗时较长。但以上方法测定时要获取大样本量的脂肪酸含量这一表型数据, 需耗费大量的人力物力。随着计算机技术的飞速发展和机器学习算法的广泛应用, 可开发出算法来根据已知表型预测未知表型。计算机模拟育种技术已经被植物育种学家成功地应用于解决数量遗传学和植物育种学中存在的众多问题。育种学家已经开发了众多计算机育种模拟工具, 用于比较传统育种中不同育种方法的优劣、鉴定不同育种目标下最优育种策略及选择策略等问题^[16], 而表型预测算法为实现复杂表型的预测评估提供了一种可能。本文提出一种基于生长表型的大黄鱼肌肉脂肪酸含量预测算法。

1 材料及方法

1.1 实验材料

2019 年 12 月, 在福建省宁德市三都澳大黄鱼养殖基地, 于同一养殖网箱内随机挑选 715 尾 2 龄大黄鱼, 采集背部肌肉组织 (大于 100 g, 置于密封袋中, 存储于 -20 °C 冷库备用)、胸鳍 (置于装有 95% 酒精的冻存管中)。采样的同时记录了: 性别 (sex)、体重 (weight, 单位: g)、体长 (body length, 单位: cm)、全长 (whole length, 单位: cm)、体高 (height, 单位: cm)、体厚 (body thickness, 单位: cm)、净重 (去除内脏的体重) 等性状表型数据。其中性别由人工鉴别; 体重、净重由电子天平称重获得; 体长、全长、体高、体厚由电子游标卡尺测量获得。

1.2 主要试剂

三氯甲烷 (氯仿)、苯、甲醇溶液购于厦门市绿茵试剂玻仪有限公司。脂肪酸标准品: 己酸甲酯 (C6:0)、丁酸甲酯 (C4:0)、十四烷酸甲酯 (肉豆蔻酸甲酯 C14:0)、十八碳烯酸甲酯 (顺-9 油酸甲酯 C18:1)、十八碳三烯酸甲酯 (α -亚麻酸甲酯 C18:3)、十九烷酸甲酯 (C19:0)、二十碳五烯酸甲酯 (C20:5)、二十二碳六烯酸甲酯 (DHA 甲酯 C22:6)、二十碳四烯酸甲酯 (花生四烯酸甲酯

C20:4), 以及 37 种脂肪酸甲酯混标、HPLC 级正己烷、14% BF₃-甲醇溶液等均购于上海安谱有限公司。高纯空气、氮气购于厦门弘华工业气体有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 试剂配制

1) 0.4% CaCl₂。用电子分析天平称取 0.4 g 无水氯化钙, 倒入 100 mL 容量瓶, 向容量瓶中加入超纯水, 定容至 100 mL。

2) 氯仿-甲醇混合液。量取 200 mL 氯仿和 100 mL 甲醇溶液, 倒入准备好的棕色瓶中, 充分混合均匀, 置于 4 ℃ 冰箱保存待用 (注意保存时间不宜太久)。

3) 清洗液 ($V(\text{氯仿}):V(\text{甲醇}):V(\text{水}) = 8:4:3$)。取分液漏斗置于支架上, 量筒量取 80 mL 的氯仿、40 mL 的甲醇、30 mL 的超纯水, 分别按顺序依次加入分液漏斗, 盖上盖子, 轻微颠倒一下, 混合均匀, 静置 30 ~ 60 min, 待出现明显的分层, 取上清液置于棕色瓶中。

1.3.2 样品前处理

取大黄鱼背部肌肉样品, 低温冷冻干燥至少 72 h, 然后取出样品, 拔去鱼皮, 剔除鱼骨, 粉碎混匀, 备用于后续的肌肉脂肪酸测定实验。

1.3.3 提取样品总脂

先将 25 mL 锥形瓶编号, 称取冻干样品 0.5 g (记为 W_1) 置于锥形瓶中, 加入 15 mL 氯仿-甲醇混合液, 超声震荡 30 min 后, 置于 4 ℃ 冰箱浸提 24 h。

接着, 过滤浸提液换装到已加入 2 mL 0.4% CaCl₂ 溶液的新的 25 mL 锥形瓶 (空的锥形瓶称重记为 W_0) 中, 分别用 2 mL 氯仿-甲醇混合液漂洗浸提瓶和滤纸。静置 1 h, 待分层后用一次性吸管移走上清液, 再倾斜瓶身沿瓶壁缓慢加入 1.5 mL 清洗液, 待再分层后移去上清, 重复该操作 1 次。

然后, 加入少量甲醇 (200 μ L), 轻微混匀, 40 ℃ 真空干燥 12 h, 取出锥形瓶称重 (记为 W_2 , 两次称重前后差 0.0005 g 视为恒重), 再向其中加入 2 mL 正己烷溶解。

之后, 转入对应编号的带帽棕色瓶中, 40 ℃ 真空干燥 2 h (棕色瓶不盖帽, 真空干燥溶剂), 加入 2 mL 14% BF₃-甲醇溶液, 100 ℃ 恒温水浴 25 min (第一步甲酯化)。取出棕色瓶先加入 2 mL 苯, 再加入 2 mL 甲醇, 100 ℃ 恒温水浴 25 min (第二步甲酯化)。

最后, 转移棕色瓶中的液体至 10 mL 塑料离心管中, 加入 2 mL 超纯水后再加入 2 mL 正己烷, 振荡混匀, 以 3000 r/min 离心 8 min, 取上清液转移至 5 mL 塑料离心管中, 加入 0.5 mL 正己烷, 再以 3000 r/min 离心 5 min, 使用 1 mL 注射器抽取上清 1 mL, 用 0.22 μ m 滤膜过滤至上机瓶中。

1.3.4 大黄鱼肌肉脂肪酸检测

脂肪酸含量检测采用气相色谱质谱 (GC-MS) 联用法^[17-19]。GC-MS 包括气相色谱分离和质谱定性两部分。色谱条件: 初始温度 50 ℃, 保持 2 min; 以 8 ℃/min 升至 200 ℃, 保持 5 min; 继续以 4 ℃/min 升至 250 ℃, 保持 7 min。分流进样: 进样口温度 270 ℃; 分流流速 20.0 mL/min; 分流比 20:1; 隔垫吹扫流速 3.0 mL/min; 恒定流速 1.0 mL/min。默认参数开启真空补偿, 载气节省。质谱条件: 电子轰击离子源 (EI); 离子源温度 270 ℃; 传输线温度 270 ℃。扫描模式: 选择离子监测 (SIM); 溶剂切断时间 2.7 min。

1.3.5 大黄鱼肌肉脂肪酸的定量

大黄鱼肌肉脂肪酸的定量方法参考国务院卫生行政部门会同国务院食品药品监督管理部门制定的食品安全国家标准——《食品中脂肪酸测定 (GB 5009.168—2016)》。计算大黄鱼去脏重样品所含各脂肪酸含量表型 (FA phenotype) 的具体公式为:

$$C_i = A_i \times V \times F_i \times D \times 0.001 \times W/M。$$

其中: C_i 表示样品中某一种脂肪酸的含量 (mg/g); A_i 表示采用气相色谱质谱联用仪测定的样品中某一种脂肪酸的质量浓度 (μ g/mL); V 表示样品体积 (mL); F_i 表示各脂肪酸甘油三酯转化为脂肪酸的

换算系数; D 表示样品上样稀释倍数; m 表示提取所得粗脂肪质量 (g); M 表示提取鱼油时所用鱼肉样品质量 (g); W 表示去除脏器后的样品总质量 (g)。

1.4 基于生长表型的脂肪酸含量预测评估

1) 脂肪酸含量表型预测

由于本研究采用多性状 (体重、体长、体高、体厚等 4 个生长性状) 来预测脂肪酸含量, 所以采用一种适用于多性状预测的新的遗传学非参数缺失值插补方法——PIXANT (multi-phenotype imputation based on mixed fast random forest^[20], <https://github.com/GuLinLin/PIXANT>)。该方法采用混合快速随机森林算法对模型进行拟合, 而且 PIXANT 不需要基因型数据集, 因此计算速度很快, 具有良好的计算效率和处理大数据的能力。

2) 蒙特卡洛交叉验证

蒙特卡洛交叉验证法 (Monte Carlo cross-validation, MCCV)^[21], 也被称为 Shuffle 交叉验证法, 是一种非常灵活的交叉验证策略。在这种技术中, 数据集被随机地划分为参考群和候选群。本研究使用蒙特卡洛交叉验证来评估模型预测的准确性。

3) 评估指标

首先将 670 个个体按 9:1 的比例随机分为参考群和候选群, 重复该过程 100 次, 生成 100 份独立数据集, 以便评估模型预测的准确性。对于每次生成的数据集, 在预测过程中, 参考群用于训练模型, 而候选群的表型值会被掩盖, 需通过模型来预测候选群的表型值。通过计算候选群的预测值和真实值之间的皮尔逊相关系数, 评估预测的准确度。

2 结果

2.1 样本生长表型的描述性分析

本实验于 2019 年 12 月在福建宁德三都澳大黄鱼国家遗传育种中心采集了 715 尾大黄鱼的鳍条和肌肉样品, 剔除表型记录缺失及脂肪酸提取失败的样品, 纳入分析的样本共有 670 个。

由 670 个样本生长表型的描述性统计 (见表 1) 可知: 该批次样品体重 ($389.84 \pm$

表 1 样本生长表型信息基本统计

Tab.1 Basic statistics of sample growth phenotypic information

表型	平均值	标准差	最大值	最小值	变异系数
体重/g	389.84	154.38	841.90	95.50	0.396
体长/cm	26.07	3.12	33.00	17.50	0.119
体高/cm	7.55	1.15	10.20	4.70	0.152
体厚/cm	4.23	0.67	6.03	2.56	0.159

154.38) g、体长 (26.07 ± 3.12) cm、体高 (7.55 ± 1.15) cm、体厚 (4.23 ± 0.67) cm (mean $\pm$ SD)。由于采样个体为极端大和极端小的个体, 从样本生长表型频数密度分布图 (见图 1) 中也可以看到样本生长表型呈双峰型分布, 所以体重变异系数较大 (0.396) 属正常情况。

以性别为协变量, 经校正后的体重、体长、体高、体厚数据的频数密度分布如图 2 所示, 其基本符合正态分布。由于两极分化的采样, 所以出现轻微双峰的分布情况。

2.2 去脏重样品所含各种脂肪酸的总量

对 670 尾大黄鱼肌肉样品, 提取脂肪酸总脂质, 并用 GC-MS 进行外标法定量。计算其去脏重样品所含的各脂肪酸总量, 统计各种脂肪酸总量表型的平均值 (mean)、标准差 (SD)、最大值、最小值、变异系数 (CV)。按各脂肪酸总量进行统计, 去脏重样品中总量最高的脂肪酸为 C16:0, 平均总量达到 1050.294 mg, 最高总量达到 4916.536 mg; 其余主要脂肪酸总量从高到低依次为: C18:2n6c、C18:1n9c、C22:6n3、C16:1n7、C18:0、C20:5n3、C18:2n6t、C18:1n9t、C14:0、C18:3n3、C20:4n6、C20:1n9、C24:1n9。经过性别、批次校正后对较高总量的脂肪酸进行可视化分析 (见图 3), 可以看到各表型 (各主要脂肪酸总量) 基本为轻微偏正态分布, 考虑到采样样本为极大、极小两极采样, 后续分析中暂未对数据进行正态分布校正。

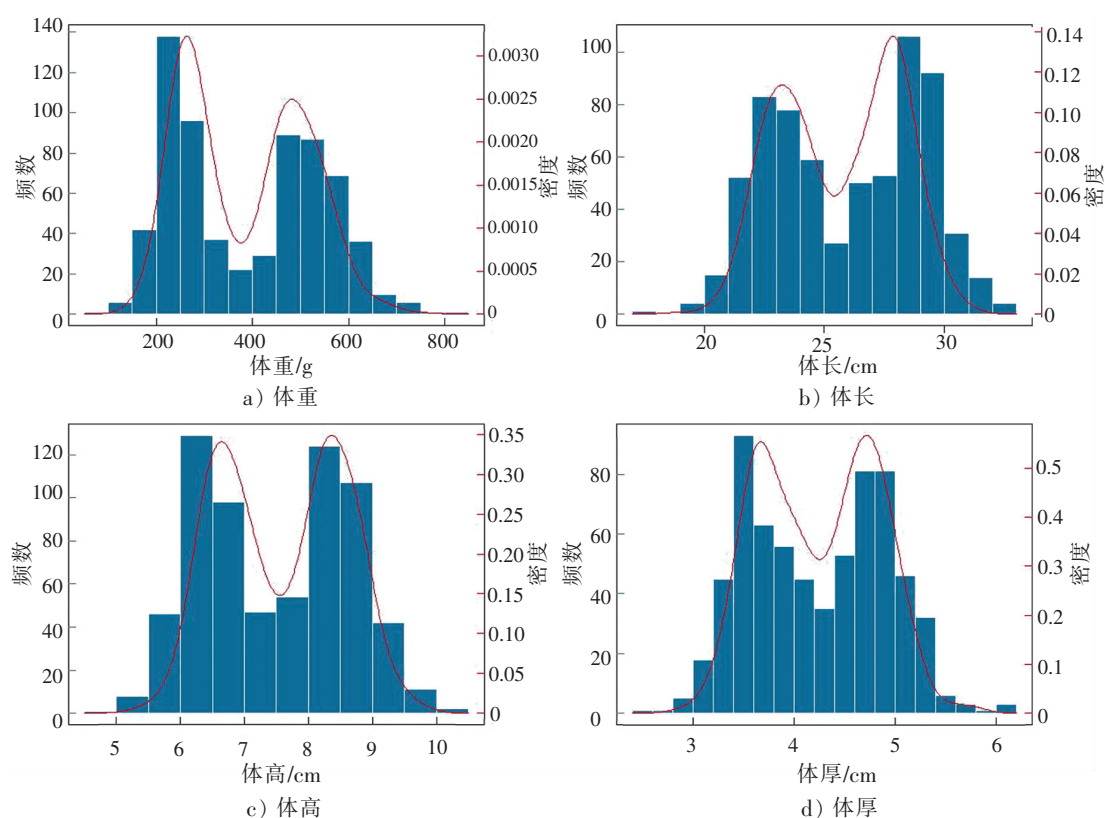


图1 样本生长表型分布及密度统计

Fig.1 Distribution and density statistics of sample growth phenotypes

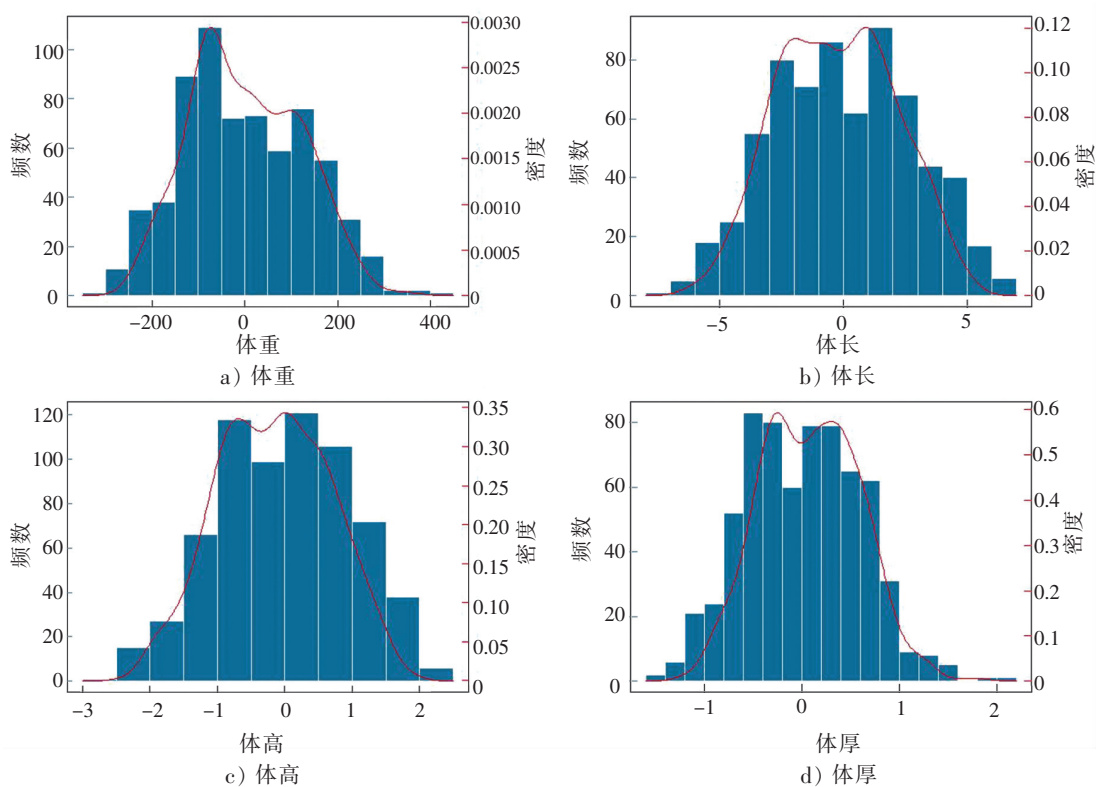


图2 校正后的样本生长表型频数密度分布图

Fig.2 Frequency-density distribution of corrected sample growth phenotype data

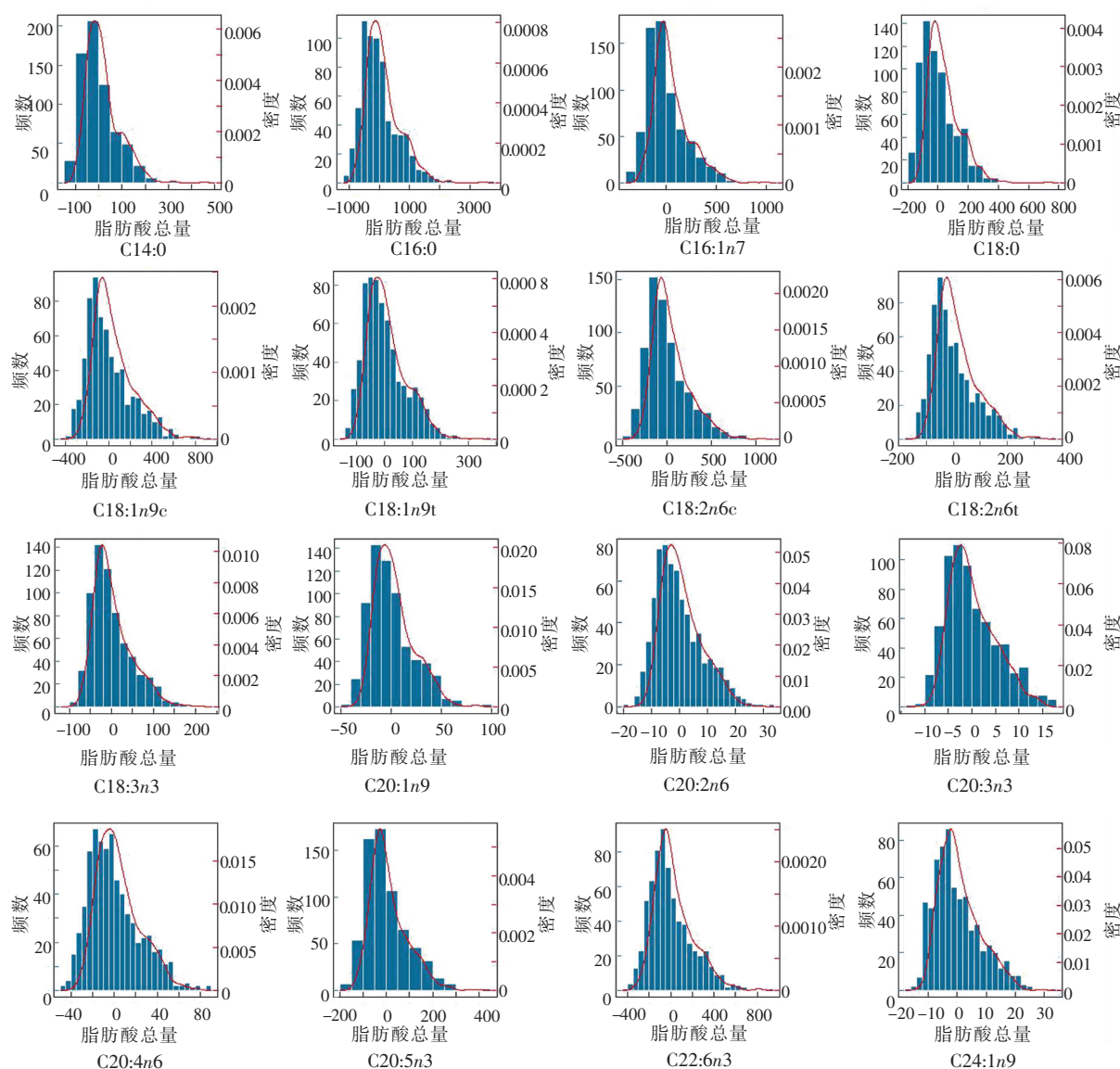


图 3 校正后的部分脂肪酸总量表型值频数密度分布图

Fig.3 Frequency-density distribution of corrected total-amount phenotype values for selected fatty acids

对脂肪酸含量表型和其余采样性状表型进行相关性分析 (见图 4), 可以看到各表型间均为正相关。其中, 体重、净重、肝脏重、胃肠重、肠长、体长、全长、体高、头长、尾长、尾柄高、体厚、躯干长等性状和各脂肪酸含量基本呈中/强度的正相关^[22]。特别是体重与 C18:3n6、C20:3n6 的相关性为 0.84, 与 C14:1n5 的相关性为 0.82, 与 C12:0 的相关性为 0.81, 与 EPA 的相关性为 0.64, 与 DHA 的相关性为 0.63; 体长与 C20:3n6 的相关性为 0.77, 与 C18:3n6 相关性为 0.76, 与 C14:1n5 相关性为 0.75, 与 C12:0 相关性为 0.74, 与 C20:3n3 相关性为 0.71, 与 C20:5n3 相关性为 0.60, 与 C22:6n3 相关性为 0.59; 体高与 C18:3n6、C14:1n5 的相关性为 0.77, 与 C20:3n6、C12:0 的相关性为 0.76, 与 C20:3n3 相关性为 0.70, 与 C20:5n3 相关性为 0.60, 与 C22:6n3 相关性为 0.58; 体厚与 C18:3n6、C20:3n6 的相关性为 0.75, 与 C14:1n5 的相关性为 0.72, 与 C20:3n3 相关性为 0.69, 与 EPA 的相关性为 0.57, 与 DHA 的相关性为 0.55。而且观察以上样本的生长性状可归纳为四个维度: 样品重 (体重、净重、肝脏重、胃肠重)、样品长 (肠长、体长、全长、头长、尾长、躯干长)、样品高 (体高、尾柄高)、样品宽 (体厚)。所以可分别以体重来表征样品重, 以体长来表征样品长, 以体高来表征样品高, 以体厚来表征样品宽。本文仅以体重、体长、体高、体厚这四个生长性状进行后续分析。

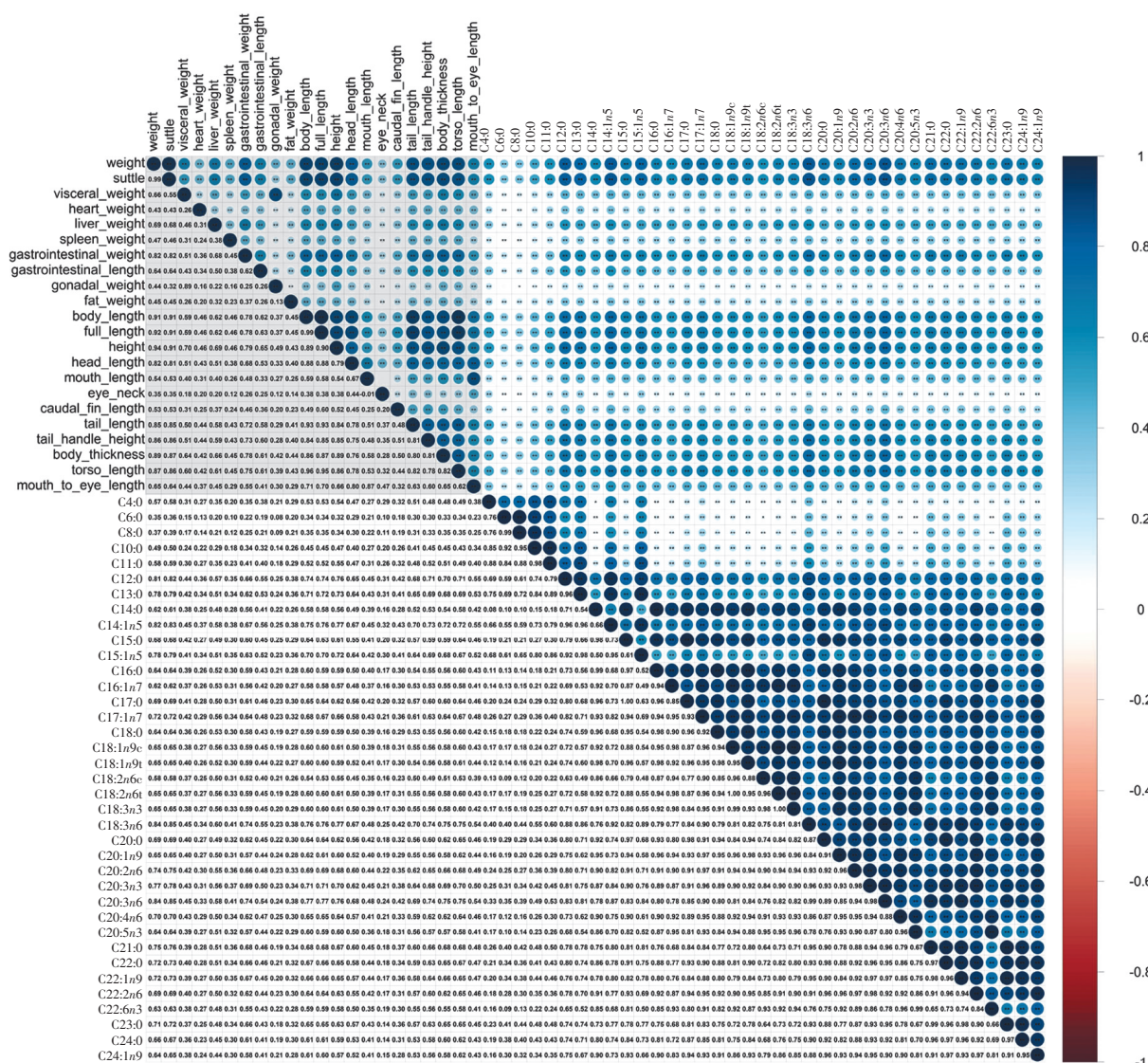


图4 脂肪酸含量表型-生长性状表型间相关性

Fig.4 Correlation of FA phenotype-growth phenotype

2.3 去脏重样品所含各种脂肪酸总量的预测

采用生长性状的表型值对大黄鱼去脏重样品所含各种脂肪酸的总量进行预测。从图 5a 可以看到: 预测准确性最高值均超过 0.5, 且预测准确性最高可达 0.925 (C15:1n5), 平均预测准确度最高可达 0.8389 (C20:3n6)。并且平均预测准确性高于 0.6 的有 26 种脂肪酸, 其中: 饱和脂肪酸有 10 种; $n-3$ PUFA 有 2 种, 它们是 ALA (0.6190 ± 0.0673)、C20:3n3 (0.7540 ± 0.0537); $n-6$ PUFA 有 4 种, 它们是 LA (0.6200 ± 0.0760)、GLA (0.8223 ± 0.0423)、ARA (0.6581 ± 0.0615)、C20:3n6 (0.8389 ± 0.0436)。而 EPA、DHA 预测准确性虽然低于 0.6, 但也高于 0.5, 分别为 (0.5975 ± 0.0726)、(0.5711 ± 0.0804)。

图 5b 展示了通过易于观测的生长表型来预测去脏重样品单脂肪酸总量的偏倚性。从图 5b 中可以看到, 采用体重、体长、体高、体厚等易于观测的生长表型对去脏重样品单脂肪酸总量预测的偏倚性大部分基本为 0, 说明预测结果与真实值基本无偏, 但同时也显示了其中有 5 种 (C16:0、C16:1n7、C18:1n9、C18:2n6、C22:6n3) 脂肪酸的偏倚性相对较大。一个可能的原因是, 这部分的脂肪酸占比都比较大, 加之采样个体体重呈两极分布, 因而脂肪酸总量的波动比较大。

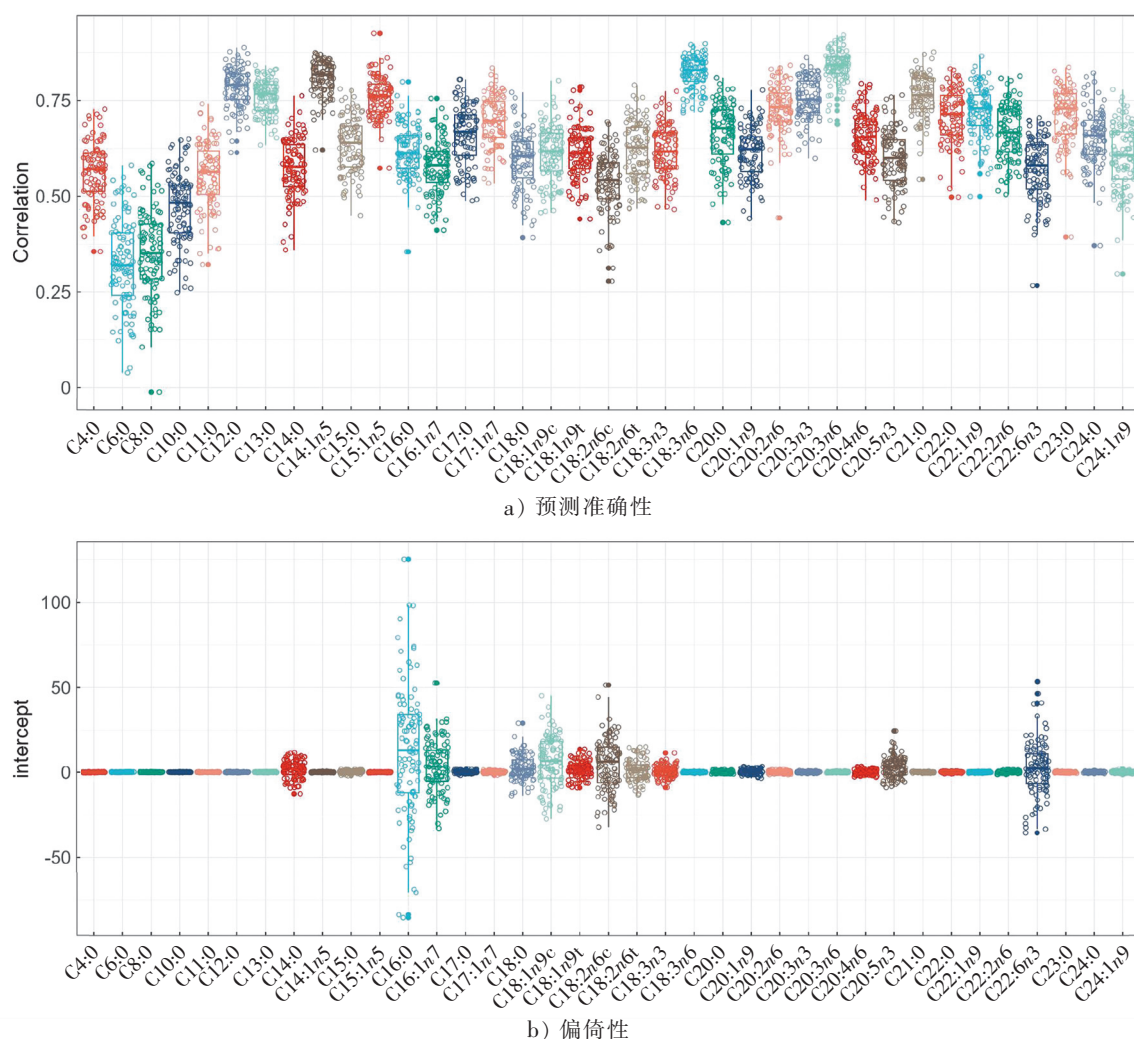


图 5 去脏重样品所含单脂肪酸总量的预测准确性和偏倚性

Fig.5 The predictive accuracy and bias of the single fatty acid content in samples with viscera removed

3 讨论

通过对 670 条大黄鱼去脏重肌肉样品脂肪酸含量进行预测, 结果显示: 采用易于观测的生长表型对大黄鱼肌肉脂肪酸含量进行预测是可行的; 易于观测的生长表型与脂肪酸含量相关性越高, 预测准确度越好。比如研究中采用体重、体长、体高、体厚等四种易于观测的生长性状对去脏重样品所含的部分单脂肪酸总量的预测效果很好, 特别是对 $n-3$ 系的 ALA (C18:3n3)、C20:3n3 和 $n-6$ 系的 LA (C18:2n6)、GLA (C18:3n6)、ARA (C20:4n6)、C20:3n6 的预测效果最好。这些 FA 具有重要的生物学意义, 如, 神经和神经元需要 ALA 来提供能量。ALA 进入人体后, 在酶 (脱氢酶和碳链延长酶) 的催化下, 先转化成 C20:3n3, 再转化成 EPA 和 DHA, 这样才会被吸收; 胆固醇必须与 LA 相结合, 才能正常运转和代谢; ARA 所产生的前列腺素 PGE2, 是人体许多生理活动所必需的激素类化学物质, 而 C20:3n6 位于 ARA 的合成通路, 对 ARA 的形成至关重要。因此通过采用易于观测的生长性状对去脏重样品所含 $n-3$ 和 $n-6$ 系的 PUFA 总量进行准确预测, 将有助于通过表型选择培育出更具脂肪酸合成能力的优良品种, 具有一定的育种应用价值。

遗憾的是, 本研究对于 DHA (C22:6n3) 的预测准确性均值为 0.5711, 标准差为 0.0804; 对于 EPA (C20:5n3) 的预测准确性均值为 0.5975, 标准差为 0.0726。这结果并不理想。目前 FDA 批准

的药物——Vascepa、Epanova,其成分就是高纯度 EPA;同时 EPA 在提高免疫系统功能、减少关节炎症等领域也有很好的应用。DHA 是大脑营养必不可少的 HUFA,它除了能阻止胆固醇在血管壁上的沉积、预防或减轻动脉粥样硬化和冠心病的发生外,更重要的是 DHA 对大脑细胞有着极其重要的作用。DHA 占人脑脂肪的 10%,对脑神经传导和突触的生长发育极为有利,因此目前 DHA 被广泛应用添加于婴幼儿奶粉中,以提高婴幼儿大脑的发育;同时 DHA 的作用不仅仅在婴幼儿大脑的发育上,对于学习记忆功能、防治视力、抗氧化、抗衰老、防治阿尔茨海默病、抗炎症、抑制肿瘤、增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性等方面均有作用。可以说 DHA 和 EPA 是鱼类营养中,最具经济价值的两种脂肪酸。目前的研究对于这两种脂肪酸的预测准确性还不够,后续需进一步改进方法。

[参 考 文 献]

- [1] 沈美芳,吴光红,殷悦,等. 塘养一龄与二龄暗纹东方鲀鱼体的生化组成[J]. 水产学报,2000,24(5):432-437.
- [2] 张春晓,王玲. 东方鲀营养需求研究进展[J]. 中国水产,2009(1):66-68.
- [3] XU H, TURCHIN G M, FRANCIS D S, et al. Are fish what they eat?: a fatty acid's perspective[J]. Progress in Lipid Research, 2020, 80: 101064.
- [4] 吉红,田晶晶. 高不饱和脂肪酸(HUFAs)在淡水鱼类中的营养作用研究进展[J]. 水产学报,2014,38(9):1650-1665.
- [5] 李明珠,马洪明. 海水鱼类必需脂肪酸的合成能力[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版),2010,40(增刊1):59-64.
- [6] 胡水鑫,王骥腾,韩涛,等. 水产饲料脂肪来源及前景分析[J]. 安徽农学通报(上半月刊),2012,18(9):183-185.
- [7] 和子杰,谢帝芝,聂国兴. 提升养殖鱼类 n-3 高不饱和脂肪酸含量的综合策略[J]. 动物营养学报,2020,32(11):5089-5104.
- [8] 赵春江. 植物表型组学大数据及其研究进展[J]. 农业大数据学报,2019,1(2):5-18.
- [9] 刘忠松. 作物遗传育种研究进展 V: 表型选择与基因型选择[J]. 作物研究,2014,28(6):780-784.
- [10] 张红梅,李思颖,蔡宝宏,等. 琉璃苣种子中脂肪酸含量的测定[J]. 安徽农业科学,2014,42(31):11223-11224.
- [11] 彭全材,宋金明,李军,等. 超声萃取-气相色谱法测定扇贝中 30 种脂肪酸[J]. 食品科学,2012,33(12):163-168.
- [12] PÜTTMANN M, KRUG H, von OCHSENSTEIN E, et al. Fast HPLC determination of serum free fatty acids in the picomole range[J]. Clinical Chemistry, 1993, 39(5):825-832.
- [13] RUIZ-JIMÉNEZ J, PRIEGO-CAPOTE F, LUQUE DE CASTRO M D. FT-midIR determination of fatty acid profiles, including trans fatty acids, in bakery products after focused microwave-assisted Soxhlet extraction[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2006, 385(8):1532-1537.
- [14] KNOTHE G, KENAR J A. Determination of the fatty acid profile by ¹H-NMR spectroscopy[J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2004, 106(2):88-96.
- [15] LOVATT A. Applications of quantitative PCR in the biosafety and genetic stability assessment of biotechnology products[J]. Reviews in Molecular Biotechnology, 2002, 82(3):279-300.
- [16] 张学才. CIMMYT 玉米育种过程的建模与模拟研究[D]. 北京:中国农业科学院,2012.
- [17] 李冰,叶崇军,李木旺,等. 纯丝胶蚕品种蚕蛹总脂肪酸含量测定及其脂肪酸成分的气相色谱-质谱联用分析[J]. 中国蚕业,2013,34(4):33-36.
- [18] 高铭媛,王淼,侯哲,等. GC-FID/MS 法测定甜瓜籽中脂肪酸组成及含量[J]. 沈阳药科大学学报,2015,32(7):556-560.
- [19] 刘娜,靳林溪,王伟. 基于非极性柱气质联用测定脂肪酸差异鉴别动物油脂[J]. 食品工业,2022,43(3):270-275.
- [20] GU L L, WU H S, LIU T Y, et al. Rapid and accurate multi-phenotype imputation for millions of individuals[J]. Nature Communication, 2025, 16(1):387.
- [21] 童继平,韩正姝. 蒙特卡罗方法与计算机模拟研究[J]. 计算机与农业,2000(7):17-21.
- [22] YEAGER K. LibGuides: SPSS tutorials: pearson correlation[EB/OL]. (2022-05-03)[2024-08-20]. <https://libguides.library.kent.edu/SPSS/PearsonCorr>.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 黄力行)