

活性菌肽豆蛋白对鲫(*Carassius auratus*) 促生长的作用效果及机理分析*

刘 臻^{1,2} 谢帝芝^{1,2,3} 周 毅^{1,2} 赵 琼^{1,2}
王赏初^{1,2} 孙 浪^{1,2} 鲁双庆^{1,2}

(1. 长沙学院生物工程与环境科学系 长沙 410003; 2. 长沙学院生物技术与营养研究所 长沙 410003;
3. 汕头大学海洋生物研究所 汕头 515063)

摘要 采用不同饲料配方投喂,研究了普通豆粕(对照组)、发酵豆粕和活性菌肽豆蛋白配合饲料对鲫(*Carassius auratus*)生长性状影响的研究。结果表明,活性菌肽豆蛋白组的相对体重生长率高于对照组 41.87% ($P<0.01$)和发酵豆粕组 19.11%;血清中的三碘甲状腺原氨酸(T3)、甲状腺素(T4)、胰岛素样生长因子-I(IGF-I)和生长激素(GH)含量活性菌肽豆蛋白组最高,其次是发酵豆粕组,而对照组最低;实时定量 PCR 检测显示:IGFs(IGF-I 和 IGF-II)基因的表达量在活性菌肽豆蛋白组中最高,其次是发酵豆粕组,对照组的表达量最低。GHR 基因的表达量在活性菌肽豆蛋白组和发酵豆粕组间无显著性差异,但明显高于对照组。因此,活性菌肽豆蛋白可能通过调控鲫血清 GH、IGF-I、T3 和 T4 等激素水平,及肝脏 GHR 和 IGFs 基因的表达,进而影响鲫的生长。

关键词 活性菌肽豆蛋白; 鲫; 促生长; 机理

中图分类号 S963

20 世纪 60 年代,人们发现将动物脑垂体均浆后拌饵料喂鱼可显著提高鱼类的生长速度,自此,生长激素开始应用于水产养殖。研究发现通过给鱼注射(Lin *et al.*, 1995; Leedom *et al.*, 2002)、浸泡(Agellon *et al.*, 1988)、灌注(Down *et al.*, 1988)等不同处理方式同源或异源重组生长激素,这些鱼均取得了显著的促生长效果。目前,已有大量鱼类生长激素 cDNA 被克隆,并成功整合到大肠杆菌、毕赤酵母和动植物细胞中表达(Ayson *et al.*, 2000; 肖生科等, 2004; 孟亚鹏等, 2006),这些重组生长激素添加在鱼类基础饲料中具有明显的促生长效果(Tsai *et al.*, 1993; 马进等, 2001)。近年来,本实验室成功构建了青鱼生长激素基因工程酵母菌(谢帝芝等, 2011),以豆粕为发酵底物,用该菌进行液态发酵,作者将这种发酵产物复合物称

为发酵豆粕;以甲醇做基因表达的诱导剂,豆粕为发酵底物,用该菌进行液态发酵,获得的发酵产物中既含有高效表达的重组青鱼生长激素蛋白,又含有豆粕降解的肽类物质(谢帝芝等, 2010),人们将含有这两种物质的发酵豆粕称为活性菌肽豆蛋白。活性菌肽豆蛋白作为一种新型蛋白饲料,具有重组青鱼生长激素蛋白和发酵豆粕的双重成分,必将在水产生物营养与饲料中更具有研究和应用价值。

硬骨鱼类生长主要由 GH-IGFs 内分泌轴控制(Duan, 1997, 1998; Moriyama *et al.*, 2000),脑垂体分泌的 GH 可直接与其受体(GHR)结合形成二聚体,刺激靶组织生长,或通过刺激肝组织和肝外组织表达合成 IGFs,再经自分泌和旁分泌的 IGFs 影响靶细胞的增殖和生长(Duan, 1997)。GH 不仅通过 GH-IGFs

* 国家自然科学基金资助项目, 31001114 号, 31272675 号; 长沙市科技局重点项目, K1205038-21 号。刘 臻, 博士, E-mail: 25300085@qq.com; 谢帝芝, 同等贡献作者, E-mail: xiedizhi@qq.com

通讯作者: 鲁双庆, 教授, E-mail: lshqlzh@163.com

收稿日期: 2012-02-09, 收修改稿日期: 2012-08-10

内分泌轴直接控制鱼类生长,同时还调节与代谢生长相关的三碘甲状腺原氨酸(T3)、甲状腺素(T4)(De Luze *et al.*, 1984; MacLatchy *et al.*, 1992),从而间接影响机体生长。GHR 的分泌表达受 GH 影响,低剂量的 GH 对 GHR 基因的表达有上调的作用,高剂量的 GH 对 GHR 基因表达有下调作用(Hull *et al.*, 1998),这些研究成果为本研究的活性菌肽豆蛋白调控鱼类血清激素水平提供了佐证。因此,本研究利用室内养殖实验,探讨活性菌肽豆蛋白对鲫促生长的作用效果,通过分析鲫血清激素水平和肝脏组织 IGFs 和 GHR 基因表达的变化,以期揭示活性菌肽豆蛋白的促生长作用及其机理。

1 材料与方法

1.1 材料

实验鲫(*Carassius auratus*)为湘云鲫,购于湖南湘云生物科技有限公司。RNAfix、总 RNA 提取试剂盒和 RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit 购自 Invitrogen 公司; SYBR® Premix Ex Taq™ II 试剂盒购于宝生物工程(大连)有限公司;鱼生长激素(GH)Elisa Kit 试剂盒和 IGF-I Elisa Kit 试剂盒购于南京建成公司;引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.2 实验方法

1.2.1 实验饲料设计 参考鲫营养标准,以甘氨酸调节蛋白水平,配制三组等氮等能实验饲料。以添加普通豆粕(45.0%, CP)的基础饲料为对照组,发酵豆粕(50.4%, CP)和活性菌肽豆蛋白(52.6%, CP)为实验组,饲料配方见表 1。饲料原料粉碎后过 40 目筛,微量成分采取逐级扩大法添加,使之与其它饲料原料混匀,经 SLX-80 型软颗粒饲料机制成直径为 2.5mm 的硬颗粒,室内晾干, -15℃冰柜保存备用。

1.2.2 饲养实验 实验于 2010 年 9—11 月在长沙学院产学研基地进行,室内循环流水水族箱规格为 85cm×85cm×65cm。实验鱼先放入水族箱中用对照组饲料驯养 14d。实验分 3 组,每组设 3 个重复,每个重复 30 尾。实验开始后,每日 8:00、12:00、17:00 投喂 3 次,日投饲量为鱼体重 4%—8%,视生长、摄食、天气和水温做相应的调整,饲养周期 8 周。

1.2.3 生长性能指标的测定 8 周养殖实验结束后,实验鱼饥饿 24h 后,称重,测体长,计算相对体重生长率、相对体长生长率和成活率。

相对体重生长率 = (终末均体重 - 初始均体重) / 初始均体重 × 100%

表 1 实验饲料配方及营养组成(%干物质)

Tab.1 Formulas and nutrition composition of trial diets (% dry matter)

原料	对照组	发酵豆粕组	活性菌肽豆蛋白组
面粉	8.00	8.00	8.00
米糠	6.05	6.05	6.05
DDGS	11.00	11.00	11.00
菜粕	20.00	20.00	20.00
棉粕	22.00	22.00	22.00
鱼粉	8.00	8.00	8.00
豆油	1.20	1.20	1.20
赖氨酸 65%	0.20	0.20	0.20
磷酸二氢钙	2.20	2.20	2.20
食盐	0.20	0.20	0.20
防霉剂	0.05	0.05	0.05
抗氧化剂	0.05	0.05	0.05
大蒜素	0.05	0.05	0.05
预混料*	1.00	1.00	1.00
甘氨酸	1.50	0.50	0.00
普通豆粕	20.00		
发酵豆粕		20.00	
活性菌肽豆蛋白			20.00
营养指标(%)			
粗蛋白	36.75	36.86	36.81
粗脂肪	7.09	7.86	7.82
粗灰分	9.13	9.02	9.04

注: * 预混料为湖南九鼎生物科技有限公司提供的多维多矿预混料

相对体长生长率 = (终末均体长 - 初始均体长) / 初始均体长 × 100%

成活率 = 实验末鱼尾数 / 实验初尾数 × 100%。

1.2.4 血清激素指标的检测 每箱随机取 5 尾鱼,尾静脉抽血,全血在 4℃下静置 12h, 6000r/min, 4℃离心 10min, 取上清制备血清, -80℃保存待用。血清由解放军湖南省 163 医院化实验室检测三碘甲状腺原氨酸(T3)和甲状腺素(T4), 参照 Qn Dystems Elisa 试剂盒说明书, Elisa Kit 方法检测血清生长激素(GH)和胰岛素样生长因子-I(IGF-I)浓度。

1.2.5 荧光定量引物设计 NCBI 中查询并下载有关鲤(S82374)、虹鳟(NM_001124697)、罗非鱼(AF033802)、斑马鱼(NM_131825, NM_131031)、松江鲈鱼(HM449124)、斑点叉尾鲷(DQ088970, AY615885)的 IGF-I、IGF-II 和内参 β-actin 基因序列, DNAMAN 软件查找基因的同源保守区。用 Primer Premier 5.0 软件设计实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)引物。

GHR 引物由湖南师范大学生命科学院刘筠院士实验室馈赠, 见表 2。

表 2 实时定量分析的引物

基因	引物序列	产物大小(bp)
β-Actin	S: 5'-TGATGGACTCTGGTGATGGTGT-3'	107
	A: 5'-TTCAGTCAGGTCACGGTCAGC-3'	
GHR	S: 5'-TGCATGTGGCACAGATACCA-3'	180
	A: 5'-GCTCTGGGTCGATGCCTTTA-3'	
IGF-I	S: 5'-TAGTCGCACAATCGTGGCAT-3'	150
	A: 5'-TCGGGTGTCCTTTGGAGTATCT-3'	
IGF-II	S: 5'-TGCTGGGATTGTGGAAGAGTG-3'	111
	A: 5'-TGTAGGGATGTGGCTGAAACG-3'	

1.2.6 肝脏总 RNA 提取与 cDNA 第一链的合成 实验结束, 禁食 24h, 每组取 9 尾鱼(每箱随机取 3 尾鱼), 活体解剖取肝脏存于 RNAfix 中。按照总 RNA 提取试剂盒说明书提取肝组织总 RNA, 将每三处理组组内的 RNA 样品混合并编号。DNA 酶消化总 RNA 样品(3μg 总 RNA/1μl DNase)。cDNA 第一链的合成: RNA 模板 5μl、0.5μg/μl oligo(dT)₁₈ 引物 1μl、DEPC 处理的 ddH₂O 补足 12μl, 65℃ 水浴 5min。简短离心立即放在冰上 1min, 加入 5×Reaction Buffer 4μl、40U/μl RNase Inhibitor 1μl、10mmol/L dNTP Mix 2μl、Transcriptase 1μl, 简短离心立即放在 42℃ 水浴 60min, 70℃ 终止反应 5min, -20℃ 保存。

1.2.7 cDNA 片段克隆 PCR 反应体系: 2×PCR TaqMix 12.5μl、上下游引物 S、A 各 1μl、cDNA 2μl、ddH₂O 加至 25μl。PCR 反应流程: 94℃ 预变性 3min, 94℃ 变性 1min, 60℃ 退火 1min, 72℃ 延伸 1min, 30 个循环, 72℃ 延伸 10min, 4℃ 10min。TA 克隆构建重组质粒, 转入到 *E. coli* DH5⁻, 蓝白斑筛选, 菌落 PCR 和阳性克隆测序鉴定。

1.2.8 实时荧光定量 PCR 检测 按照 SYBR Green I 染料法要求, 二步法进行定量 PCR。反应体系:

Takara SYBR Premix Ex Taq 12.5μl、上下游引物 S、A (10μmol/L)各 0.5μl、cDNA 2μl、ddH₂O 加至 25μl。反应程序: 95℃ 10s, 95℃ 5s, 55℃ 20s, 72℃ 11s, 共 40 循环; 95℃ 5s, 55℃ 20s, 95℃ 30s 终止; 4℃ 保存。

1.3 数据处理

定量 PCR 结束, 从扩增曲线得出 Ct 值, Excel 软件整理实验数据, 用公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [$\Delta\Delta Ct = (Ct_{目的基因} - Ct_{管家基因})_{实验组} - (Ct_{目的基因} - Ct_{管家基因})_{对照组}$] 计算目的基因的表达量。实验数据用“平均数±标准差”表示, 结果采用 Excel 和 SPSS17.0 版统计软件中 One-Way Anova 过程进行方差分析, 并进行 Duncan S 法多重比较, 显著水平为 0.05, 极显著水平采用 0.01。

2 结果与分析

2.1 活性菌肽豆蛋白对鲫生长性能的影响

经 8 周养殖实验, 活性菌肽豆蛋白组的相对体重生长率(RSGR)高于对照组 41.87% ($P < 0.01$)和发酵豆粕组 19.11% ($P < 0.05$); 活性菌肽豆蛋白组的相对体长生长率(RLGR)高于对照组 16.02%和发酵豆粕组 6.41%, 三组间的差异不显著($P > 0.05$)。发酵豆粕组和对照组间的生长指标差异不显著($P > 0.05$)。实验结果见表 3。

2.2 活性菌肽豆蛋白对鲫血清激素含量的影响

养殖实验结束后, 测得各组的血清激素结果见表 4, 活性菌肽豆蛋白组与对照组血清 GH 含量差异显著($P < 0.05$), 三碘甲状腺原氨酸 T₃、甲状腺素 T₄ 和胰岛素样生长因子-I 水平差异极显著($P < 0.01$)。发酵豆粕组与对照组间, 胰岛素样生长因子-I、三碘甲状腺原氨酸 T₃ 和甲状腺素 T₄ 表现极显著差异($P < 0.01$), 生长激素差异显著($P < 0.05$)。两处理组间, 活性菌肽豆蛋白组三碘甲状腺原氨酸 T₃ 和甲状腺素

表 3 鲫的生长性能测定结果

Tab.3 Result of growth performance in *C. auratus*

指标	组别		
	对照组	发酵豆粕组	活性菌肽豆蛋白组
初始体重(g)	6.37±0.51	6.43±0.73	6.23±0.65
终末体重(g)	11.30±1.15	12.35±1.66	13.08±1.74
相对体重生长率 RSGR (100%)	77.24±5.03 ^{Aa}	92.0±9.64 ^{ABa}	109.58±7.40 ^{Bb}
初始体长(cm)	5.93±0.12	5.95±0.24	5.89±0.09
终末体长(cm)	7.07±0.44	7.19±0.19	7.20±0.17
相对体长生长率 RLGR (100%)	19.16±5.01	20.89±1.68	22.23±1.02

注: 数据以平均值±标准差表示, 同一行数据标注字母不同表示不同组间有显著差异($P < 0.05$), 大写字母表示不同组间有极显著差异($P < 0.01$)

表 4 鲫血清激素指标测定结果
Tab.4 Result of serum hormone indices in *C. auratus*

指标	组别		
	对照组	发酵豆粕组	活性菌肽豆蛋白组
生长激素 GH (ng/ml)	6.16±0.35 ^{Aa}	7.33±0.57 ^{Ac}	8.98±0.36 ^{Bb}
胰岛素样生长因子-I IGF-I (ng/ml)	10.80±0.86 ^{Aa}	17.58±0.60 ^{Bb}	39.32±1.14 ^{Cc}
三碘甲状腺原氨酸 T3 (nmol/L)	12.39±0.24 ^{Aa}	16.09±0.38 ^{Bb}	16.72±0.45 ^{Bb}
甲状腺素 T4 (nmol/L)	1.48±0.18 ^{Aa}	1.89±0.13 ^{ABb}	2.15±0.12 ^{Bb}

注: 数据以平均值±标准差表示, 同一行数据标注字母不同表示不同组间有显著差异($P<0.05$), 大写字母表示不同组间有极显著差异($P<0.01$)

T4 水平高于发酵豆粕组($P>0.05$), 生长激素、胰岛素样生长因子-I 差异极显著($P<0.01$)。

2.3 活性菌肽豆蛋白对鲫肝脏 GHR 和 IGFs mRNA 表达的影响

图 1 显示, 鲫肝脏 GHR、IGF-I 和 IGF-II mRNA 的表达丰度在对照组、发酵豆粕组、活性菌肽豆蛋白组中依次呈递增趋势。活性菌肽豆蛋白组三个基因的表达量均极显著高于对照组($P<0.01$)。发酵豆粕组与对照组相比, GHR 和 IGF-I 的表达量差异显著($P<0.05$), IGF-II 的表达量差异极显著($P<0.01$)。两试验组 IGF-I mRNA 表达量差异显著($P<0.05$), IGF-II 基因表达量差异极显著($P<0.01$), GHR 基因表达量无显著性差异。

3 讨论

以往的研究证明, 鱼类小肠后段上皮细胞能够通过胞饮作用完整吸收外源生长激素分子, 进入血液循环并保持其原有的生物活性和免疫活性(Hertz *et al*, 1991; 肖东等, 2000)。本研究利用活性菌肽豆蛋白配合饲料饲喂鲫, 结果发现活性菌肽豆蛋白相对体重增长率为 109.58%, 极显著高于对照组(77.24%), 显著高于发酵豆粕组(92.0%)。因此, 本研究的活性菌肽豆蛋白具有明显的促生长效果。由于含有重组青鱼生长激素蛋白, 活性菌肽豆蛋白促生长效果优于发酵豆粕, 这也得到在鱼类基础饲料中添加重组生长激素能促进鱼类生长的报道佐证(Tsai *et al*, 1993; 马进等, 2001)。

三碘甲状腺原氨酸(T3)和甲状腺素(T4)协同 GH-IGFs 内分泌轴调节鱼类生长发育, 而 GH 也影响机体血清中 T3 和 T4 的含量。本研究发现, 活性菌肽豆蛋白组中血清 T3 和 T4 的含量均极显著高于对照组($P<0.01$), T3/T4 值也大于对照组, 但与发酵豆粕组的差异不显著, 表明活性菌肽豆蛋白组中重组青鱼

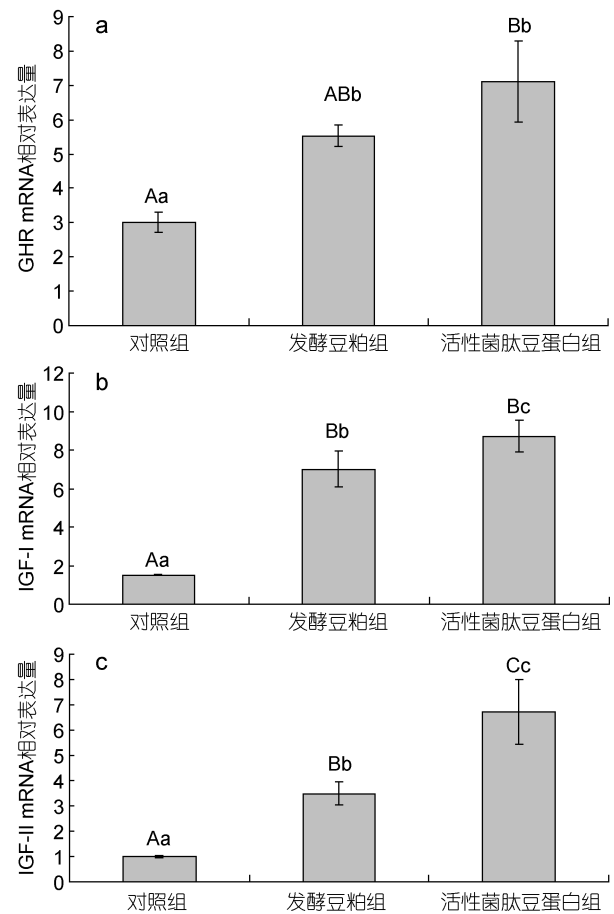


图 1 活性菌肽豆蛋白对鲫 GHR、IGF-I mRNA、IGF-II mRNA 相对表达量影响

Fig.1 Effect of active microbial peptide soybean on *C. auratus* GHR, IGF-I, and IGF-II mRNA relative expression
注: a. GHR 相对表达量; b. IGF-I mRNA 相对表达量; c. IGF-II mRNA 相对表达量。不同处理组表达量的检测比均为相对 β -actin mRNA 表达丰度的统计结果, 数据以平均值±标准差 (mean±S.E.)表示, 字母不同表示不同组间有显著差异($P<0.05$), 大写字母表示表示不同组间有极显著差异($P<0.01$)

生长激素提高了鲫血清 T3 和 T4 含量。类似研究也发现给虹鳟腹腔注射(0.1—0.5 μ g/g)大西洋鲑 GH, 处理 24h 后, 显著提高血清中 T3 浓度(MacLatchy *et al*,

1992)。De Luze 等(1984)以血清中 T3 和 T4 浓度比(T3/T4)为指标, 分别检测到罗非鱼和绵羊的 GH 均能显著提高血清中 T3/T4 值。

已有研究证实, 重组生长激素能提高牙鲮(王宏田等, 2000)、草鱼(孙颖等, 2006)、罗非鱼(Shved *et al.*, 2011)、鲑鱼(Moriyama, 1995)和海鲤(Duguay *et al.*, 1996)血清 IGF-I 的浓度。本研究发现, 饲喂含活性菌肽豆蛋白血清 GH 和 IGF-I 的浓度均极显著高于对照组, 其中 GH 含量高于对照组 45.78% ($P < 0.01$), IGF-I 浓度增加了约 4 倍, 实验组间血清 GH 和 IGF-I 指标也存在显著差异。实时定量 PCR 对相关基因表达发现活性菌肽豆蛋白组肝脏 GHR、IGF-I 和 IGF-II mRNA 的表达丰度均极显著高于对照组($P < 0.01$)。发酵豆粕组与对照组相比, GHR 和 IGF-I 基因的表达量差异显著($P < 0.05$), IGF-II 基因表达量差异极显著($P < 0.01$)。两处理组间 IGF-I mRNA 表达量差异显著($P < 0.05$), IGF-II 基因表达量差异极显著($P < 0.01$), GHR 基因表达量无显著性差异, 这种结果是因为在脊椎动物的 GH-IGFs 内分泌轴中, GH 的生物学功能通过 GHR 和 IGFs 介导传递, 同时, GH 又影响肝脏等靶器官上 GHR 和 IGFs 的表达分泌。因此, 本研究结果表明, 实验组可能通过影响鲫血清激素含量和肝脏组织 GHR、IGF-I 和 IGF-II mRNA 的表达发挥促生长的作用, 但由于菌肽豆蛋白组含有重组青鱼生长激素蛋白, 导致与发酵豆粕组对鲫血清激素含量及肝脏组织 GHR、IGF-I 和 IGF-II mRNA 的表达丰度产生不一样的作用效果。

参 考 文 献

- 马 进, 白俊杰, 简 清等, 2001. 重组虹鳟生长激素酵母对罗非鱼的促生长作用研究. 大连水产学院学报, 16(3): 219—222
- 王宏田, 徐永立, 张培军等, 2000. 重组酵母菌对牙鲮生长及血清激素含量的影响. 海洋与湖沼, 31(2): 135—138
- 孙 颖, 林浩然, 2006. 基因重组草鱼生长激素(r-gGH)对草鱼鱼种生长的促进作用. 水产学报, 30(6): 740—746
- 肖 东, 陈松林, 严安生等, 2000. 鱼类消化道具有吸收外源生长激素的能力. 动物学研究, 21(2): 103—107
- 肖生科, 王 磊, 胡治球等, 2004. 石斑鱼生长激素基因的合成及其在拟南芥中的表达. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 32(9): 57—60+65
- 孟亚鹏, 徐 敏, 代焕梅等, 2006. 草鱼生长激素基因在毕赤酵母中的表达. 四川动物, 25(1): 68—71
- 谢帝芝, 刘 臻, 王赏初等, 2011. 青鱼生长激素在毕赤酵母中的表达. 淡水渔业, 41(6): 19—24
- 谢帝芝, 李静静, 刘小青等, 2010. 青鱼生长激素基因酵母工
- 程菌发酵条件的研究. 饲料研究, 35(10): 61—66
- Agellon L, Emery C, Jones J *et al.*, 1988. Promotion of rapid growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by a recombinant fish growth hormone. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 45(1): 146—151
- Ayso F G, De Jesus E G T, Amemiya Y *et al.*, 2000. Isolation, cDNA cloning, and growth promoting activity of rabbitfish (*Siganus guttatus*) growth hormone. General and Comparative Endocrinology, 117(2): 251—259
- De Luze A, Leloup J, 1984. Fish growth hormone enhances peripheral conversion of thyroxine to triiodothyronine in the eel (*Anguilla anguilla* L.). General and Comparative Endocrinology, 56(2): 308—312
- Down N, Donaldson E M, Dye H M *et al.*, 1988. Recombinant bovine somatotropin more than doubles the growth rate of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) acclimated to seawater and ambient winter conditions. Aquaculture, 68(2): 141—155
- Duan C, 1997. The Insulin-like Growth Factor System and Its Biological Actions in Fish. American Zoologist, 37(6): 491—503
- Duan C, 1998. Nutritional and developmental regulation of insulin-like growth factors in fish. The Journal of Nutrition, 128(2): 306S—314S
- Duguay S, Lai-Zhang J, Steiner D *et al.*, 1996. Developmental and tissue-regulated expression of IGF-I and IGF-II mRNAs in *Sparus aurata*. Journal of Molecular Endocrinology, 16(2): 123—132
- Hertz Y, Tchelet A, Madar Z *et al.*, 1991. Absorption of bioactive human growth hormone after oral administration in the common carp (*Cyprinus carpio*) and its enhancement by deoxycholate. Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology, 161(2): 159—163
- Hull K L, Harvey S, 1998. Autoregulation of central and peripheral growth hormone receptor mRNA in domestic fowl. Journal of Endocrinology, 156(2): 323—329
- Leedom T A, Uchida K, Yada T *et al.*, 2002. Recombinant bovine growth hormone treatment of tilapia: growth response, metabolic clearance, receptor binding and immunoglobulin production. Aquaculture, 207(3): 359—380
- Lin H R, Zhang Q, Peter R E, 1995. Effects of recombinant tuna growth hormone (GH) and analogs of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) on growth of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). Aquaculture, 129(1—4): 342—343
- MacLatchy D L, Kawauchi H, Eales J, 1992. Stimulation of hepatic thyroxine 5'-deiodinase activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by Pacific salmon growth hormone. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 101(4): 689—691
- Moriyama S, 1995. Increased plasma insulin-like growth factor-I (IGF-I) following oral and intraperitoneal administration of

- growth hormone to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Growth Regulation, 5(3): 164—167
- Moriyama S, Ayson F G, Kawauchi H, 2000. Growth regulation by insulin-like growth factor-I in fish. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 64(8): 1553—1562
- Shved N, Berishvili G, Mazel P *et al*, 2011. Growth hormone (GH) treatment acts on the endocrine and autocrine/paracrine GH/IGF-axis and on TNF- α expression in bony fish pituitary and immune organs. Fish & Shellfish Immunology, 31(6): 944—952
- Tsai H, Chi W, Chang C *et al*, 1993. Enhancement of tilapia growth by dietary administration of recombinant yeast lysates as a supplement. Journal of the Fisheries Society of Taiwan, 20: 339—345

THE GROWTH-PROMOTING EFFECT AND MECHANISM ANALYSIS OF ACTIVE MICROBIAL PEPTIDE SOYBEAN ON CRUCIAN CARP *CARASSIUS AURATUS*

LIU Zhen^{1,2}, XIE Di-Zhi^{1,2,3}, ZHOU Yi^{1,2}, ZHAO Qiong^{1,2},
WANG Shang-Chu^{1,2}, SUN Lang^{1,2}, LU Shuang-Qing^{1,2}

(1. Department of Biotechnology & Environment Science, Changsha University, Changsha, 410003;
2. Institute of Biotechnology and Nutrition, Changsha University, Changsha, 410003; 3. Marine Biology Institute, Shantou University, Shantou, 515063)

Abstract Using different feeding formulas, the effects of common soybean, fermented soybean and active microbial peptide soybean meals on growth appearance of crucian carp *Carassius auratus* were studied. The results indicate that the relative body weight growth rate was higher in active microbial peptide soybean group (41.87%) than control and fermented soybean group (19.11% higher); the serum triiodothyronine (T3), thyroxine (T4), insulin like growth factor I (IGF-I) and growth hormone (GH) levels of active microbial peptide soybean group were the highest with following fermented soybean group and the lowest in control group. Realtime-PCR indicated that IGFs (IGF-I and IGF-II) gene expressions were the highest in active microbial peptide soybean group, lower in fermented soybean group and the lowest in control group; GHR showed no significant difference between fermented soybean group and active microbial peptide soybean group, but both two groups were higher than control group. Thus, active microbial peptide soybean may regulate GH, IGF-I, T3 and T4 in serum as well as GHR and IGFs gene expression in liver to affect growth in *C. auratus*.

Key words active microbial peptide soybean; crucian carp *Carassius auratus*; growth-promoting; mechanism