

黄条鲮幼鱼胃排空特征、消化酶活性及摄食调控基因表达

李明月^{1,2}, 高云红², 万金铭², 景琦琦², 关长涛^{2,3}, 张佳伟⁴,
李文升⁴, 翟介明⁴, 王茜¹, 贾玉东^{2,3*}

(1. 天津农学院水产学院, 天津 300384;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 山东 青岛 266237;

4. 莱州明波水产有限公司, 山东 莱州 261400)

摘要: 为阐明黄条鲮幼鱼摄食消化特性, 构建最佳胃排空数学模型, 确立最适摄食投喂间隔, 实验检测了黄条鲮幼鱼 [(63.96±5.63) g] 胃排空过程中内容物质量、肝脏和肠道中消化酶活性变化, 分析了垂体中摄食调控相关基因的表达, 比较了线性模型、平方根模型、立方模型 3 种数学模型对胃排空曲线的拟合程度。结果显示, 黄条鲮在摄食后瞬时胃内容物湿重呈阶段性降低, 18 h 后降为 0, 属于直线下下降型胃排空类型。胃排空过程中, 肝脏淀粉酶、脂肪酶和糜蛋白酶活性呈先上升后下降、随后又上升接着下降的“M”型变化趋势, 淀粉酶活性在摄食后 0~6 h 显著上升, 脂肪酶和糜蛋白酶活性在 0~9 h 显著上升。三种酶活性在 9~12 h 均呈显著下降趋势, 在 15~18 h 显著上升, 且在 18 h 活性达到最高; 肠道中的淀粉酶在 0~6 h 显著上升, 随后下降, 9~12 h 呈上升趋势, 12 h 活性达到最高, 随后逐渐下降, 其脂肪酶和糜蛋白酶活性则是在摄食后 0~12 h 显著上升, 12 h 活性达到最高, 随后逐渐下降。神经肽 Y (*npv*) 和食欲素 (*ore*) mRNA 表达水平呈先上升后下降趋势, *npv* 在摄食后 12~15 h 内表达水平显著上升, *ore* 在 9~15 h 内表达水平显著上升, *npv*、*ore* 二者 mRNA 表达水平均在摄食后 15 h 达到最高, 随后显著下降。胃内容物残余百分比与胃排空时间、*npv* mRNA 的表达呈显著负相关, *npv* mRNA 的表达水平与胃排空时间呈显著正相关。研究结果将有助于明确黄条鲮最佳摄食间隔, 为工厂化养殖模式下黄条鲮投喂提供理论依据。

关键词: 黄条鲮; 摄食调控基因; 消化酶; 胃排空; 数学模型

中图分类号: Q 785; S 917.4

文献标志码: A

鱼类的胃排空率 (gastric evacuation rate, GER) 是指摄食后食物从胃排至肠道的速率, 它同摄食频率、消化率及食欲密切相关, 是制定和优化鱼类摄食投喂策略的重要考量参数^[1]。胃排空率的快慢决定了胃肠道排空的时间, 影响胃内容物在肠道消化与吸收过程, 对鱼类的摄食量、食物的

消化率和生理代谢水平有显著调控作用, 因此, 胃排空率常用来评估鱼类消化功能和饵料的可消化性^[2-3]。鱼类胃排空率受种属、温度、生活习性、摄食水平、饥饿时间以及饲料组成等因素的影响, 但由外源性因素导致的机体生理状态的变化, 影响胃排空的内在调控机制尚不清楚^[4-5]。鱼类胃排

收稿日期: 2020-09-13 修回日期: 2021-03-19

资助项目: 山东省重大科技创新工程项目 (2018SDKJ0303-4); 科技部重点研发项目 (2019YFD0900904); 中国水产科学研究院创新团队项目 (2020TD51)

第一作者: 李明月 (照片), 从事鱼类繁育与养殖研究, E-mail: limingyue9868@163.com

通信作者: 贾玉东, 从事鱼类繁育与健康养殖研究, E-mail: jiazyd@ysfri.ac.cn



空过程与摄食消化密切相关, 解析二者之间的关系可以了解其食欲的恢复状况, 进而提高摄食率和饲料利用率^[6-7]。

鱼类摄食消化是一个复杂的动态生理过程, 各种消化酶以及摄食调控因子参与其中。动物体内消化酶主要是由消化腺和消化系统分泌的营消化作用的酶类, 具有酶的所有特征, 依据其消化对象的不同, 消化酶可以大致划分为蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶、纤维素酶等几种。消化酶的活性反映了特定生境条件下摄食、生理状况和营养状态, 其活性的高低直接影响了鱼类对营养物质的吸收利用程度, 决定鱼类胃排空类型^[8-9]。影响鱼类消化酶活性的因素有多种, 包括食性、消化器官、生长发育阶段的差异等, 同时外界环境因子, 如温度、pH、盐度及饲料投喂频率等均能引起鱼类消化酶活性的改变。鱼类的摄食受下丘脑和垂体分泌的多种神经肽的调控, 其中下丘脑分泌的神经肽 Y (neuropeptide Y, npy)、食欲素 (orexin, ore) 显著影响食物摄入, 对食欲恢复有重要的调节作用。大量研究已经证实二者对鱼类摄食起正向调控作用, 主要促进食欲恢复, 在金鱼 (*Carassius auratus*)^[10]、草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[11]、乌鳢 (*Channa argus*)^[12] 中已经被证实 npy 基因参与摄食调控过程, 在金鱼体内注射 ore 可明显促进摄食^[13], 在南方鲇 (*Silurus meridionalis*) 体内发现 ore 参与摄食调控^[14]。且研究表明金鱼体内 ore 与 npy 之间存在共协同作用^[15]。因此, 查明鱼类胃排空过程中消化酶活性和摄食调控相关基因的表达变化规律, 对提高养殖鱼类摄食投喂效率具有重要的意义。

黄条鲮 (*Seriola aureovittata*) 隶属于鲈形目 (Perciformes) 鲈科 (Carangidae) 鲮属 (*Seriola*), 又名

黄尾鲮、蓝背鲮、长背鲮, 渔民俗称黄犍牛、黄犍子, 最适生长温度 18~24 °C, 是一种在中上层分布的周期洄游性大洋鱼类^[16-18]。其体稍侧扁, 呈纺锤形, 自吻端经眼径到尾柄处有一明显黄色纵带, 具有生长快、体型大、肉质鲜美、营养丰富等特点, 深受国内外消费者喜爱。黄条鲮国内外养殖研究现状和国内养殖实践证明, 其非常适宜于在开放海域通过深水抗风浪网箱和大型管桩式围网进行养殖, 是前景广阔的深远海优良养殖鱼种^[19-20]。黄条鲮属掠食性食肉鱼类, 其消化生理过程复杂, 特别是幼鱼生长发育阶段, 生理代谢旺盛, 作为一种快速游泳鱼类, 对能量和营养物质需求同其他肉食性养殖鱼类显著不同。基于此, 本实验以内容物法, 研究工厂化养殖条件下黄条鲮幼鱼阶段胃排空率, 将实验结果与数学模型进行拟合, 得出黄条鲮胃排空的最佳模型, 同时分析摄食后消化酶活性变化, 以及摄食调控相关基因表达规律, 探讨黄条鲮胃排空与消化酶、摄食调控相关基因表达变化之间的关系, 相关结果将有助于明确黄条鲮最佳摄食间隔, 为进一步研究其摄食规律提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验用鱼由莱州明波水产有限公司提供, 共 240 尾, 体质量为 (63.96±5.63) g, 体长为 (14.79±1.54) cm。暂养于工厂化循环水方形水槽中 (3 m×1 m×0.5 m) 驯养 1 周, 使其适应养殖环境。养殖水温为 (18.5±0.5) °C, pH 为 8.0±0.2, 溶解氧含量大于 9 mg/L, 盐度为 29, 总氨氮为 0.1~0.2 mg/L。每天饱食投喂颗粒饲料 2 次, 饲料组成: 粗蛋白≥

表 1 黄条鲮 npy 和 ore 基因 qPCR 引物

Tab. 1 Primers used for *S. aureovittata* npy and ore gene qPCR

| 目的基因 target gene | NCBI 登录号 NCBI number | 引物序列 (5'-3') sequence (5'-3') | 扩增长度/bp length |
|---------------------|-------------------------|----------------------------------|-------------------|
| npv-F | DQ294213.1 | AAGAGGTCCAGCCTGAGATTCTG | 82 |
| npv-R | | TTGACTGTGGAAGTGTGTCTGTGC | |
| ore-F | HM992945.1 | GGTGTCTGCTTGTATGCTGCTG | 97 |
| ore-R | | ATAGAGGCGACAGGAGCGAGATG | |
| EF1 α -F | HQ441076.1 | CAGCAAGAACGCCACCCAAG | 121 |
| EF1 α -R | | AATGTGAGCGGTGTGGCAATCC | |

注: npy. 神经肽 Y; ore. 食欲素
Notes: npy. neuropeptide Y; ore. orexin

48.0%、粗脂肪 \geq 9.0%、粗纤维 \leq 2.0%、粗灰分 \leq 17.0%、钙 \leq 4.0%、赖氨酸 \geq 2.5%。

1.2 实验设计与取样

预实验研究发现,实验用鱼在约 20 h 时胃肠道内容物完全排空。根据取样时间对应设置 8 个养殖水槽,每个水槽 30 尾鱼。摄食后 0 h 为对照组,3、6、9、12、15、18、24 h 为实验组。实验前禁食 24 h,保证其消化道内食物彻底排空,随后用颗粒饲料进行一次性饱食投喂,实验鱼充分摄食后清除残饵。分别在摄食后 0、3、6、9、12、15、18 和 24 h,从每个养殖水槽中随机取 10 尾鱼,MS-222 (100 mg/L) 完全麻醉后,测量体质量、全长和体长。解剖取出黄条鲮胃组织,用滤纸吸干表面水分后称重,随后取出胃内容物,用蒸馏水冲洗胃 3 次,滤纸吸干胃表面水分后再称重,两次所得差值即为胃内饲料的质量(湿重),每次所得胃内容物质量的平均值作为该取样时间胃内容物的质量^[21]。胃内容物残余百分比由下列公式计算:

$$P(\%) = W_0/W_1 \times 100\%$$

式中, P 表示任一取样时间胃内容物质量占总摄食量的百分比, W_0 表示在任一取样时间胃内容物的质量, W_1 表示实验鱼饱食状态下的总摄食量。

黄条鲮的肝脏和肠组织于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存,转移至实验室检测淀粉酶、脂肪酶和糜蛋白酶活性。取垂体保存于液氮中,转移至实验室 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存,用于分析 *npv* 和 *ore* 的 mRNA 表达水平。

1.3 胃排空模型的建立

用线性、立方和平方根模型分别拟合黄条鲮胃排空率实验数据^[21-22]。

$$\text{线性模型: } Y=A-Bt$$

$$\text{平方根模型: } Y^{0.5}=A-Bt$$

$$\text{立方模型: } Y=A+Ct+Dt^2+Et^3$$

式中, Y 为胃内容物的质量(湿重), A 、 C 、 D 、 E 为常数, B 为瞬时排空率(g/h), t 为摄食后的时间

(h)。通过比较各拟合模型的相关系数(R^2)、残差平方和(RSS)、残差标准差(SDR)来选择黄条鲮的最佳排空模型。

1.4 消化酶活性测定

肝脏和肠道中总蛋白定量(BSA)、淀粉酶、脂肪酶和糜蛋白酶的测定均使用南京建成生物工程研究所试剂盒检测。采用全自动生化分析仪在 562、660、580 和 660 nm 的波长下测定总蛋白浓度、淀粉酶、脂肪酶和糜蛋白酶的活性。

1.5 *npv* 和 *ore* 基因的表达分析

采用 qPCR 技术研究 *npv* 和 *ore* 在摄食胃排空过程中黄条鲮幼鱼垂体中 mRNA 的表达变化。使用 Trizol Reagent 提取摄食后 0、3、6、9、12、15、18 和 24 h 时的垂体 RNA,按照 PrimeScript™ RT 试剂盒(TaKaRa)说明书反转录合成 qPCR 体系所需 cDNA。用非特异性荧光标记 SYBR Green 进行相对荧光定量 PCR 检测。使用 TaKaRa™ TB Green Premix Ex Taq™ II 试剂盒,反应体系 20 μL 、ROX II 0.4 μL 、上游引物 0.4 mmol/L、下游引物 0.8 mmol/L、TB Green 10 μL 、H₂O 6 μL 。反应条件:95 $^\circ\text{C}$ 30 s, 95 $^\circ\text{C}$ 5 s, 60 $^\circ\text{C}$ 30 s, 40 个循环;65~95 $^\circ\text{C}$ 10 s。经过 geNorm 和 NormFinder 软件分析,EF1 α 因具有较高的稳定性而作为内参基因,引物信息如表 1 所示。

1.6 数据分析

所有实验数据采用 SPSS 18.0 软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),当差异达到显著水平(P),进行 Duncan 氏多重比较。数据用平均值 \pm 标准差(mean \pm SD)表示, $P<0.05$ 为差异显著。三种数学模型的参数 A、B、C、D、E 均由 Graph-Pad Prism 7.0 统计软件进行曲线拟合得到。采用 SPSS 18.0 软件进行 Pearson 相关性分析。

表 2 黄条鲮幼鱼胃排空曲线的 3 种数学模型拟合

Tab. 2 Imitation with 3 types of mathematical models for gastric evacuation of juvenile *S. aureovittata*

| 数学模型 model | 公式 equation | R^2 | RSS | SDR |
|-------------------------|-------------------------------------|-------|----------|-------|
| 线性模型 linear model | $Y=95.910-4.624t$ | 0.937 | 8302.324 | 9.713 |
| 平方根模型 square root model | $Y=101.100-6.867t+0.093t^2$ | 0.955 | 5970.140 | 8.283 |
| 立方模型 cubic model | $Y=96.310-1.517t-0.498t^2+0.016t^3$ | 0.978 | 2876.097 | 5.783 |

注:RSS为残差平方和,SDR为残差的标准差
Notes: RSS. residual sum of squares, SDR. standard difference residual

2 结果

2.1 黄条鲷的胃排空特征

黄条鲷在饱食后, 其胃内容物随时间的变化呈逐渐下降的趋势, 瞬时胃内容物湿重呈阶段性降低, 最后达到0。在摄食后3 h内, 胃内容物百分比迅速降低, 由100%降至80%, 差异显著 ($P < 0.05$), 摄食后3~6 h趋于平缓, 无显著差异; 摄食后6~18 h胃内容物百分比显著降低 ($P < 0.05$); 摄食后18 h, 胃内容物基本排空 (图1), 属于典型的直线下降型胃排空类型。

2.2 黄条鲷最佳胃排空模型

用线性、平方根和立方这3种数学模型拟合黄条鲷的胃排空实验数据 (表2), 分析模型的相关系数 R^2 和显著性检验 P 值, 发现3种数学模型均

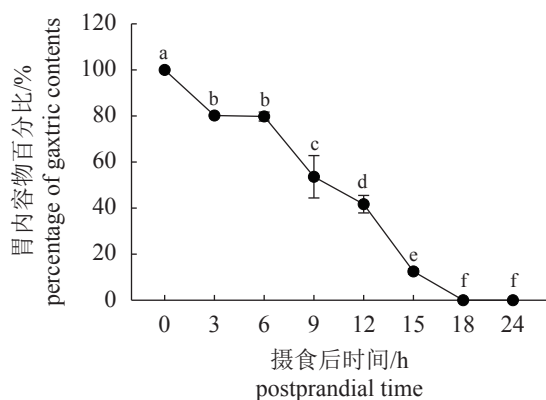


图1 黄条鲷幼鱼胃排空变化

不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Fig. 1 Changes of gastric evacuation of juvenile *S. aureovittata*

Different letters indicates significant difference ($P < 0.05$)

表3 黄条鲷幼鱼胃内容物残余百分比与垂体内 mRNA 表达、胃排空时间相关性分析

Tab. 3 Correlation among residual percentage of gastric contents, mRNA expression in hypophysis and gastric evacuation time of juvenile *S. aureovittata*

| | 胃内容物残余百分比 residual percentage of gastric contents | <i>npv</i> mRNA 表达量 expression of <i>npv</i> mRNA | <i>ore</i> mRNA 表达量 expression of <i>ore</i> mRNA | 胃排空时间 gastric evacuation time |
|--|---|---|---|-------------------------------------|
| 胃内容物残余百分比 residual percentage of gastric contents | 1 | -0.681** | -0.290 | -0.979** |
| <i>npv</i> mRNA 表达量 expression of <i>npv</i> mRNA | | 1 | 0.449 | 0.628** |
| <i>ore</i> mRNA 表达量 expression of <i>ore</i> mRNA | | | 1 | 0.225 |
| 胃排空时间 gastric evacuation time | | | | 1 |

注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

Notes: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

能很好地拟合实验数据。从相关系数 R^2 来看, 立方模型 > 平方根模型 > 线性模型; 而 RSS 以及 SDR 来看, 结果为立方模型 < 平方根模型 < 线性模型 (图2)。综合考虑最优模型为立方模型, 按照立方模型, 黄条鲷胃内饲料约在饱食投喂后19 h完全排空, 80%胃排空时间约为14.5 h。

2.3 黄条鲷消化酶活性

在黄条鲷幼鱼摄食后24 h内, 肝脏中各消化酶活性整体呈现“M”型变化趋势。肝脏中淀粉酶活性在6 h内呈显著上升趋势 ($P < 0.05$), 6~12 h淀粉酶活性显著下降 ($P < 0.05$), 随后上升至18 h达到最大值后又下降 (图3-a)。肝脏中糜蛋白酶和脂肪酶活性均在9 h前呈显著上升趋势 ($P < 0.05$), 9~15 h显著下降, 15~18 h上升到最大值后逐渐下降 (图3-b, c)。肠道中各消化酶活性整体呈上升后下降的变化趋势。黄条鲷肠道中淀粉酶活性在摄食6 h之内呈显著上升趋势 ($P < 0.05$), 在6~9 h显著下降后至12 h上升到最大值 ($P < 0.05$), 12~24 h呈显著下降趋势 ($P < 0.05$) (图4-a)。肠道中脂肪酶活性在摄食后12 h内呈显著上升趋势 ($P < 0.05$) 且在12 h达到最大值; 在12~24 h呈显著下降趋势 ($P < 0.05$) (图4-b)。肠道中糜蛋白酶活性在摄食后12 h呈显著上升趋势 ($P < 0.05$), 并在12 h达到最大值, 在12~24 h显著下降 ($P < 0.05$) (图4-c)。

2.4 黄条鲷 *npv* 和 *ore* 的 mRNA 在垂体内的表达分析

qPCR 结果显示, *npv* mRNA 表达水平总体呈先上升后下降趋势, 在摄食后12~15 h内表达水平显著上升 ($P < 0.05$), 15 h时表达水平最高, 随后15~24 h mRNA 表达水平显著下降 ($P < 0.05$; 图5-a)。

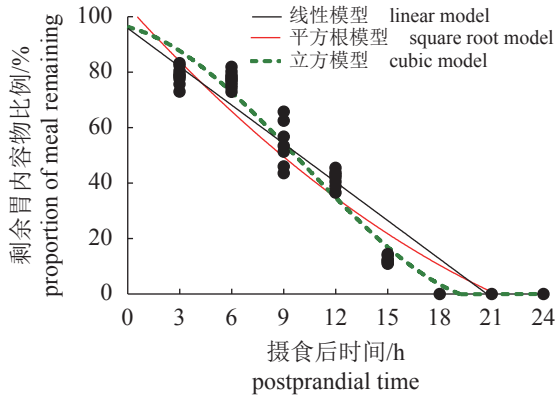


图2 黄条鲷幼鱼胃排空曲线的三种数学模型拟合
 Fig. 2 Mathematical models for gastric evacuation in juvenile *S. aureovittata*

ore mRNA 表达水平也呈现类似的表达变化趋势, 在摄食后 9~15 h 内表达水平显著上升 ($P<0.05$), 15 h 时表达水平最高, 随后 15~24 h mRNA 表达水平显著下降 ($P<0.05$) (图 5-b)。

2.5 相关性分析

利用 Pearson 相关性分析黄条鲷瞬时胃内容物残余百分比、*npv* 和 *ore* 的 mRNA 表达量以及胃排空时间的相关性 (表 3)。黄条鲷幼鱼胃内容物残余百分比与胃排空时间和 *npv* mRNA 的表达呈显著负相关 ($P<0.05$), *npv* mRNA 的表达水平与胃排空时间呈显著正相关 ($P<0.05$)。

3 讨论

鱼类种属多样, 食性及消化道结构不同, 同时受摄食饲料组成和生理状态影响, 导致其胃排空方式复杂多样。鱼类主要存在 3 种典型的胃排空方式, 分别为先快后慢型、先慢后快再慢型、直线下降型。先快后慢型也被称为固有的、内在的排空方式, 如瓦氏黄颡鱼 (*Pelteobagrus vachelli*)^[23] 和尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)^[24]; 南方鲇^[25] 和日本黄姑鱼 (*Nibea japonica*)^[26] 为先慢后

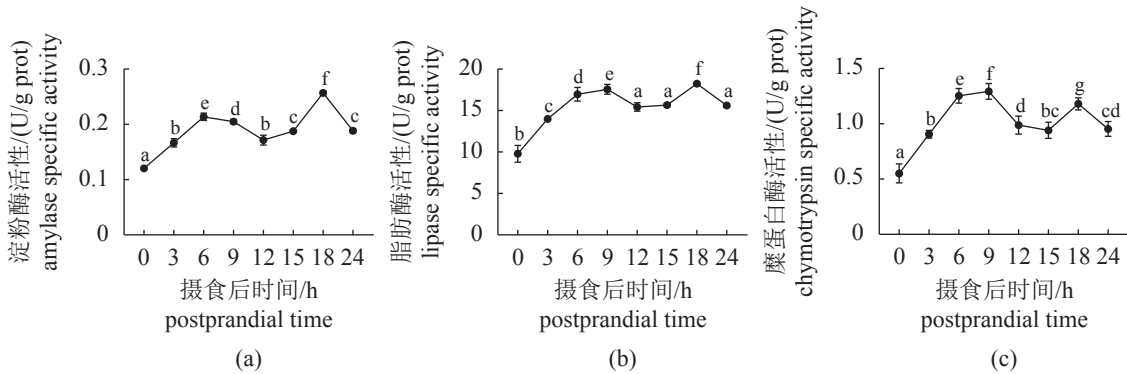


图3 黄条鲷幼鱼摄食 24 h 内肝脏中消化酶变化

不同字母表示组间差异显著 ($P<0.05$), 下同

Fig. 3 Changes of digestive enzymes in the liver of juvenile *S. aureovittata* during 24 hours after feeding

Different letters indicate significant differences ($P<0.05$), the same below

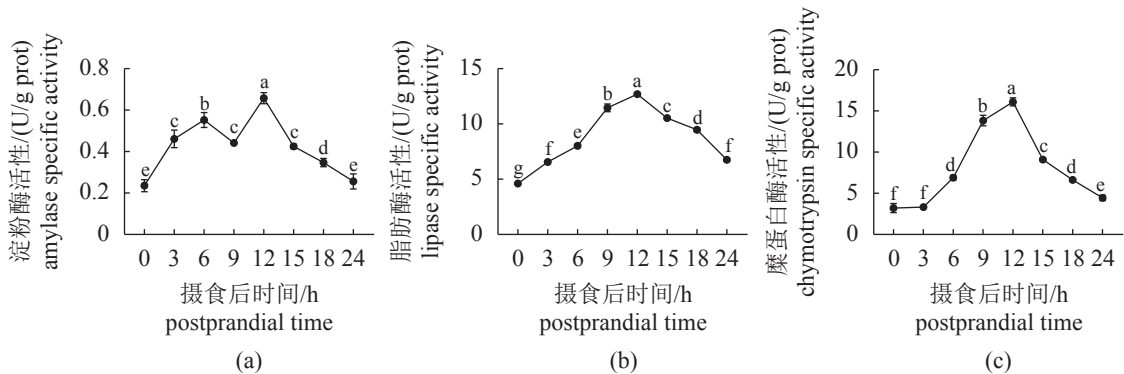


图4 黄条鲷幼鱼摄食后 24 h 内肠道中消化酶活性变化

Fig. 4 Changes of digestive enzymes in the intestines of juvenile *S. aureovittata* during 24 hours after feeding

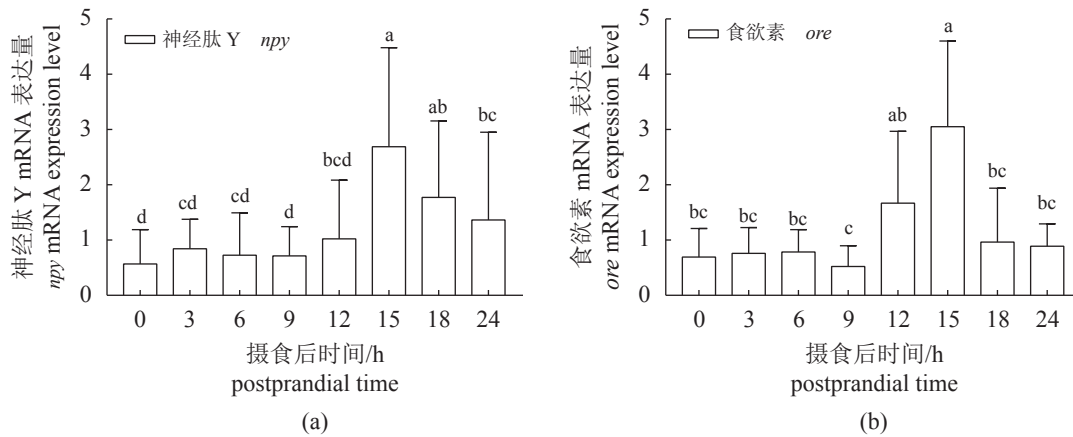


图5 黄条鲷幼鱼摄食后24 h内垂体内mRNA表达变化

Fig. 5 Changes of mRNA expression in the juvenile *S. aureovittata* hypophysis during 24 hours after feeding

快再慢的胃排空方式; 黑鯛 (*Acanthopagrus schlegelii*)^[1] 和美国红鱼 (*Sciaenops ocellatus*)^[27] 等大型肉食性鱼类均为直线下下降型方式。一般认为, 胃内残留物为零或胃内容物完全排空时为鱼类食欲完全恢复适宜指标, 即食欲恢复的极限, 胃内容物达到 80% 的排空, 食欲基本得到恢复^[24]。此外, 鱼类胃排空的时间和鱼体规格、水体温度密切相关, 研究表明小规格的鱼消化速率更快, 胃排空时间更短^[28-29]。黄铭等^[30]研究了两种规格虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 的胃排空模型, 结果发现规格越小其消化能力越强。这表明鱼类的代谢速率和鱼体规格密切相关, 规格越小, 其代谢速率和生长速率越快, 胃排空速率越快, 因此小规格鱼的胃排空时间更短^[31]。同时, 鱼类胃排空速率也受水体温度影响, 在适宜温度下, 鱼类胃排空率随温度上升而增大。孙耀等^[29]研究了不同温度下鳊 (*Engraulis japonicus*) 的胃排空率, 发现其随温度的上升呈指数上升趋势。由此可见, 鱼类的胃排空受鱼体规格和水体温度影响。黄条鲷为掠食性食肉鱼类, 胃内含量较大, 在本实验中发现黄条鲷幼鱼胃排空大致呈现为直线下下降型的排空类型, 在约 14.5 h 后黄条鲷 80% 胃内容物已排空, 食欲基本恢复, 在 18 h 时胃内容物完全排空, 食欲完全恢复。

鱼类的胃排空方式复杂, 因此不同鱼类胃排空数学模型不尽相同, 目前国内外研究中最常用的数学模型有线性模型、指数模型和平方根模型。鱼类受自身及环境条件的影响, 在最佳胃排空率模型的选择上存在着较大的争议^[5], 因此通过构建胃排空模型来深入研究鱼类摄食排空生理响应机制, 尚需要进一步完善相关参数。Jobling^[32]研

究了食物体积和营养成分这两个影响胃排空最重要的因素, 认为指数模型比较适合于描述颗粒较小、容易消化的低能量食物的胃排空类型, 而线性模型比较适用于描述高能量和颗粒大的食物。Hopkins 等^[33]分别用湿重、干重和体积表示胃内容物量, 得到不同的胃排空模型。本实验通过对比拟合模型的相关系数 (R^2)、残差平方和 (RSS) 及残差的标准差 (SDR), 综合比较, 同时结合黄条鲷实际胃排空过程, 结果表明黄条鲷胃排空最适模型为立方模型, 其次为平方根模型, 最后为线性模型。

消化酶在摄食消化过程中扮演重要角色, 鱼类的消化酶主要有蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶等几种, 其活性随种类、生长阶段和健康状况的不同而有差异, 同时受水温、盐度、pH、无机离子及饲料营养等因素的影响^[34-37]。肠道是水产动物主要的消化吸收部位, 硬骨鱼类的肝脏和胰脏大多是混在一起的, 并且肝胰脏是水产动物最主要的消化腺, 肝脏和肠道中的消化酶参与鱼类摄食后营养物质消化吸收, 其活性呈一定规律性变化, 本实验中也发现黄条鲷摄食后消化过程中肝脏和肠道中的消化酶随时间推移, 呈规律性变化。肝胰脏是淀粉酶生成的中心器官, 它分泌机能的强弱直接影响鱼类对食物中淀粉的消化能力, 而有些鱼类如昆明裂腹鱼 (*Racoma grahami*) 的肠道中也可以产生淀粉酶, 且肠道中淀粉酶活性显著高于消化道其他部位^[38], 本实验发现黄条鲷幼鱼肠道中淀粉酶活性显著高于肝脏中的淀粉酶活性。淀粉酶广泛存在于鱼类各种消化器官中, 其不同部位相对活性的大小因鱼种类、大小及消化器官的不同而有所差异。脂肪酶在海水鱼类仔稚鱼

早期发育过程中占据了重要的地位,但目前对不同鱼种的脂肪酶活性的研究结果存在种属差异。对黄鳝的研究发现,其脂肪酶广泛分布于胃、幽门盲囊、肝脏和肠道等消化器官中,其中肠道是其消化脂肪的主要场所^[39]。本实验中黄条鲮幼鱼肝脏和肠道中脂肪酶活性相差不大,这可能是鱼的种类和规格不同而产生的差异。蛋白酶在肠致活酶的作用下被激活,促进肠道对食物蛋白质的消化吸收, Das^[40]对硬骨鱼类鲤(*Cyprinus carpio*)、黑鲈(*Micropterus salmoides*)的肝胰脏的研究表明,肠液能增强胰蛋白酶的作用,认为胰脏主要分泌蛋白酶原。而 Fish^[41]发现,莫桑比克罗非鱼(*Tilapia mossambica*)的肝胰脏蛋白酶的活性比肠中的高。在鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)^[33]和银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[42]相关研究中证实,鱼类肠道中蛋白酶活性要显著高于肝脏,由此可知,不同鱼类其分泌蛋白酶的部位和形式不同。胰凝乳蛋白酶与同样存在于胰脏中的胰蛋白酶虽然在结构和催化机制方面非常相似^[43],但是与哺乳动物相比,鱼类糜蛋白酶具有较高的催化活性^[44]。在本研究中,测定了糜蛋白酶的活性,黄条鲮幼鱼肠道中的糜蛋白酶活性也高于肝脏中。以上结果表明,蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶通过不同表达变化规律,参与黄条鲮摄食后营养物质消化吸收,同胃排空过程密切相关。

npv 是一类下丘脑或外周内分泌器官产生的,具有内分泌功能或神经递质作用的小分子短肽。对哺乳动物的研究表明,npv 在促进摄食、影响激素分泌、调节生物节律以及调控免疫等多项生理活动方面具有一定的作用。对鱼类的研究已证实,npv 广泛参与调控摄食、生长发育和繁殖等生理过程^[45]。Narnaware 等^[10]在金鱼中发现神经肽 Y 具有促进摄食作用。方龙等^[11]通过研究草鱼禁食后血糖含量以及 npv 基因 mRNA 水平变化,发现 npv 基因参与草鱼的摄食调控。文正勇^[12]发现 npv 基因对乌鳢的摄食调控起重要作用。ore 通称为增食欲素,又称作开胃素、增食因子或食欲肽,ore 作为下丘脑神经肽家族中的重要成员,在鱼类神经内分泌调控中起着重要的作用,它与其他调控因子间的相互作用,更使得鱼类下丘脑能够及时感知鱼体能量存储状态,并且相应调节鱼体摄食机能及能量的动态平衡。Volkof 等^[15]研究表明,在金鱼体内注射 ore 可以促进动物的摄食,从而增加觅食行为和运动。斑马鱼(*Danio rerio*)

通过禁食可以诱导 ore mRNA 表达水平显著上升^[46]。且在金鱼中,npv 与 ore 二者之间存在共协同效应,注射 ore 后可以相应促进下丘脑 npv 基因的表达^[13]。本实验发现黄条鲮幼鱼在胃排空过程中,垂体 npv 和 ore mRNA 表达水平都在 15 h 达到最高,同时此时胃内容物排空已超过 80%,肠道消化酶活性也呈现下降趋势,这表明此时黄条鲮食欲恢复,高表达的 npv 和 ore 通过神经中枢发出促食信号,启动摄食进程。相关性分析的结果表明,胃内容物残余百分比与胃排空时间、npv mRNA 的表达呈显著负相关($P < 0.05$),npv mRNA 的表达水平与胃排空时间呈显著正相关($P < 0.05$),即随着时间延长与 npv mRNA 表达量的增加,黄条鲮幼鱼胃内容物含量逐渐减少。同时,胃排空时间的延长促进了 npv mRNA 的表达,从而促进摄食。

综上,在养殖水温为 $(18.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, pH 为 8.0 ± 0.2 ,溶解氧含量大于 9 mg/L ,投喂商品化颗粒饲料的条件下,黄条鲮幼鱼摄食后胃排空类型为典型直线下降型,立方模型为胃排空最佳模型,肝脏和肠道中各消化酶活性、摄食调控相关基因表达,在胃排空过程中呈显著规律性变化,共同参与了食物消化过程,上述结果表明其最佳摄食投喂间隔为 14.5 h (80% 胃排空,食欲基本恢复)。鱼类胃排空受到温度、溶解氧、氨氮等环境条件影响,在不同的养殖环境和管理模式下,不同规格黄条鲮的胃排空率仍需进一步研究,以探明影响食欲和胃排空率的机制,进一步优化黄条鲮的摄食投喂策略。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 张波,孙耀,唐启升.黑鲟的胃排空率[J].应用生态学报,2000,11(2):287-289.
Zhang B, Sun Y, Tang Q S. Gastric evacuation rate of black sea bream (*Sparus macrocephalus*)[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2000, 11(2): 287-289 (in Chinese).
- [2] Sweka J S, Cox M K, Hartman K J. Gastric evacuation rates of brook trout[J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 2004, 133(1): 204-210.
- [3] Khan U, Seyhan K, Başçınar N, et al. Satiation meal and the effects of meal and body sizes on gastric evacuation rate in brook trout *Salvelinus fontinalis* fed commercial

- pellets[J]. *Journal of Fish Biology*, 2016, 89(2): 1227-1238.
- [4] Flowerdew M W, Grove D J. Some observations of the effects of body weight, temperature, meal size and quality on gastric emptying time in the turbot, *Scophthalmus maximus* (L.) using radiography[J]. *Journal of Fish Biology*, 1979, 14(3): 229-238.
- [5] 张波, 孙耀, 唐启升. 鱼类的胃排空率及其影响因素[J]. *生态学报*, 2001, 21(4): 665-670.
- Zhang B, Sun Y, Tang Q S. Gastric evacuation rate of fish and its influence factors[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(4): 665-670 (in Chinese).
- [6] Lee S M, Hwang U G, Cho S H. Effects of feeding frequency and dietary moisture content on growth, body composition and gastric evacuation of juvenile Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*)[J]. *Aquaculture*, 2000, 187(3-4): 399-409.
- [7] Riche M, Haley D I, Oetker M, et al. Effect of feeding frequency on gastric evacuation and the return of appetite in tilapia *Oreochromis niloticus* (L.)[J]. *Aquaculture*, 2004, 234(1-4): 657-673.
- [8] Fountoulaki E, Alexis M N, Nengas I, et al. Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.)[J]. *Aquaculture Research*, 2005, 36(13): 1243-1251.
- [9] Fernández F, Miquel A G, Córdoba M, et al. Effects of diets with distinct protein-to-carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth performance, body composition and liver intermediary enzyme activities in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fingerlings[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2007, 343(1): 1-10.
- [10] Narnaware Y K, Peyon P P, Lin X W, et al. Regulation of food intake by neuropeptide Y in goldfish[J]. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2000, 279(3): R1025-R1034.
- [11] 方龙, 梁旭方, 何珊. 草鱼禁食后NPY与血糖变化及NPY重组表达[J]. *暨南大学学报(自然科学版)*, 2013, 34(5): 533-538.
- Fang L, Liang X F, He S. The variation of NPY and blood glucose after fasting and recombinant expression of NPY in grass carp[J]. *Journal of Jinan University (Natural Science Edition)*, 2013, 34(5): 533-538 (in Chinese).
- [12] 文正勇, 覃川杰, 邹远超, 等. 乌鳢神经肽 Y 基因的克隆、组织表达及功能研究 [C]//2017 年中国水产学会学术年会论文摘要集. 南昌: 中国水产学会, 2017.
- Wen Z Y, Qin C J, Zou Y C, et al. Molecular cloning, tissue expression and functional identification of neuropeptide Y gene in *Channa argus*[C]//Abstracts of Papers of the 2017 Annual Conference of Chinese Society of Fisheries. Nanchang: Chinese Society of Fisheries, 2017 (in Chinese).
- [13] Volkoff H, Bjorklund J M, Peter R E. Stimulation of feeding behavior and food consumption in the goldfish, *Carassius auratus*, by orexin-A and orexin-B[J]. *Brain Research*, 1999, 846(2): 204-209.
- [14] 杨雁. 南方鲇 (*Silurus meridionalis*) 神经肽 Y(NPY) 基因 cDNA 克隆及 mRNA 表达研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- Yang Y. Molecular Cloning and mRNA Expression of NPY in Southern Catfish (*Silurus meridionalis*)[D]. Chongqing: Southwest University, 2013 (in Chinese).
- [15] Volkoff H, Peter R E. Interactions between orexin A, NPY and galanin in the control of food intake of the goldfish, *Carassius auratus*[J]. *Regulatory Peptides*, 2001, 101(1-3): 59-72.
- [16] 成庆泰, 郑葆珊. 中国鱼类系统检索 [M]. 北京: 科学出版社, 1987: 47-50.
- Cheng Q T, Zheng B S. Systematic synopsis of Chinese fishes[M]. Beijing: Science Press, 1987: 47-50 (in Chinese).
- [17] 刘永山, 柳学周, 史宝, 等. 黄条鲮染色体多种显带的形态特征分析[J]. *水产学报*, 2018, 42(9): 1338-1347.
- Liu Y S, Liu X Z, Shi B, et al. Analysis of the banding patterns of *Seriola aureovittata*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(9): 1338-1347 (in Chinese).
- [18] Yang S G, Hur S W, Ji S C, et al. Morphological development of embryo, larvae and juvenile in yellowtail kingfish, *Seriola lalandi*[J]. *Development & Reproduction*, 2016, 20(2): 131-140.
- [19] Gillanders B M, Joyce T C. Distinguishing aquaculture and wild yellowtail kingfish via natural elemental signatures in otoliths[J]. *Marine and Freshwater Research*, 2005, 56(5): 693-704.
- [20] 李荣, 徐永江, 柳学周, 等. 黄条鲮(*Seriola aureovittata*) 形态度量与内部结构特征[J]. *渔业科学进展*, 2017, 38(1): 142-149.

- Li R, Xu Y J, Liu X Z, *et al.* Morphometric analysis and internal anatomy of yellowtail kingfish (*Seriola aureovittata*)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(1): 142-149 (in Chinese).
- [21] 张涛, 李伟杰, 庄平, 等. 俄罗斯鲟幼鱼的胃排空特征及其数学模型[J]. *海洋渔业*, 2015, 37(2): 151-155.
Zhang T, Li W J, Zhuang P, *et al.* Analysis of gastric evacuation characteristics and associated mathematical models in juvenile *Acipenser gueldenstaedtii*[J]. *Marine Fisheries*, 2015, 37(2): 151-155 (in Chinese).
- [22] Cortés E. A critical review of methods of studying fish feeding based on analysis of stomach contents: application to elasmobranch fishes[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1997, 54(3): 726-738.
- [23] 覃志彪, 赵海祥, 赵华林, 等. 投饲频率对瓦氏黄颡鱼 (*Pelteobagrus vachelli*) 幼鱼胃排空、生长效益及体组成影响[J]. *海洋与湖沼*, 2011, 42(4): 506-511.
Qin Z B, Zhao H X, Zhao H L, *et al.* Effects of feeding frequency on gastric evacuation, growth performance and body composition of juvenile darkbarbel catfish (*Pelteobagrus vachelli richardson*)[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2011, 42(4): 506-511 (in Chinese).
- [24] 孙晓峰, 冯建, 陈江虹, 等. 投喂频率对尼罗系吉富罗非鱼幼鱼胃排空、生长性能和体组成的影响[J]. *水产学报*, 2011, 35(11): 1677-1683.
Sun X F, Feng J, Chen J H, *et al.* Effects of feeding frequency on gastric evacuation, growth benefit and body composition of juvenile genetic improved farmed tilapia strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(11): 1677-1683 (in Chinese).
- [25] 曾令清, 李凤杰, 曹振东, 等. 南方鲇幼鱼的胃排空特征及其数学模型[J]. *水产学报*, 2011, 35(2): 231-237.
Zeng L Q, Li F J, Cao Z D, *et al.* The analysis of gastric evacuation characteristics and associated mathematical models in juvenile southern catfish (*Silurus meridionalis*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(2): 231-237 (in Chinese).
- [26] 朱云海, 王跃斌, 胡则辉, 等. 日本黄姑鱼幼鱼的胃排空率[J]. *海洋渔业*, 2013, 35(4): 448-452.
Zhu Y H, Wang Y B, Hu Z H, *et al.* Gastric evacuation of juvenile *Nibea japonica*[J]. *Marine Fisheries*, 2013, 35(4): 448-452 (in Chinese).
- [27] 余方平, 许文军, 薛利建, 等. 美国红鱼的胃排空率[J]. <https://www.china-fishery.cn>
- 海洋渔业*, 2007, 29(1): 49-52.
Yu F P, Xu W J, Xue L J, *et al.* The gastric evacuation rate of *Sciaenops ocellatus*[J]. *Marine Fisheries*, 2007, 29(1): 49-52 (in Chinese).
- [28] Grove D J, Crawford C. Correlation between digestion rate and feeding frequency in the stomachless teleost, *Blennius pholis* L.[J]. *Journal of Fish Biology*, 1980, 16(3): 235-247.
- [29] 孙耀, 刘勇, 于淼, 等. 东、黄海鳀鱼的胃排空率及其温度影响[J]. *生态学报*, 2005, 25(2): 215-219.
Sun Y, Liu Y, Yu M, *et al.* Effect of temperature on the gastric evacuation rate of anchovy, *Engraulis japonicus*, in Yellow Sea and East Sea of China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(2): 215-219 (in Chinese).
- [30] 黄铭, 周演根, 陈薛伟杰, 等. 两种规格虹鳟胃排空模型和投喂频率的研究[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2005, 50(2): 33-39.
Huang M, Zhou Y G, Chen X W J, *et al.* Studies on gastric evacuation rate and feeding frequency of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in two sizes[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2005, 50(2): 33-39 (in Chinese).
- [31] Andersen N G. A gastric evacuation model for three predatory gadoids and implications of using pooled field data of stomach contents to estimate food rations[J]. *Journal of Fish Biology*, 2001, 59(5): 1198-1217.
- [32] Jobling M. Mathematical models of gastric emptying and the estimation of daily rates of food consumption for fish[J]. *Journal of Fish Biology*, 1981, 19(3): 245-257.
- [33] Hopkins T E, Larson R J. Gastric evacuation of three food types in the black and yellow rockfish *Sebastes chrysomelas* (Jordan and Gilbert)[J]. *Journal of Fish Biology*, 1990, 36(5): 673-681.
- [34] 任晓伟. 环境因子和营养水平对半滑舌鳎消化酶活性的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008.
Ren X W. Effects of Environmental and nutritional factors on the activities of digestive enzymes in juvenile tongue-sole *Cynoglossus semilaevis*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2008 (in Chinese).
- [35] 施永海, 张根玉, 张海明, 等. 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼生长、存活和消化酶、非特异性免疫酶、代谢酶及抗氧化酶活性的影响[J]. *水产学报*, 2014, 38(12): 2029-2038.
Shi Y H, Zhang G Y, Zhang H M, *et al.* Effects of com-

- pound feed and live feed on the growth, survival, and the activities of digestive enzyme, nonspecific immunity enzyme, metabolic enzyme, and antioxidant enzyme of young fish *Coilia nasus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(12): 2029-2038 (in Chinese).
- [36] 杨代勤, 严安生, 陈芳, 等. 不同饲料对黄鳍消化酶活性的影响[J]. *水产学报*, 2003, 27(6): 558-563.
Yang D Q, Yan A S, Chen F, *et al.* Effects of different diets on activities of digestive enzymes of *Monopterus albus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2003, 27(6): 558-563 (in Chinese).
- [37] 黄瑾, 熊邦喜, 陈洁, 等. 鱼类消化酶活性及其影响因素的研究进展[J]. *湖南农业科学*, 2011(5): 129-131,141.
Huang J, Xiong B X, Chen J, *et al.* Research advances in digestive enzyme of fish and its influencing factors[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2011(5): 129-131,141 (in Chinese).
- [38] 胡思玉, 白建梅, 葛传龙, 等. 昆明裂腹鱼淀粉酶活性研究[J]. *水产科学*, 2007, 26(4): 234-236.
Hu S Y, Bai J M, Ge C L, *et al.* Studies on Amylase Activities in *Schizothorax grahami*[J]. *Fisheries Science*, 2007, 26(4): 234-236 (in Chinese).
- [39] 伍莉, 陈鹏飞, 幸坤财, 等. 黄鳍肠道和肝胰脏主要消化酶活力的研究[J]. *湖北农学院学报*, 2002, 22(1): 36-39.
Wu L, Chen P F, Xing K C, *et al.* Studies on the activities of major intestine and hepatopancreas digestive enzymes in *Monopterus albus*[J]. *Journal of Hubei Agricultural College*, 2002, 22(1): 36-39 (in Chinese).
- [40] Das K. M., Tripathi S. D. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.) [J]. *Aquaculture*, 1991, 92: 21-32.
- [41] Fish G R. The comparative activity of some digestive enzymes in the alimentary canal of tilapia and perch[J]. *Hydrobiologia*, 1960, 15(1): 167-178.
- [42] Jany K D. Studies on the digestive enzymes of the stomachless bonefish *Carassius auratus gibelio* (bloch): endopeptidases[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry*, 1976, 53(1): 31-38.
- [43] 杨锋. 鲫鱼肝胰脏中胰蛋白酶和胰凝蛋白酶的分离纯化及性质研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2009.
Yang F. Purification and characterization of trypsin and chymotrypsins from hepatopancreas of crucian carp (*Carassius auratus*)[D]. Xiamen: JiMei University, 2009 (in Chinese).
- [44] Cohen T, Gertler A, Birk Y. Pancreatic proteolytic enzymes from carp(*Cyprinus carpio*)-I purification and physical properties of trypsin, chymotrypsin, elastase and carboxypeptidase B[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry*, 1981, 69(3): 639-646.
- [45] 庄泽锐. 石斑鱼神经肽 Y 的重组表达及生物活性研究 [D]. 深圳: 深圳大学, 2017.
Zhuang Z R. Recombination expression and biological activity of neuropeptide Y in grouper[D]. Shenzhen: Shenzhen University, 2017 (in Chinese).
- [46] Kaslin J, Nystedt J M, Ostergård M, *et al.* The orexin/hypocretin system in zebrafish is connected to the aminergic and cholinergic systems[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2004, 24(11): 2678-2689.

Gastric evacuation characteristics, digestive enzyme activity and appetite-related genes expression in juvenile yellowtail kingfish (*Seriola aureovittata*)

LI Mingyue^{1,2}, GAO Yunhong², WAN Jinming², JING Qiqi², GUAN Changtao^{2,3}, ZHANG Jiawei⁴,
LI Wensheng⁴, ZHAI Jieming⁴, WANG Qian¹, JIA Yudong^{2,3*}

(1. College of Fisheries, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

3. Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China;

4. Mingbo Aquatic Co., Ltd., Laizhou 261400, China)

Abstract: The juvenile yellowtail kingfish (*Seriola aureovittata*) has strong physiological metabolism and the energy during the growth and development stage, and thus its nutrient requirements are significantly different from those of other carnivorous farmed fish. To identify the digestion and gastric emptying characteristics of *S. aureovittata*, and determine the optimal feeding interval, in the present study, the changes of contents weight, digestive enzyme activity in liver and intestine and pituitary appetite-related genes expression were evaluated during gastric emptying of the juvenile *S. aureovittata* (63.96±5.63) g. The degree of fitting of the gastric emptying curve was analyzed using a linear model, square root model, and cubic root model. The results showed that the wet weight of the gastric contents gradually decreased after the feeding and reached 0 at 18 hours, which was a type of linear descending gastric emptying. Hepatic amylase, lipase and chymotrypsin activities increased first and then decreased, followed by a rise and then decreased the "M" type of change trend during gastric emptying. Amylase activity increased significantly from 0 to 6 h after feeding ($P<0.05$), and lipase and chymotrypsin activity increased significantly from 0 to 9 h ($P<0.05$). The activities of the three enzymes significantly decreased from 9 to 12 h ($P<0.05$), and then increased from 15 to 18 h ($P<0.05$), with the highest value observed at 18 h. Intestinal amylase activity showed the similar results like hepatic amylase, whereas increased at 12 h with the highest value, subsequently significantly decreased until 24 h. The intestinal lipase and chymotrypsin activity increased significantly from 0 to 12 h after feeding ($P<0.05$), the highest value observed at 12 h, and then gradually decreased. The expression of neuropeptide Y (*npv*) and orexin (*ore*) mRNA levels were increased from 12 to 15 h and from 9 to 15 h ($P<0.05$), respectively. The highest values of *npv* and *ore* mRNA was that at 15 h, and then significantly decreased until gastric emptying completed ($P<0.05$). The residual percentage of gastric contents was negatively correlated with gastric emptying time and the expression of *npv* mRNA ($P<0.05$), while *npv* mRNA was positively correlated with gastric emptying time ($P<0.05$). In conclusion, the digestive enzyme activity in the liver and intestine of juvenile *S. aureovittata* was decreased to the lowest from 12 to 15 h after feeding. The best model cube root model for fitting the gastric emptying test data of juvenile *S. aureovittata* showed 80% gastric emptying time (basic recovery of appetite) and 100% gastric emptying time (complete recovery of appetite) were approximately 14.5 and 19 h, respectively. Meanwhile, the mRNA levels of *npv* and *ore* in pituitary of juvenile *S. aureovittata* obtain the highest value at post-feeding 15 h. Therefore, the optimal interval for feeding is recommended to be fed 14.5 h based on the characteristics of gastric emptying, hepatic and intestinal digestive enzyme activities and pituitary appetite-related gene expression. The relevant results not only help to clarify the optimal feeding interval of *S. aureovittata*, but also provide theoretical basis and technical support for research on its feeding law.

Key words: *Seriola aureovittata*; appetite-related genes; digestive enzyme; gastric evacuation; mathematical model

Corresponding author: JIA Yudong. E-mail: jiyd@ysfri.ac.cn

Funding projects: Shandong Major Science and Technology Innovation Projects (2018SDKJ0303-4); National Key R & D Program of China (2019YFD900904); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2020TD51)