

酵母膏对异育银鲫生长和抗应激能力的影响

陈国凤 施陈江 王文娟 吴东峰 蔡春芳
(苏州大学基础医学与生物科学学院 苏州 215006)

摘要：在饲料中分别添加 0.5% 和 1% 的酵母膏，另用 1% 的酵母膏和 1% 的棉粕替代 2% 的鱼粉，配成 3 种试验饲料，分别命名为酵母膏 1、2、3 组。以基础饲料和添加 0.01% 噻乙醇的饲料作为对照，饲养平均初重约为 18g 的异育银鲫 8 周。结果表明，酵母膏 1 组和 2 组的增重率显著高于对照组，酵母膏 3 组增重率高于对照组但差异不显著。试验组增重率与噻乙醇组的差异也不显著。饲料系数和蛋白质效率与增重率结果相一致。在温度变化和抓捕胁迫下，摄食含酵母膏的试验组摄食量显著高于对照组，噻乙醇组的摄食量显著低于对照组。此外，噻乙醇组的转氨酶活性也显著高于对照组。酵母膏的促生长作用和抗应激作用可能与其所含的丰富的游离氨基酸、核苷酸、-葡聚糖、甘露寡糖等有关。研究结果提示酵母膏在异育银鲫饲料中的适宜添加量为 0.5%，在胁迫因子较多的情况下建议短时间添加至 1%。

关键词：异育银鲫，酵母膏，生长，胁迫

抗生素的滥用带来了一系列的负面影响(Baticados and Paclibare, 1992)，例如，导致了病原微生物的抗药性提高(Miranda and Zemelman, 2002)。在集约化养殖条件下鱼类所承受的胁迫因子较多，也容易感染疾病(Amar et al, 2000)，导致死亡率增高，养殖效益有损。为此，人们也采取了一系列应对措施。其中益生菌(Balcazar et al, 2006) 和微生态制剂比较受青睐。而酵母的抗病功效相对而言更突出，因为它提供了 β -葡聚糖(Sahoo and Mukherjee, 2002)，甲壳素(Vecchiarelli, 2000)和核苷(Li et al, 2004)。许多研究表明将酵母碎片添加到硬头鱥的饲料中显著提高了其免疫力(Ortuño et al, 2002; Rodríguez et al, 2003; Salinas et al, 2005; Díaz-Rosales et al, 2006)。

鲫鱼在我国养殖面积较广，产量较高，病害也较多，为此，我们以异育银鲫为材料研究了酵母膏对其生长和抗应激能力的影响。

1 材料和方法：

1.1 饲料饲料

试验用饲料原料主要有进口鱼粉、豆粕、菜粕、棉粕、面粉、鱼油、豆油、沸石粉、磷酸二氢钙，预混料等，配方如表 1 如示。分别向对照饲料中添加 0.5%、1% 的酵母制品酵母膏，另设一酵母膏替代鱼粉的试验组，即用 1% 的酵母膏和 1% 的棉粕替代 2% 的鱼粉 (如表 1)。试验所用酵母膏均由广州市信豚水产技术有限公司提供。酵母膏的主要营养成分和功能性物质含量如表 2 所示。此外，本实验还设计了 0.01% 的噻乙醇组作对照。

饲料成分如表 1。其中水分用 105 烘干称重法测定，粗蛋白用凯氏定氮法测定，脂肪用索氏抽提法测定，灰分用 550 灼烧法测定，钙用 EDTA 滴定法测定，磷用钒钼酸铵比色法测定 (AOAC, 1995)。

1.2 试验鱼及分组

试验用异育银鲫购自苏州吴江养殖场，购回后经驯养 1 周，选取 500 尾左右规格均为 18g 左右的鱼种，随机分配到 20 个 100cm \times 50cm \times 50cm 的 PVC 水族箱中，每箱放 15 尾进行生长试验。每种饲料随机喂养 4 缸鲫鱼。其余的鱼分放到 15 个单体循环控温水族箱中，每箱放 10 尾进行胁迫条件下的摄食试验，每种饲料投喂三箱鱼，即三个重复。

表 1 试验饲料配方

	对照	喹乙醇	酵母膏 1	酵母膏 2	酵母膏 3
饲料原料					
进口鱼粉	11	11	11	11	9
豆粕	16	16	16	16	16
菜粕	25	25	25	25	26
棉粕	20	20	20	20	21
面粉	21	21	20.75	20.50	20.50
鱼油	1	1	1	1	1
豆油	2	2	2	2	2
沸石粉	2	2	2	2	2
二氢钙	1	1	1	1	1
预混料	1	1	1	1	1
喹乙醇		0.01			
酵母膏			0.5	1	1
饲料成分					
水份	9.09	9.23	9.62	9.51	9.29
粗蛋白 (% DM)	38.0	37.7	38.2	38.1	37.9
粗脂肪 (% DM)	5.6	5.2	5.5	5.3	5.1
粗灰分 (% DM)	4.6	4.9	4.7	4.8	4.9

注：预混料配方：鱼多维 0.1%，包膜 C(93%)0.01%，鱼多矿 0.5%，氯化胆碱 0.15%，沸石粉 0.24%

表 2 酵母膏的主要营养物质和功能性物质含量 %

粗蛋白	21.60	氨基态氮	0.75
水分	58.10	核苷酸	3.2
β - 葡聚糖	8.25	甘露寡糖	3.78
	各氨基酸含量		游离氨基酸含量
天冬氨酸	2.0		0.36
谷氨酸	2.40		0.54
丝氨酸	0.90		0.18
组氨酸	0.39		0.07
甘氨酸	0.99		0.17
苏氨酸	1.07		0.10
丙氨酸	1.40		0.74
精氨酸	0.99		0.18
酪氨酸	0.66		0.11
缬氨酸	1.1		0.14
蛋氨酸	0.55		0.04
异亮氨酸	0.99		0.15
苯丙氨酸	0.85		0.17
亮氨酸	1.62		0.30
赖氨酸	1.38		0.17

1.3 饲养管理

生长试验期间,每天喂料三次,时间分别为 8:30 12:30 16:00 每次投喂时间持续 45分钟,如果投入的饲料 15分钟未吃完就不再投喂,详细记录每天的摄食量,根据摄食情况调整投饲量,做到适量投喂。

生长试验时所有水族箱在同一半开放式循环养殖系统中。养殖期间溶氧 > 6.0mg/L, 氨氮含量低于 0.14 mg/L, 自然光周期, 水温保持在 25 ± 0.5 , 饲养 8周。

胁迫摄食试验的胁迫因子为水温和抓捕。先将鱼在 25 下用试验饲料饲养 2周, 后将水温降至 15 , 3天后鱼已正常摄食, 接下来每隔 2天升温一次, 升温从上午 8:00 开始, 3小时内将水温升高 5 , 在 14:00 投饲, 观察 15分钟和 60分钟内的摄食量。试验最高水温为 30 。试验结束后称鱼重并以此计算摄食率。水温胁迫试验完成后自然降温至 25 , 在 25 下继续喂养 2周后进行抓捕胁迫试验, 即在上午 8:00 左右用捞海将鱼迅速捞取, 离水 10分钟再放回原水族箱, 12:00 投饵, 观察 15分钟和 60分钟内的摄食量, 24小时后取鱼称重, 以所称得体重计算抓捕状态的摄食率。

1.4 采样及分析

生长试验的鱼在饲养 8周后随机从每箱取 3尾鱼作全鱼分析, 分析方法同前。再随机从每箱取 6尾鲫鱼, 麻醉, 称重, 从尾静脉抽血, 合并血液在 15 下静置 3h, 2000r/min离心分离血清, 立即用全自动生化分析仪分析其甘油三酯 TG 总胆固醇 TC、高密度脂蛋白胆固醇 HDL、低密度脂蛋白胆固醇 LDL、血糖 GLU 谷丙转氨酶 ALT 谷草转氨酶 AST 所用试剂盒购自南京建成生物技术有限公司。

1.5 数据处理

所有数据以平均值 \pm 标准差表示, 各处理间差异经方差分析后 Duncan's 极差检验, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

由表 3 可见, 对照组增重率最低, 为 64.1%, 喹乙醇确实具有明显的促生长效果, 达到 72.0%, 显著高于对照组($P < 0.05$)。各试验组中酵母膏 1 组增重率最高, 为 74.5%, 不仅显著高于对照组($P < 0.05$), 比喹乙醇组也高 3.41%。酵母膏 2 组增重率(72.9%)也显著高于对照组($P < 0.05$), 并稍高于喹乙醇组。替代部分鱼粉的酵母膏 3 组增重率比对照组高 8.62%, 比酵母膏 1 组低 6.61%但差异都不显著。

从饲料系数来看, 酵母膏 1 组的饲料系数(1.82)最低, 显著低于对照组(2.13)和酵母膏 3 组(2.04) ($P < 0.05$)。酵母膏 2 组饲料系数(1.90)显著低于对照组($P < 0.05$), 与酵母膏 1 组和 3 组都没有显著差异。蛋白质效率的组间差异与饲料系数一致(表 3)。

表 3 酵母膏对鲫鱼增重率、饲料系数和蛋白质效率的影响

	条数	初重 g/尾	末重 g/尾	增重率 %	FCR	PER %
对照	15	17.5 \pm 1.2	28.7 \pm 1.9a	64.1 \pm 2.8a	2.13 \pm 0.09c	88.1 \pm 5.4a
喹乙醇	15	18.5 \pm 1.2	31.7 \pm 1.5b	72.0 \pm 4.0b	1.90 \pm 0.07ab	112.1 \pm 8.8bc
酵母膏 1	15	17.8 \pm 0.6	31.1 \pm 1.2b	74.5 \pm 4.1b	1.82 \pm 0.13a	119.9 \pm 12.1c
酵母膏 2	15	17.6 \pm 0.6	30.4 \pm 1.0ab	72.9 \pm 5.8b	1.90 \pm 0.14ab	112.7 \pm 15.8bc
酵母膏 3	15	18.3 \pm 0.6	31.1 \pm 1.2ab	69.6 \pm 2.5ab	2.04 \pm 0.07bc	100.2 \pm 9.6ab

由表4可见, 各组体成分、肌肉成分和肝成分没有显著差异。

从表5可见, 血清中的谷丙转氨酶、谷草转氨酶及肝组织中的谷草转氨酶活性有显著差

异($P<0.05$)。饲料中添加噻乙醇时鲫鱼血清的谷丙转氨酶(47.7 ± 7.2)和谷草转氨酶(398.0 ± 20.3)活性都显著高于对照组(38.3 ± 1.5 , 359.7 ± 54.9) ($P<0.05$), 肝胰腺中的谷草转氨活性(101.83 ± 3.91)也显著高于对照组(79.75 ± 4.26) ($P<0.05$)。添加酵母膏的试验组表现为酵母膏1组转氨酶活性较高, 但与对照组没有显著差异。酵母膏2级组和酵母膏3组的转氨酶活性都有所下降, 但与对照组差异不显著。

表6所示为鲫鱼胁迫下的摄食量和摄食速度。由表6可见, 三次水温变化胁迫下噻乙醇组摄食率都是最低, 添加酵母膏的试验组显示出较强的抗胁迫能力, 摄食率较高, 尤其是在酵母膏添加剂量较高时。在抓捕胁迫下各组鱼摄食率都较低, 以噻乙醇组15分钟内的摄食率最低, 其它各组差异不显著。60分钟内的摄食率仍是噻乙醇组最低, 显著低于其它各组($P<0.05$), 添加酵母膏的各组摄食率差异不显著, 并显著高于对照组($P<0.05$)。

3 讨论

从上述实验结果看, 酵母膏具有显著的促生长、保肝护肝及抗应激作用。这种作用可能来自于酵母膏中所含有的丰富的功能性物质。

由表2可见, 酵母膏中含有丰富的游离氨基酸, 约占总氨基酸含量的20%, 并含有3.2%的核苷酸。荻野珍吉(1987)曾指出鱼类的摄食刺激物中主要活性成分是氨基酸, 尹海富等(2002)在鲤、鲫鱼等杂食性鱼类饲料中添加0.15~0.30%的蛋氨酸及0.2~0.35%的赖氨酸对其摄食及生长有明显的促进作用, 而且能节约2~3%的蛋白质。梁萌青等(2000)报道, 甘氨酸、丙氨酸、组氨酸、精氨酸对真鲷都有诱食活性。潘训彬等(2008)报道将甘氨酸、脯氨酸、谷氨酸、蛋氨酸按0.1%、0.2%、0.3%添加到低蛋白甲鱼饲料中可显著提高甲鱼的摄食量。李星星等(2008)发现丙氨酸和甘氨酸对奥尼罗非鱼诱食效果极显著。一般而言, 两种或多种氨基酸混合使用比单一氨基酸的诱食效果好。富含游离氨基酸的动物提取液诱食效果比复合氨基酸更好。例如, 倪静和李英文(2008)报道对中华倒刺鲃的诱食效果为蛤蜊提取液>核苷酸+甜菜碱>0.3%甜菜碱+组氨酸+甜菜碱>0.2%甜菜碱, 0.5%甜菜碱>甘氨酸+甜菜碱>海带提取液、核苷酸+甘氨酸、0.1%甜菜碱, 0.4%甜菜碱>甘氨酸+甜菜碱+组氨酸, 甘氨酸>0.6%甜菜碱>核苷酸+组氨酸>核苷酸>甘氨酸+组氨酸>组氨酸>核苷酸+甘氨酸+组氨酸>大蒜提取液。而核苷酸有加强氨基酸的诱食效果的功效(梁萌青等, 2000)报道。因此, 本实现中观察到的酵母膏的促生长作用应该与其所含丰富的诱食物质有关。

本实验结果还表明, 酵母膏能显著提高异育银鲫在胁迫条件下的摄食量(60分钟内的摄食率)和摄食速度(15分钟内的摄食率)(表5)。这种抗应激能力的提高可能与酵母膏中所含的 β -葡聚糖和甘露寡糖有关。水产动物机体内巨噬细胞的表面上存在着一个 β -葡聚糖受体, β -葡聚糖与巨噬细胞结合后, 能激活巨噬细胞的活性, 继而诱发一系列的免疫反应, 从而使机体通过吞噬作用吸收、破坏和清除体内的病原微生物, 提高水产动物的免疫功能。甘露寡糖属于功能性低聚糖, 具有一定的免疫原性, 能刺激机体免疫应答, 增强动物体的细胞和体液免疫反应。此外, 能促进有益菌增殖, 改善肠道微生态, 提高机体免疫力, 在提高幼龄动物生长、降低死亡率方面有明显作用。这两种物质对异育银鲫(王锐等, 2008; 周艳萍等, 2008)、黄河鲤鱼(陈会昌, 2006)、草鱼(高春生等, 2006)、锦鲤(张耀武等, 2006)、鲤鱼(张红梅等, 2003)、凡纳滨对虾(王计刚等, 2008; 陈乃松等, 2007)、中国明对虾(宋理平等, 2006)、中国对虾(宋理平等, 2005)等水产动物的抗病力和免疫力的积极作用已得到证实。本试验中酵母膏组在胁迫条件下较高的摄食率一方面可能与其诱食性有关, 另一方面, 可能与抗病力和免疫力提升有关。



表4 酵母膏对异育银鲫体成分、肌肉成分、肝成分的影响

	全鱼体成分						肌肉成分			肝成分		
	水分	粗蛋白	粗脂肪	粗灰分	Ca	P	水分	粗蛋白	粗脂肪	水分	粗蛋白	粗脂肪
对照	71.8±0.8	54.1±1.6	24.1±1.9	12.2±0.8	3.9±0.4	3.9±0.4	76.5±0.2	79.5±1.9	6.6±0.8	68.1±0.5	21.5±0.8	12.8±0.6
喹乙醇	71.7±0.4	54.8±1.7	25.7±2.2	12.6±0.8	3.5±0.5	3.7±0.4	76.2±0.4	81.2±1.5	7.5±0.5	67.7±0.6	22.3±1.0	10.9±0.8
酵母膏 1	71.5±0.5	56.1±2.1	24.5±1.9	11.8±0.8	3.4±0.2	3.7±0.5	77.0±0.6	80.8±1.1	6.8±0.7	67.4±0.8	22.3±0.7	11.2±0.5
酵母膏 2	72.2±0.7	55.6±0.7	25.6±1.8	12.0±0.6	3.9±0.4	4.0±0.5	76.7±0.4	82.2±1.7	6.3±0.9	67.4±0.5	21.8±1.2	11.6±0.4
酵母膏 3	71.5±0.9	56.3±2.0	25.7±1.1	11.7±0.4	3.6±0.2	3.6±0.2	76.9±0.3	81.3±1.4	7.6±0.5	67.2±0.9	22.2±0.6	12.5±0.7

注：粗蛋白、粗脂肪、粗灰分、钙、磷含量均指在绝干物质中的百分比

表5 酵母膏对鲫鱼肝功能和血液指标的影响

	血清 ALT	血清 AST	TG	TCHO	HDL	LDL	肝 ALT	肝 AST
对照	38.3±1.5a	359.7±54.9a	4.54±0.75	7.96±0.78	4.78±0.35	0.79±0.05	641.0±35.2	79.8±4.3ab
喹乙醇	47.7±7.2b	398.0±20.3b	4.62±0.25	7.80±1.37	4.63±0.79	0.78±0.22	669.9±51.2	101.8±3.9b
酵母膏 1	39.0±3.5ab	327.3±46.7ab	4.26±0.61	7.67±1.11	4.05±0.40	0.62±0.11	669.8±106.4	80.0±10.0ab
酵母膏 2	30.7±5.7a	300.3±16.6a	5.20±0.58	8.61±0.66	4.72±0.68	0.88±0.07	657.0±52.6	66.4±18.7a
酵母膏 3	32.0±4.6a	295.0±50.2a	4.77±0.67	7.97±0.45	4.74±0.45	0.80±0.17	631.3±35.9	80.1±13.9ab

表6 水温变化和抓捕胁迫下酵母膏对异育银鲫摄食率的影响 %

	胁迫后 15min 内摄食率				胁迫后 60 分钟内摄食率			
	20	25	30	抓捕	20	25	30	抓捕
对照	1.36±0.04ab	1.27±0.05ab	1.30±0.08b	0.39±0.12ab	2.21±0.05ab	2.22±0.19ab	1.84±0.11a	1.06±0.04b
喹乙醇	1.25±0.05a	1.18±0.02a	1.05±0.18a	0.23±0.16a	2.15±0.13a	2.00±0.16a	1.64±0.10a	0.82±0.06a
酵母膏 1	1.29±0.10ab	1.35±0.10bc	1.39±0.13b	0.47±0.10b	2.30±0.06bc	2.35±0.18ab	2.21±0.18b	1.17±0.02c
酵母膏 2	1.40±0.02ab	1.42±0.05c	1.43±0.09b	0.43±0.12ab	2.35±0.04bc	2.42±0.25b	2.27±0.12b	1.19±0.04c
酵母膏 3	1.47±0.18b	1.43±0.08c	1.40±0.10b	0.43±0.07ab	2.36±0.07c	2.44±0.16b	2.29±0.16b	1.21±0.04c



添加噻乙醇也能使异育银鲫增重率显著提高,但关于血液和肝胰脏生理机理的部分检测指标显示,其转氨酶活性比对照组显著提高;在胁迫条件下其摄食量显著减少,提示噻乙醇导致了一定的肝损伤和抗应激能力的下降。与噻乙醇相比,使用酵母膏不仅能获得更高生长速度,还能显著提高鱼体的抗应激能力。

4 结论

酵母膏能显著提高异育银鲫生长速度和抗应激能力,其作用机理可能与其所含丰富的游离氨基酸、核苷酸、-葡聚糖、甘露寡糖等有关。酵母膏在异育银鲫饲料中的适宜添加量为0.5%,在胁迫因子较多的情况下建议短时间添加至1%。

参考文献

- [1] 程会昌, 霍军, 高春生. -葡聚糖酶在黄河鲤鱼饲料中的应用研究安徽农业科学 2006 (12): 2742-2745.
- [2] 陈乃松, 魏涛涛, 廖奕招. 蝇蛆粉和 -葡聚糖对凡纳滨对虾生长和免疫的影响 水产学报 2007 (6): 771-777.
- [3] 荻野珍吉著; 陈国铭, 黄小秋译. 鱼类的营养和饲料. 北京: 海洋出版社, (1987), 13-33.
- [4] 高春生, 王艳玲, 李建华, 杨国宇. -葡聚糖酶对草鱼生长性能和饲料消化率的影响 饲料研究 2006 (7): 41-42.
- [5] 李星星, 冷向军, 李小勤. 不同诱食剂对异育银鲫、奥尼罗非鱼作用效果的研究. 粮食与饲料工业, 2006 (11): 37-39
- [6] 梁萌青, 于宏, 常青, 陈超, 孙曙光. 不同诱食剂对3种鱼类诱食活性的研究. 2000 (1): 62-65.
- [7] 倪静, 李英文. 几种诱食剂对中华倒刺鲃的诱食活性的影响. 天津水产, 2008(2): 12-15.
- [8] 潘训彬, 苗玉涛, 王安利, 寇红岩. 低蛋白配合饲料添加氨基酸对中华鳖摄食的影响. 2008 (6): 27-28.
- [9] 宋理平, 周洪琪, 黄旭雄, 华雪铭. VC 及其与 -葡聚糖混合物对中国明对虾生长和免疫功能的影响. 饲料工业, 2006 (4): 35-39.
- [10] 宋理平, 黄旭雄, 周洪琪, 刘兴国. Vc、-葡聚糖和藻粉对中国对虾幼虾生长、成活率及免疫酶活性的影响. 上海水产大学学报, 2005 (3): 276-281.
- [11] 王计刚, 潘庆, 曹俊明, 赵红霞, 朱选, 周萌, 吴建开. -1,3-葡聚糖对凡纳滨对虾生长性能的影响. 现代渔业信息, 2008 (6): 3-5.
- [12] 王锐, 刘军, 刘辉宇, 帅继祥. 半乳甘露寡糖对异育银鲫幼鱼生长和非特异性免疫的影响. 上海水产大学学报, 2008(4): 502-506.
- [13] 尹海富, 孙辉, 韩英, 范兆廷. 单体氨基酸在水产饲料中的应用中国水产. 2002 (2): 68-69.
- [14] 张红梅, 张磊, 姜会民. 甘露寡聚糖对生长期鲤鱼生长性能及肠道菌群的影响. 中国饲料, 2003 (9): 22-30.
- [15] 张耀武, 屈文俊, 李文辉. (1,3)-葡聚糖对锦鲤非特异性免疫功能的影响. 淡水渔业, 2006 (4): 53-55.
- [16] 周艳萍, 黄峰, 张丽, 辜玲芳, 侯永清, 吴于明. -葡聚糖对异育银鲫生长性能和非特异性免疫的影响. 中国饲料, 2008 (13): 32-35.
- [17] Amar C E, Kiron V, Satoh S, Okamoto N and Watabane T. Effects of dietary -carotene



- on the immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, *Fisheries Science* **66** (2000), pp. 1068–1075.
- [18] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1995. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International. 16th edn. Association of Official Analytical Chemists. Arlington. VA.
- [19] Balcazar J L, Decamp O, Vendrell DI, Blas de and Ruiz-Zarzuela I. Health and nutritional properties of probiotics in fish and shellfish, *Microbial Ecology in Health and Disease* **18** (2006), pp. 65–70.
- [20] Baticados M C L , and Paclibare J O. The use of chemotherapeutic agents in aquaculture in the Philippines. In: M. Sharif, R.P. Subasinghe and J.R. Arthur, Editors, *Diseases in Asian aquaculture*, Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines (1992), pp. 531–546.
- [21] Díaz-Rosales P, Salinas I, Rodríguez A, Cuesta A, Chabrilón M and Balebona M C. Gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune response after dietary administration of heat-inactivated potential probiotics, *Fish and Shellfish Immunology* **20** (2006), pp. 482–492.
- [22] Li P, Lewis D H and Gatlin D M. Dietary oligonucleotide influences immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection, *Fish and Shellfish Immunology* **16** (2004), pp. 561–569.
- [23] McCracken V J. and Gaskins H R, Probiotics and the immune system. In: G.W. Tannock, Editor, *Probiotics: a critical review*, Horizon Scientific Press, Wymondham, UK (1999), pp. 85–112.
- [24] Miranda C D and Zemelman R. Bacterial resistance to oxytetracycline in Chilean salmon farming, *Aquaculture* **212** (2002), pp. 31–47.
- [25] Ortuño J, Cuesta A, Rodríguez A, Esteban M A and Meseguer J. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.), *Veterinary Immunology and Immunopathology* **85** (2002), pp. 41–50.
- [26] Rodríguez A, Cuesta A, Ortuño J, Esteban M A and Meseguer J. Immunostimulant properties of a cell wall-modified whole *Saccharomyces cerevisiae* strain administered by diet to seabream (*Sparus aurata* L.), *Veterinary Immunology and Immunopathology* **96** (2003), pp. 183–192.
- [27] Salinas I, Cuesta A, Esteban M A and Meseguer J. Dietary administration of *Lactobacillus delbrückii* and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead seabream cellular innate immune responses, *Fish and Shellfish Immunology* **19** (2005), pp. 67–77.
- [28] Sahoo P K and Mukherjee S C. Effect of dietary immunomodulation upon *Edwardsiella tarda* vaccination in healthy and immunocompromised Indian major carp (*Labeo rohita*), *Fish and Shellfish Immunology* **12** (2002), pp. 1–16.
- [29] Vecchiarelli A. Immunoregulation by capsular components of *Cryptococcus neoformans*, *Medical Mycology* **38** (2000), pp. 407–417.
- [30] Yasuda K and Taga N. A mass culture method for *Artemia salina* using bacteria as food, *Mer* **18** (1980), pp. 53–62.