

自溶面包酵母在马氏珠母贝育苗中的饵料效果

李雷斌, 刘志刚, 王辉

(广东海洋大学, 广东 湛江 524025)

摘要: 在实验车间内利用 120 L 的塑料箱作为实验容器, 采用自溶面包酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 作为单胞藻的辅助饵料, 研究其在马氏珠母贝 (*Pinctada martensii* Dunker) 育苗中的饵料效果, 以期解决该贝育苗过程饵料供应不稳定、易培饵料品种小球藻 (*Chlorella* sp.) 利用率低的问题。研究结果表明: (1) 在温度 (30.0 ± 0.5) °C、NaCl 质量分数 3%、pH 6.5~7.0 的自溶条件下, 用经过 18 h 自溶的酵母投喂 D 形幼虫, 其平均日壳长增长率显著高于其他自溶时间酵母投喂组效果, 单独投喂非自溶酵母时 D 形幼虫不能存活; (2) D 形幼虫期单投自溶酵母, 幼虫成活率与金藻组没有显著差异 ($P > 0.05$), 生长速度比金藻组提高 8% ($P < 0.05$), 说明自溶酵母可以完全替代湛江等鞭金藻 (*Isochrysis zhanjiangensis* Hu & Liu), 但在壳顶幼虫期和稚贝期单投自溶酵母不能使幼虫和稚贝正常发育和存活; (3) 壳顶幼虫期及眼点幼虫至稚贝期投喂“自溶酵母+小球藻 (*Chlorella* sp.)”或“自溶酵母+扁藻 [*Platymonas subcordiformis* (Wille)]”, 其生长速度及存活率或稚贝育成率均显著高于单投扁藻或小球藻 ($P < 0.05$), 单投小球藻的饵料效果最差; (4) 自溶酵母与小球藻混投对眼点幼虫至稚贝培育效果较单独投喂影响显著, 可显著 ($P < 0.05$) 提高稚贝的育成率、生长速度和耐干露能力。研究表明, 使用自溶酵母可以优化马氏珠母贝健康苗种规模繁育中的饵料供应工艺及提高易培饵料品种小球藻的利用价值, 从而提高该贝育苗效果。[中国水产科学, 2008, 15 (6): 1 034-1 041]

关键词: 马氏珠母贝; D 型幼虫; 稚贝; 自溶面包酵母; 小球藻; 饵料效果

中图分类号: S963.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2008)06-1034-08

马氏珠母贝 (*Pinctada martensii* Dunker) 是中国培育海水珍珠的重要种类, 其传统的育苗工艺是以金藻作为幼体的开口饵料, 壳顶幼虫之后单投或混投金藻、扁藻、小球藻。而单胞藻的培养是一项繁重的工作, 且培养过程中经常受到原生动物污染以及天气的影响, 导致培养失败, 造成饵料紧缺, 给育苗生产带来严重的影响。因此寻找人工代用饵料以全部或部分替代单胞藻具有重大的现实意义。国内外学者进行了较多人工代用饵料方面的研究, 如使用干藻粉^[1-3]、浓缩藻泥^[4-5]、大型藻酶解单细胞^[6]、海洋酵母^[7]以及面包酵母^[8-12]等作为替代饵料取得了一定的效果, 但都存在不足。如干藻粉中的营养物质易溶出, 常常造成水质恶化; 浓缩藻泥的生产需要较多的仪器设备, 成本较高; 大型藻酶解单细胞的细胞直径偏大, 不适合作为幼体的前期饵料。面包酵母作为双壳类育苗中的生物饵料

具有较多的优势, 其易于获得和保存, 蛋白含量高, 细胞直径在 4~7 μm 之间, 适合幼苗摄食。但由于双壳类体内缺乏消化酵母细胞壁的酶, 从而导致对面包干酵母的消化率较低^[13-14]。有关酵母自溶及酵母自溶产物的研究较多^[15-18], 然而通过投喂经过适当程度自溶的酵母细胞来提高贝苗对其消化能力的研究还未见报道。本实验在通过自溶技术克服了酵母低消化率的问题的前提下, 研究了活性面包酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 作为马氏珠母贝育苗中的辅助饵料的效果, 以期解决该贝育苗生产中的饵料问题。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 饵料品种及饵料密度调配 小球藻 (*Chlorella* sp.), 直径 3.0 μm 左右; 湛江等鞭金藻 (*Isochrysis zhanjiangensis* Hu & Liu), 直径 5~7 μm ; 亚心形扁藻

收稿日期: 2008-01-24; 修订日期: 2008-07-04.

基金项目: 农业部公益性行业 (农业) 科研专项 (nyhyzx07-047).

作者简介: 李雷斌 (1976-), 男, 在读硕士研究生, 从事无脊椎动物增养殖及珍珠培育研究.

通讯作者: 刘志刚 (1963-), 教授. Tel: 0759-2230818, 13802828213; E-mail: lzg919@21cn.com

(*Platymonas subcordiformis* Wille), 以上藻种由广东海洋大学藻种室提供; 面包酵母为真空包装的高活性干酵母, 细胞圆形或椭圆形, 直径为 4~7 μm , 密度约 3×10^{10} cell/g, 由黑龙江省哈尔滨马利酵母有限公司生产。金藻、小球藻、扁藻、自溶酵母每次使用前均经过血球计数板测量密度, 再分别稀释为 4×10^5 cell/mL、 3.2×10^6 cell/mL、 1×10^5 cell/mL、 1.5×10^6 cell/mL。

1.1.2 自溶酵母的制备 活性干酵母在干燥环境时处于休眠状态, 使用时要经过活化处理即以 30~40 $^{\circ}\text{C}$, 4~5 倍于酵母质量的温淡水溶解并放置 15~30 min。将活化后的酵母在温度为 (30.0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 、pH 6.5~7.0、含盐量为 3%^[18] 的条件下进行自溶, 自溶时间设 9 个梯度, 分别为 0 h、6 h、12 h、18 h、24 h、30 h、36 h、42 h、48 h。

1.2 实验设计及管理

实验开始和结束时分别统计各组幼虫或稚贝的平均壳长, 测量数量为 30 个随机样本。壳长在浮游幼虫期用显微镜测微尺测量, 在稚贝期用游标卡尺测量 (精确度为 ± 0.02 mm)。

1.2.1 实验地点及时间 实验在湛江市南三岛广东海洋大学水产种苗实验基地进行, 时间从 2007 年 6 月 25 日到 2007 年 9 月 10 日。

1.2.2 不同自溶时间的面包酵母对 D 型幼虫存活及生长的影响 在育苗车间内, 采用 120 L 的塑料箱作为实验容器, 实验水体为 100 L/箱, 每箱放 1 个气石。实验设 10 个组, 分别为 9 个单独投喂酵母组 (每组投喂经不同时间自溶处理后的面包酵母) 和 1 个单独投喂金藻组 (对照组), 每组设 3 个平行; 实验所用的幼虫为刚孵化出的 D 型幼虫, 壳长为 (68.3 $\pm$ 1.2) μm , 培育密度 (2.0×10^3) ind/L, 实验从刚孵化出的 D 形幼虫期开始, 到发育最快的一组有 50% 幼虫发育成壳顶初期幼虫时结束; 投喂方案为自溶酵母细胞和金藻每天各投喂 2 次, 每次投喂量分别为 600~900 cell/mL 和 300~600 cells/mL。每次投喂量以下次投喂前水中尚有少量残饵为度。

1.2.3 自溶面包酵母单投或与单胞藻混投对壳顶幼虫的培育效果 实验条件同 1.2.2。实验设 4 个组, 饵料按 1.1.1 的浓度投喂, 分别为 100% 自溶酵母组、100% 小球藻组、100% 扁藻组、“50% 自溶酵母 + 50% 小球藻 (体积比)” 组和 “50% 自溶酵母 + 50% 扁藻 (体积比)” 组, 每组设 3 个平行。实验用自溶酵母采用能产生最好育苗效果的自溶条件处理, 即温度 (30.0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 、pH 6.5~7.0、NaCl 质量

分数 3%、自溶处理 18 h。实验所用壳顶幼虫来自生产池中用金藻培育而成的壳顶初期率达 50% 的面盘幼虫, 培育密度为 2.0×10^3 ind/L。实验从幼虫放入育苗箱开始, 到发育最快的 1 组有 30% 的壳顶幼虫出现眼点时结束。每次投喂量以下次投喂前水中尚有少量残饵为度。

1.2.4 自溶面包酵母单投或与单胞藻混投对稚贝的育成效果的影响 实验条件同 1.2.2。实验设 5 个组, 按投饵体积比分别为 “100% 自溶酵母”、“100% 小球藻” 组、“100% 扁藻” 组、“50% 自溶酵母 + 50% 小球藻” 组、“50% 自溶酵母 + 50% 扁藻” 组, 各饵料浓度同 1.1.1, 每组设 3 个平行。实验所用幼虫来自生产池中用金藻和扁藻培育而成的有 30% 幼虫出现眼点的壳顶幼虫, 即为眼点初期幼虫, 培育密度为 2.0×10^3 ind/L; 实验从幼虫放入育苗箱开始到稚贝出池时结束; 每次投喂量以下次投喂前水中尚有少量残饵为度。

1.2.5 自溶面包酵母与小球藻不同混投水平对稚贝育成效果的影响 实验条件同 1.2.2。设 7 个实验组, 按投饵体积比分别为 100% 小球藻组、“16.67% 自溶酵母 + 83.33% 小球藻” 组、“33.3% 自溶酵母 + 66.7% 小球藻” 组、“50% 自溶酵母 + 50% 小球藻” 组、“66.7% 自溶酵母 + 33.3% 小球藻” 组、“83.33% 自溶酵母 + 16.67% 小球藻” 组、“100% 自溶酵母” 组。每次投喂量以下次投喂前水中尚有少量残饵为度。稚贝耐干露能力以随机取 100 个稚贝在常温、遮光、露空、潮湿的泡沫箱中阴干 12 h 后的成活率为依据, 由于从育苗场把稚贝出池到运到养殖海区吊养完毕通常需要 10 h 左右, 在这过程中稚贝常常处于露空状态, 考察稚贝 12 h 的耐干露能力在生产上具有实际意义。实验所用幼虫、实验时间同 1.2.4。

1.2.6 育苗管理 每天 8:00~9:00 和 16:00~17:00 各投饵 1 次; 每次投饵前 1h 用显微镜检查幼虫的摄食情况及水中残饵, 以作为调节投饵量的依据; 在浮游期每天对箱底吸污换水 1/3, 并回收吸出的幼虫, 在 50% D 形幼虫进入壳顶期、30% 壳顶幼虫进入眼点期时分别统计幼虫成活率、生长速度; 在稚贝培育期每天换水 1/2, 实验结束时统计各实验组稚贝的育成率和生长速度。实验期间育苗海水温度为 28.0~31.5 $^{\circ}\text{C}$ 、盐度 29.1~29.8、pH 8.0~8.2。

1.2.7 数据统计与处理 平均壳长日增长率 R_L (mm/d) = $(L_1 - L_0)/t$, 式中 L_1 和 L_0 分别代表各实验结束和开始时的壳长, t 为实验时间 (d)。D 形幼虫

期成活率 $R_{S1} = (50\% \text{ D形幼虫进入壳顶期时的密度} / \text{实验开始幼虫密度}) \times 100\%$; 壳顶幼虫期成活率 $R_{S2} = (30\% \text{ 壳顶幼虫进入眼点期时的密度} / \text{实验开始幼虫密度}) \times 100\%$; 稚贝育成率 $R_{S3} = (\text{实验结束稚贝的总数量} / \text{实验开始幼虫总数}) \times 100\%$ 。

实验数据采用平均数值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm \text{SD}$) 表示, 使用 SPSS (v13.0) 分析软件对数据进行单因素方差分析 (ANOVA), 并结合 Duncan 法进行多重比较, 检验处理间的差异显著性, 当 $P < 0.05$ 时认为差异显著。

2 结果与分析

2.1 单投不同自溶时间的面包酵母对马氏珠母贝 D 型幼虫的存活及生长的影响

由表 1 可见, 单投未经自溶的酵母, D 形幼虫

全部死亡; 单投自溶酵母可以使 D 形幼虫正常生长发育到壳顶幼虫初期。单因素方差分析表明, 投喂不同自溶时间的酵母对 D 形幼虫的成活率和生长速度产生了显著的影响 ($P < 0.05$)。多重比较结果显示, 自溶时间 6 h 酵母投喂组的成活率最低, 与自溶时间为 12~48 h 的酵母投喂组及对照组有显著的差异 ($P < 0.05$), 而投喂自溶酵母时间在 12 h~48 h 内组与对照组间的成活率差异不显著 ($P > 0.05$); 各组的平均壳长日增长率按从大到小排序为 18 h、24 h、对照组、30 h、36 h、42 h、12 h、48 h、6 h。综上所述, 酵母的最佳自溶时间为 18 h, 其单独投喂效果在成活率上与投喂金藻无显著差异 ($P > 0.05$), 但壳长日增长量比后者提高 8% ($P < 0.05$)。

表 1 投喂不同自溶时间的酵母对马氏珠母贝 D 形幼虫的存活率及生长的影响

Tab. 1 Effects of baker yeast after different autolysis time on survival and growth of *P. martensii* D-shaped larvae

$n=30; \bar{x} \pm \text{SD}$

自溶时间 / h Autolysis time	存活率 / % Survival rate	实验后壳长 / μm Shell length after experiment	壳长日增长 / ($\mu\text{m} \cdot \text{d}^{-1}$) Shell length daily gain
0	0	0	0
6	56.9 ± 5.5^b	80.6 ± 1.0^e	1.54 ± 0.12^e
12	91.4 ± 2.9^a	87.7 ± 1.5^d	2.42 ± 0.18^d
18	93.5 ± 0.8^a	95.3 ± 0.9^a	3.37 ± 0.11^a
24	91.3 ± 7.5^a	94.2 ± 1.1^{ab}	3.23 ± 0.13^{ab}
30	90.7 ± 3.0^a	91.8 ± 0.4^c	2.93 ± 0.05^c
36	90.8 ± 2.8^a	91.7 ± 0.5^c	2.92 ± 0.06^c
42	90.2 ± 5.4^a	90.4 ± 0.5^c	2.76 ± 0.06^c
48	91.8 ± 3.1^a	88.6 ± 0.2^d	2.41 ± 0.03^d
对照组 Control	93.7 ± 4.1^a	93.5 ± 0.6^b	3.13 ± 0.08^b

注: 表中同列数据右上角不同小写英文字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 实验开始 D 形幼虫壳长 (68.3 ± 1.2) μm , 实验周期 8 d。

Note: Values labeled with different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$); shell length of D-shaped larvae was (68.3 ± 1.2) μm at the beginning of experiment; duration of experiment was 8 d.

2.2 自溶酵母单投或与单胞藻混投对马氏珠母贝壳顶幼虫的培育效果

由表 2 可见, 单因素方差分析表明, 投喂不同饵料对壳顶幼虫存活率及壳长日增长量有极显著影响 ($P < 0.01$)。在壳顶幼虫期单投自溶酵母组的幼虫全部死亡。多重比较结果显示, “50% 自溶酵母 + 50% 小球藻”和“50% 自溶酵母 + 50% 扁藻”两组在平均存活率上差异不明显 ($P > 0.05$), 但与单投小球藻、扁藻组有明显差异 ($P < 0.05$); 即用自溶

酵母与小球藻或扁藻混合投喂效果相似, 且均比单独投喂小球藻或扁藻的效果好 ($P < 0.05$)。各组的平均存活率按从大到小排序为“50% 自溶酵母 + 50% 小球藻”组、“50% 自溶酵母 + 50% 扁藻”组、扁藻组、小球藻组, 各组的平均壳长日增长率按从大到小排序为“50% 自溶酵母 + 50% 小球藻”组、“50% 自溶酵母 + 50% 扁藻”组、扁藻组、小球藻组。由此可见, 用“50% 自溶酵母 + 50% 小球藻”培育壳顶幼虫可以取得较好的饵料效果。

表 2 投喂不同饵料对马氏珠母贝壳顶幼虫的存活和生长的影响
Tab.2 Effects of different feed on survival and growth of *P. martensii* umbonate larvae

$n=30; \bar{x} \pm SD$

指标 Indicator	自溶酵母 Autolyzed baker yeast	小球藻 <i>Chlorella</i> sp.	扁藻 <i>Platymonas</i> <i>subcordiformis</i>	50% 自溶酵母 +50% 小球藻 50% Autolyzed baker 50% yeast+ <i>Chlorella</i> sp.	50% 自溶酵母 +50% 扁藻 50% Autolyzed bakeryeast+ 50% <i>P. subcordiformis</i>
实验前幼虫数量 / $\times 10^5$ ind Larvae amount before experiment	2	2	2	2	2
实验后幼虫数量 / $\times 10^5$ ind Larvae amount after experiment	0	0.672 ± 0.054^c	1.668 ± 0.056^b	1.914 ± 0.082^a	1.842 ± 0.096^a
存活率 / % Survival rate	0	33.6 ± 2.7^c	83.4 ± 2.8^b	95.7 ± 4.1^a	92.1 ± 4.8^a
实验前幼虫壳长 / μm Shell length before experiment	96.2 ± 6.9	96.2 ± 6.9	96.2 ± 6.9	96.2 ± 6.9	96.2 ± 6.9
实验后幼虫壳长 / μm Shell length after experiment	0	158.4 ± 5.1^c	183.7 ± 2.9^b	204.5 ± 3.0^a	202.6 ± 2.3^a
壳长日增长 / ($\mu\text{m} \cdot \text{d}^{-1}$) Shell length daily gain	0	6.22 ± 0.51^c	8.75 ± 0.29^b	10.83 ± 0.30^a	10.64 ± 0.23^a

注: 同一行右上方不同小写英文字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 实验周期为 10 d.

Note: Values with different letters in the same row are significantly different ($P < 0.05$); duration of experiment was 10 d.

2.3 自溶酵母单投或与单胞藻混投对马氏珠母贝稚贝育成效果的影响

由表 3 可见, 在眼点幼虫育成稚贝的过程中, 单独投喂自溶酵母不能使幼虫正常附着变态。单因素方差分析表明, 投喂不同饵料对壳长日增长率和眼点幼虫稚贝育成率产生极显著影响 ($P < 0.01$)。多重比较显示, 各组的平均壳长日增长率按从大到小排

序为“自溶酵母 + 小球藻”、“自溶酵母 + 扁藻”、扁藻、小球藻。“自溶酵母 + 小球藻”和“自溶酵母 + 扁藻”之间的平均育成率差异不显著 ($P < 0.05$), 但与单投小球藻或扁藻组之间的差异显著 ($P < 0.05$), 其中小球藻组又低于扁藻组。这说明在眼点幼虫稚贝育成过程中, 自溶酵母与小球藻或扁藻混合投喂的效果都明显高于单独投喂小球藻或扁藻。

表 3 自溶酵母单投或与单胞藻混投对马氏珠母贝稚贝育成效果的影响

Tab. 3 Effects of pure autolyzed baker yeast feeding or mixed feeding with unicellular algae on cultivation of juvenile *P. martensii*

$n=30; \bar{x} \pm SD$

指标 Indicator	自溶酵母 Autolyzed baker yeast	小球藻 <i>Chlorella</i> sp.	扁藻 <i>Platymonas</i> <i>subcordiformis</i>	50% 自溶酵母 +50% 小球藻 50% Autolyzed baker 50% yeast+ <i>Chlorella</i> sp.	50% 自溶酵母 +50% 扁藻 50% Autolyzed bakeryeast+ 50% <i>P. subcordiformis</i>
实验前幼虫数量 / $\times 10^5$ ind Larvae amount before experiment	2	2	2	2	2
实验后稚贝数量 / $\times 10^5$ ind Juvenile amount after experiment	0	0.54 ± 0.04^c	1.12 ± 0.09^b	1.88 ± 0.11^a	1.76 ± 0.07^a
育成率 / % Breeding rate	0	2.7 ± 0.2^c	5.6 ± 0.5^b	9.4 ± 0.6^a	8.8 ± 0.4^a
实验前幼虫壳长 / μm Larvae's shell length before experiment	192 ± 15	192 ± 15	192 ± 15	192 ± 15	192 ± 15
实验后稚贝壳长 / μm Juveniles shell length after experiment	0	1107 ± 78^d	1449 ± 72^c	1785 ± 60^a	1536 ± 54^b
壳长日增长 / ($\mu\text{m} \cdot \text{d}^{-1}$) Shell length daily gain	0	30.5 ± 2.6^d	41.9 ± 2.4^c	53.1 ± 2.0^a	46.8 ± 1.8^b

注: 同一行数据右上方不同英文字母表示有显著差异 ($P < 0.05$); 实验周期为 30 d.

Note: Values with different letters in the same row are significantly different ($P < 0.05$); duration of experiment was 30 d.

2.4 自溶酵母与小球藻不同混投水平对稚贝育成效的影响

由表4可见,单因素方差分析表明,各投喂水平之间的稚贝12 h耐干露能力、壳长日增长率、眼点幼虫育成率的差异显著($P<0.05$)。多重比较结果显示,各组的12 h的耐干露能力按从大到小排序为:“50%自溶酵母+50%小球藻”、“33.3%自溶酵母+66.7%小球藻”、“16.67%自溶酵母+83.33%小球藻”、“0%自溶酵母+100%小球藻”、“66.7%自溶酵母+33.3%小球藻”、“83.33%自溶酵母+16.67%小球藻”;各组的壳长日增长率按从大到小排序为:“50%自溶酵母+50%小球藻”、“33.3%

自溶酵母+66.7%小球藻”、“66.7%自溶酵母+33.3%小球藻”、“16.67%自溶酵母+83.33%小球藻”、“0%自溶酵母+100%小球藻”、“83.33%自溶酵母+16.67%小球藻”;各组的眼点幼虫育成率按从大到小排序为:“50%自溶酵母+50%小球藻”、“66.7%自溶酵母+33.3%小球藻”、“33.3%自溶酵母+66.7%小球藻”、“16.67%自溶酵母+83.33%小球藻”、“83.33%自溶酵母+16.67%小球藻”、“0%自溶酵母+100%小球藻”。由此可见“50%自溶酵母+50%小球藻”的喂养效果最好,100%小球藻组的培育效果最差。

表4 自溶酵母与小球藻不同混投水平对马氏珠母贝稚贝育成效及耐干能力的影响
Tab.4 Effects of different proportions of autolyzed baker yeast and *Chlorella* sp. on the breeding rate and ability to endure drying of juveniles *P. martensii*

$n=30; \bar{x} \pm SD$

组别 Group	育成率/% Breeding rate	壳长日增长/ $(\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1})$ Shell length daily gain	稚贝阴干后的存活率/% Juvenile's survival rate after being dried
100% CH	2.7 ± 0.2^d	30.5 ± 2.6^d	84.3 ± 2.1^c
16.67% ABY + 83.33% CH	6.9 ± 0.5^c	40.3 ± 2.3^c	90.3 ± 1.2^b
33.3% ABY + 66.7% CH	9.2 ± 0.4^b	48.1 ± 2.0^b	95.7 ± 1.3^a
50% ABY + 50% CH	10.2 ± 0.6^a	53.1 ± 2.0^a	97.0 ± 1.7^a
66.7% ABY + 33.3% CH	9.5 ± 0.5^{ab}	42 ± 1.6^c	80.3 ± 2.1^d
83.33% ABY + 16.67% CH	6.3 ± 0.3^c	26 ± 1.8^c	32.7 ± 0.6^c
100% ABY	0	0	0

注:同一列右上角不同英文字母表示有显著差异($P<0.05$);实验开始眼点幼虫壳长 $(192 \pm 15)\mu\text{m}$,实验周期为30 d;自溶酵母简称为“ABY”,小球藻简称为“CH”。

Note: Values with different letters in the same column are significantly different ($P<0.05$); shell length of Eyed-larvae was $(192 \pm 15)\mu\text{m}$ before experiment; duration of experiment was 30 d; autolyzed baker yeast is abbreviated as ABY, and *Chlorella* sp. is abbreviated as CH.

3 讨论

3.1 面包酵母自溶条件的选用

面包酵母的细胞壁主要由多聚糖组成,而双壳类消化道内缺乏消化多聚糖的酶^[11],只有细胞壁的完整性被破坏后,酵母细胞内丰富的营养物质才能消被化吸收。酵母在条件不适时会发生自溶而死亡分解,使得酵母细胞壁被部分降解,细胞内自溶产生的小分子营养物质可以大量地渗透出细胞壁。王志坚^[19]的研究表明,即使啤酒酵母在正常发酵过程(9~12℃)中,部分自溶也是不可避免的,只是自溶程度、速度随条件有所差异,在高温下酵母更易自溶。高玉荣^[20]、李祥等^[21]的研究表明,质量分数浓度为3%的NaCl溶液可有效地促使酵母自溶。酵母细胞中的大分子物质在细胞内源酶的作用下分解为小分

子物质,然后通过扩散作用渗透到细胞外介质中,同时细胞壁部分降解。而中性偏酸性(pH 6~7)的条件更可加速酵母的自溶^[22]。参考上述的研究并考虑到贝类育苗场相对较为简陋的条件和酵母自溶的特性,本实验采用常温 $(30.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 、含盐量3%、pH 6.5~7.0的自溶条件制备自溶酵母细胞,并考察不同自溶时间对幼虫培育效果的影响。结果表明,投喂自溶18 h的面包酵母的D形幼虫其壳长日增长达到最高,为 $(3.37 \pm 0.11)\mu\text{m}\cdot\text{d}^{-1}$,这说明酵母经过适当时间的自溶有利于D形幼虫对面包酵母的消化吸收。自溶时间过短或过长,D形幼虫的生长均偏慢。自溶时间过短酵母自溶程度不够,导致营养物质不能充分释放;自溶时间过长则酵母细胞内的小分子营养物质不断溶出细胞壁进入细胞外

介质,造成酵母细胞的营养丢失。相对邵伟等^[15]、蒋雪薇等^[17]用较高温度(40~60℃)、较长时间(18~36 h)来制备自溶酵母细胞,本实验所用酵母的自溶时间较短、温度较低,但也取得了对马氏珠母贝幼虫较好的投喂效果。由此可见,本实验所采用的面包酵母自溶处理条件是合理的。

3.2 马氏珠母贝D型幼虫对自溶酵母的消化率

Nell^[23]认为,酵母作为双壳类生物饵料的局限在于其消化率低;刘永^[10]用未经处理的面包酵母足量投喂马氏珠母贝D形幼虫,可导致幼虫全部死亡;Coutteau等^[11-12]在提高卤虫对酵母的消化率方面的研究发现,对面包酵母进行化学处理可提高卤虫对面包酵母的消化率,用经化学处理的面包酵母喂养硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)没有导致其生长率明显下降。本实验结果也显示,单独足量投喂未经自溶的面包酵母组幼虫全部死亡,但单独足量投喂经过自溶的面包酵母却有利于马氏珠母贝D形幼虫的生长和存活。这说明面包酵母经过适当的自溶处理后再投喂,可以显著($P<0.05$)提高马氏珠母贝D形幼虫对酵母的消化率。

3.3 自溶酵母与单胞藻的营养互补

酵母作为贝苗饵料,不但颗粒大小适口,而且营养成分丰富。据研究,酵母蛋白质质量分数达47%~56%、脂肪2%~6%、碳水化合物26%~36%、灰分5%~10%和多种B族维生素^[24-25]。其细胞壁含葡聚糖,作为饵料可提高生物免疫功能^[26]。但是吴格天等^[27]指出,酵母中HUFA(高不饱和脂肪酸)特别是EPA和DHA的含量很低或没有,不宜单独作为海产动物的饵料。王健等^[28]提出,海洋生物难以在体内合成长链高级不饱和脂肪酸,而高级不饱和脂肪酸对双壳类幼虫的发育十分重要,缺乏时会抑制个体的生长;Robinson^[29]的实验也显示出EPA对长牡蛎(*Crassostrea gigas*)幼虫发育与生长具有十分重要的作用。因此,酵母必须与富含不饱和脂肪酸的饵料搭配使用才能充分发挥其作用。林学政等^[30]的研究表明,大多数藻类含有丰富的HUFA,如扁藻体内EPA占总脂肪酸含量的5.1%,塔胞藻的占8.0%,小球藻的占28%。由于小球藻在生产中比其他藻类更容易培养,且EPA含量也比较高,因此,用酵母和小球藻混合投喂贝类幼虫来研究其饵料效果具有重要的现实意义。本研

究结果表明,在壳顶幼虫期或稚贝期,用50%自溶酵母与50%小球藻或扁藻混投,其饵料效果均比单独投喂小球藻或扁藻的显著好($P<0.05$),不但存活率提高,而且生长速度加快;而单独投自溶酵母则不能满足壳顶期幼虫及眼点幼虫到稚贝发育的需要。由此可见自溶酵母与小球藻或扁藻混合投喂可以明显地提高幼虫和稚贝对自溶酵母、小球藻或扁藻的营养利用水平,从而也说明自溶酵母与单胞藻具有营养互补的作用。

3.4 自溶酵母在马氏珠母贝育苗中的效果

在D形幼虫期单独投喂自溶酵母,其饵料效果与单投金藻差异不大,但在壳顶幼虫期和稚贝期单独投喂自溶酵母则全部死亡,这一现象可能是受精卵细胞本身就含有较多的HUFA,可以满足D形幼虫对不饱和脂肪酸的需要,但不能满足壳顶期幼虫及眼点幼虫到稚贝发育的需要;在壳顶幼虫期或稚贝期,用50%自溶酵母与50%小球藻或扁藻混投,其饵料效果均显著好于单独投喂小球藻或扁藻($P<0.05$);在壳顶幼虫期,50%自溶酵母与50%小球藻混合投喂组生长速度与50%自溶酵母与50%扁藻投喂组的没有明显差异($P>0.05$),可能与实验周期短(10 d),两组间的营养差异在短时间内不能在投喂效果上得到体现有关;在稚贝期,50%自溶酵母与50%小球藻组稚贝生长速度显著高于50%自溶酵母与50%扁藻组($P<0.05$),这可能与在本实验条件下,前一混合投喂组比后一混合投喂组的营养构成更能满足稚贝的营养需求有关,并且较长实验时间(30 d)使得两种混合饵料的投喂效果充分显露;在稚贝期,50%自溶酵母与50%小球藻混合比例组投喂在稚贝的育成率、生长和耐干露能力方面比其他比例混合组取得了更好的效果,这说明按此比例混合可以有效地发挥自溶酵母和小球藻的饵料价值;至于稚贝期自溶酵母与扁藻的最佳投喂比例组成,还需要进一步的实验来说明。

综上所述,面包酵母经过适当的自溶,在D形幼虫期可以完全代替金藻,在壳顶幼虫期及稚贝期与小球藻按一定比例混投可以完全代替金藻与扁藻。由于酵母的易获得性和小球藻的易培性及两者混投所取得的良好饵料效果,在马氏珠母贝的健康苗种规模化繁育中将得到广泛的应用。

参考文献:

- [1] 胡葵英. 应用螺旋藻粉配合饵料培育海湾扇贝亲贝试验成功[J]. 海洋湖沼通报, 1989, 3: 74.
- [2] Laing I, Child A R, Janke A. Nutritional value of dried algae diets for larvae of Manila clam (*Tapes philippinarum*) [J]. J Mar Bio Ass UK, 1990, 70: 1-12.
- [3] Laing I, Millican P F. Indoor nursery cultivation of juvenile bivalve molluscs using diets of dried algae[J]. Aquaculture, 1992, 102: 231-243.
- [4] 孙建华, 王如才, 田传远. 海产单胞藻沉淀方法的研究[J]. 海洋科学, 1997, 3: 9-13.
- [5] 孙建华, 王如才, 赵强. 高浓度小新月菱形藻保存方法的研究[J]. 海洋学报, 1998, 20 (2): 108-112.
- [6] 戴继勋, 胡景杰, 王海. 大型藻酶解单细胞用于贝类育苗的研究[J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34 (5): 795-798.
- [7] 蔡诗庆, 孙世春. 三株海洋酵母投喂海湾扇贝幼贝效果的研究[J]. 中国海洋大学学报, 2005, 35 (6): 955-960.
- [8] Epifanio C E. Comparison of yeast and algal diets for bivalve molluscs[J]. Aquaculture, 1979, 16: 187-192.
- [9] Urban E R, Langdon C J. Reduction in costs of diets for the American oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin), by the use of non-algal supplements[J]. Aquaculture, 1984, 38: 277-291.
- [10] 刘永. 马氏珠母贝简化式育苗技术[J]. 水产养殖, 2006, 5: 36-38.
- [11] Coutteau P, Lavens P, Sorgeloos P. Baker's yeast as a potential substitute for live algae in aquaculture diets: Artemia as a case study[J]. J World Aquacult. Soc., 1990, 21: 1-9.
- [12] Coutteau P, Hadley N H, Manzi J J, et al. Effect of algal ration and substitution of algae by manipulated yeast on the growth of juvenile *Mercenaria* [J]. Aquaculture, 1994, 120: 135-150.
- [13] 张彦, 朱娅敏, 夏长虹. 食用酵母的营养价值[J]. 食品科技, 2004, 10: 94-95.
- [14] 麦康森, 何艮. 单细胞蛋白的生产及在水产饲料中的应用. 海洋生物技术 [M]. 济南: 山东科学出版社, 1998: 517-524.
- [15] 邵伟, 乐超银, 陈菽. 酵母细胞自溶条件优化研究[J]. 中国酿造, 2007 (8): 10-14.
- [16] 唐治玉, 王淮, 熊善柏. 自溶-酶-碱法提取啤酒酵母中 β -1, 3-葡聚糖的工艺研究[J]. 现代食品科技, 2006, 22 (2): 28-30.
- [17] 蒋雪薇, 罗晓明, 刘永乐. 啤酒废酵母变温自溶条件的研究[J]. 食品工业科技, 2003 (4): 48-50.
- [18] 宁正祥. 酵母细胞自溶动力学研究[J]. 微生物学报, 1994, 34 (3): 213-219.
- [19] 王志坚. 酵母自溶的成因及其对啤酒质量的影响[J]. 酿酒科技, 2003 (6): 58-59, 61.
- [20] 高玉荣. 富硒啤酒酵母自溶条件的研究[J]. 食品工业, 2003 (4): 4-6.
- [21] 李祥, 彭莉. 酵母自溶研究[J]. 中国酿造, 2001 (5): 17-19.
- [22] 蒋雪薇, 罗晓明, 刘永乐. 啤酒废酵母变温自溶条件的研究[J]. 食品工业科技, 2003, 4: 48-50.
- [23] Nell J A. Comparison of some single cell proteins in the diets of the Sydney rock oyster (*Saccostrea commercialis*) [J]. Prog Fish Cult, 1985, 47: 110-113.
- [24] 黄玲. 食用酵母蛋白质的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 1992, 18 (1): 56-62.
- [25] 龙凌. 酵母产品及其用途[J]. 中国饲料, 2001, 5: 28-30.
- [26] 岳支华, 赠箭民. 酵母细胞壁 (PR-500) 及其在养殖生产中的应用[J]. 中国水产, 2000 (5): 68-69.
- [27] 吴格天, 马悦欣, 童胜英, 等. 培养基对海洋酵母脂肪酸组成的影响[J]. 大连水产学院学报, 2000, 15 (1): 17-22.
- [28] 王健, 王萍, 何义朝. 滤食性贝类营养需求和代用饲料研究进展[J]. 海洋科学, 2000, 24 (4): 26-30.
- [29] Robinson A M. Dietary supplements for the reproductive conditioning of *Crassostrea gigas kumamoto* (Thunberg) II. Effects on glycogen, lipid and fatty acid content of broodstock oysters and eggs. [J]. Shellfish Res, 1992, 11 (3): 443-447.
- [30] 林学政, 李光友. 11种微藻脂类和EPA/DHA组成的研究[J]. 黄渤海海洋, 2000, 18 (2): 36-40.

Effects of autolyzed baker yeast as feed on growth and survival of *Pinctada martensii* (Dunker) D-larvae and juveniles

LI Lei-bin, LIU Zhi-gang, WANG Hui

(Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

Abstract: By using 120 L plastic vessel as experimental container in the nursery workshop, the effects of autolyzed baker yeast as supplemental feed to unicellular algae in the diet of larvae of pearl oyster *Pinctada martensii* (Dunker) were studied. The aim of this study was to resolve such problems like unstable food supply and low utilization rate of easily cultivated *Chlorella* sp. in the course of larval cultivation. The results show as follows: (1) The optimum autolysis conditions of baker yeast were 3% salt, pH 6.5–7.0, temperature $(30.0 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$ and the autolysis time of 18 h, under which the best feed efficiency could be achieved ($P < 0.05$); as the control, death of larvae appeared using separate feeding of nonautolyzed baker yeast. (2) D-shaped larvae fed on autolyzed baker yeast did not display higher survival rate than those fed on *Isochrysis zhanjiangensis* ($P > 0.05$), but the growth rate of the larvae fed on autolyzed baker yeast was 8% higher than those fed on ($P > 0.05$) *Isochrysis zhanjiangensis*. However, umbonate larvae and juveniles couldn't survive when autolyzed baker yeast was provided alone. (3) Umbonate larva and juveniles fed on mixed feed of autolyzed baker yeast and *Chlorella* sp. or autolyzed baker yeast and *Platymonas subcordiformis* (Wille) had significantly higher growth and survival rates than those fed on *Chlorella* sp. or *P. subcordiformis* alone. The use of mixed autolyzed baker yeast and *Chlorella* sp. could greatly increase feeding efficiency of *Chlorella* sp. (4) Fed on mixed feed of autolyzed baker yeast and *Chlorella* sp. at the stages ranging from eyed-larvae to juvenile, juveniles had higher breeding rate, higher growth rate and ability to endure drying ($P < 0.05$). The present optimized food supply protocols for healthy seed production of *P. martensii* and made good use of feed such as *Chlorella* sp., and provided some useful information for commercial production for feed of other shellfish species. [Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15 (6): 1 034–1 041]

Key words: *Pinctada martensii* (Dunker); D-larvae; juvenile; autolyzed braker yeast; *Chlorella* sp.; feed efficiency

Corresponding author: LIU Zhi-gang. E-mail: lzg919@21cn.com