

การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งทะเล

Use of immunostimulants in marine shrimps

มฤดี สันธิ^{1*}

Molruedee Sonthi^{1*}

บทคัดย่อ: การระบาดของโรดยังคงเป็นปัญหาหลักของอุตสาหกรรมกุ้งของประเทศไทย ซึ่งส่งผลให้ผลผลิตกุ้งในแต่ละปีลดลงเป็นอย่างมาก การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะนำมาใช้เพื่อควบคุมโรคโดยปราศจากการใช้ยาและสารเคมี การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเป็นการเพิ่มพารามิเตอร์ของระบบภูมิคุ้มกัน และเพิ่มการต้านทานต่อเชื้อก่อโรคในสิ่งมีชีวิตกลุ่มครัสเตเชียได้ นี้ได้ทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้องกับบทบาทของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันประเภทของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มีการศึกษาในกุ้งทะเลและวิธีการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ประสิทธิภาพของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับปริมาณ วิธีการใช้ และระยะเวลาในการใช้

คำสำคัญ: สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน, ภูมิคุ้มกันกุ้ง, การจัดการสุขภาพ

ABSTRACT: The disease outbreaks are still the major problem in shrimp industry of Thailand. As a result, the overall shrimp production dramatically reduced in each year. The use of immunostimulant is considered as alternative strategies and approaches to disease control or prevention without drugs and chemicals used. Immunostimulants were found to be effective in enhancing parameters of non-specific immunity and resistance to diseases of crustaceans. This review article describing the role of immunostimulants on shrimp immunity, the various types of immunostimulatory compounds commonly studied in marine shrimps and method in using immunostimulants. The efficiency of each immunostimulant varies depending on dose, route of administration and period of exposure.

Keywords: Immunostimulants, shrimp immunity, health management

บทนำ

กุ้งนับว่าเป็นอาหารทะเลที่มีผู้นิยมบริโภคมากเป็นอันดับต้นๆ ของโลกโดยประเทศไทยมีอุตสาหกรรมกุ้งเป็นอุตสาหกรรมส่งออกหลักที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศเป็นอย่างมาก เนื่องจากกุ้งทะเลสามารถนำรายได้เข้าประเทศในแต่ละปีเป็นมูลค่าหลายหมื่นล้านบาท (TFFA, 2014) ส่งผลให้วิธีการเลี้ยงกุ้งทะเลในปัจจุบันได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อเพิ่มผลผลิตให้ได้ปริมาณมาก การเลี้ยงกุ้งในระบบที่มีความหนาแน่นสูง มีการให้อาหารปริมาณมาก นำไปสู่การเพิ่มอินทรีย์สารในบ่อ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลง

คุณภาพน้ำ ทำให้กุ้งเกิดความเครียด อ่อนแอ ยอมรับเชื้อได้มากขึ้น แบคทีเรียก่อโรคกลุ่มฉวยโอกาส (opportunistic pathogens) ที่อยู่ในตัวกุ้งมีการปรากฏขึ้น อีกทั้งแบคทีเรียเหล่านี้อาจมีการเพิ่มจำนวนในน้ำและดิน ก่อให้เกิดการระบาดของโรคในกุ้งในเวลาต่อมา นอกจากนี้ยังมีการระบาดของโรคที่เกิดจากไวรัสและปรสิตด้วยเช่นกัน ซึ่งกำลังส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่อุตสาหกรรมกุ้งเป็นอย่างมาก (Thitamadee et al., 2016) วิธีการแก้ไขที่ผ่านมา และยังคงใช้กันอยู่จนถึงทุกวันนี้ก็คือ การนำยาปฏิชีวนะมาใช้กันอย่างกว้างขวาง การใช้ยาที่ไม่ถูกต้อง และขาดการควบคุมเช่นนี้ จึงนำมาซึ่งความสิ้นเปลือง แล้วยัง

¹ คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี จ.จันทบุรี

Faculty of Marine Technology, Burapha University, Chanthaburi

* Corresponding author: molruedee@buu.ac.th, mamsonthi@gmail.com

ก่อให้เกิดปัญหาตามมาได้แก่ ปัญหาการดื้อยาของจุลินทรีย์ต่างๆ ในสิ่งแวดล้อม เกิดปัญหาการตกค้างและการสะสมของยาในสัตว์น้ำ และมนุษย์ที่บริโภคสัตว์น้ำ (Capone et al., 1996) ท้ายที่สุดทำให้เกิดการกีดกันทางการค้า และปัญหาการส่งออกกุ้ง จากปัญหาดังกล่าวนี้นี้ จึงเริ่มมีการศึกษาถึงวิธีการต่างๆ ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกัน และควบคุมโรคในกุ้งแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยง และลดปริมาณการใช้ยาลง รวมทั้งวิธีการที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันประสบความสำเร็จในปลา โดยการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงของปลา (Sakai, 1999) และจากการที่กุ้งมีระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจงเช่นกัน การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่างๆ ในกุ้ง จึงเป็นวิธีที่ได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเป็นการส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันของกุ้ง โดยมีผลต่อการเพิ่มปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกัน และส่งเสริมการต้านทานเชื้อ หรือเพิ่มการรอดตายภายหลังการติดเชื้อก่อโรค (Barman et al., 2013) มีรายงานว่า การใช้สารประกอบที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจะสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดกระบวนการฟาโกไซโทซิส (phagocytosis) กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase activity) กิจกรรมการทำลายเชื้อ (antimicrobial activity) ของกุ้งได้ (Smith et al., 2003) นอกจากนี้ สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันสามารถเพิ่มการคืนกลับสู่สภาพเดิม (recovery state) ของระบบภูมิคุ้มกันภายหลังจากภาวะการกดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive states) ซึ่งมีสาเหตุมาจากความเครียดต่างๆ ได้ (Sakai, 1999) ในปัจจุบันมีรายงานการทดลองถึงการให้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งเป็นจำนวนมาก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการศึกษาเพื่อหาสารประกอบที่เหมาะสมและมีคุณสมบัติในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้ง เพื่อให้ได้สารประกอบที่มีประสิทธิภาพ วิธีการที่ถูกต้อง และราคาถูก บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันกุ้ง บทบาทของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มีการทดลองใช้ในกุ้งทะเล และวิธีการใช้ ซึ่งจะช่วยให้เข้าใจถึงความสำคัญของการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งทะเล เพื่อใช้เป็นทางเลือก

หนึ่งในการเพิ่มผลผลิตที่ก่อให้เกิดจากเลี้ยงกุ้งอย่างยั่งยืน และปลอดภัยตกค้างต่อไป

1. ระบบภูมิคุ้มกันกุ้ง และบทบาทของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มีต่อกุ้งทะเล

ระบบภูมิคุ้มกันของกุ้ง เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด (innate immunity) เป็นระบบที่ไม่สามารถจดจำความแตกต่างของสิ่งแปลกปลอมหรือจุลินทรีย์ต่างๆ ได้อย่างจำเพาะเจาะจง และไม่มีการสร้างแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อสิ่งแปลกปลอม ระบบภูมิคุ้มกันของกุ้งมี 2 ระบบ คือ ระบบภูมิคุ้มกันแบบที่มีการตอบสนองโดยเซลล์ (cellular immune response) ซึ่งเป็นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือด เช่น กระบวนการฟาโกไซโทซิส (phagocytosis) การผลิตซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion production) กระบวนการห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดใหญ่ (encapsulation) กระบวนการสร้างสารเมลานินที่เปลือก (melanisation) ที่เกี่ยวข้องกับระบบโปรเฟนอลออกซิเดส (prophenoloxidase cascade, proPO) และระบบภูมิคุ้มกันแบบที่มีการตอบสนองโดยการหลั่งสารน้ำ (humoral immune response) ที่เป็นการทำงานของโปรตีนต่างๆ ที่อยู่ในน้ำเลือด เช่น แอคคูลูตินิน (agglutinin) สารคล้ายไซโตไคน์และคอมพลีเมนต์ (cytokine and complement like factors) โมดูเลเตอร์ (modulators) สารที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด (clotting proteins) และสารน้ำที่เป็นผลิตภัณฑ์จากระบบโปรเฟนอลออกซิเดส ที่อยู่ในเซลล์เม็ดเลือด สารออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial peptide, AMPs) โดยทั้ง 2 ระบบนี้จะมีการทำงานร่วมกัน เพื่อทำหน้าที่ป้องกันและทำลายเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ตัวกุ้ง (Soderhall and Cerenius, 1992)

เนื่องจากกุ้งมีกระบวนการป้องกันตัวเอง โดยระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิดอยู่แล้ว ดังนั้นเป้าหมายของการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันก็เพื่อ กระตุ้นหรือเพิ่มระดับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ทั้งแบบเซลล์และแบบสารน้ำ ซึ่งการกระตุ้นจะเกิดในช่วงระยะเวลาหนึ่งๆ นำไปสู่การเพิ่มการป้องกันโรค และลดปัจจัยที่มีผลต่อการกดภูมิคุ้มกันของกุ้งในระหว่างการเลี้ยง (Sakai, 1999)

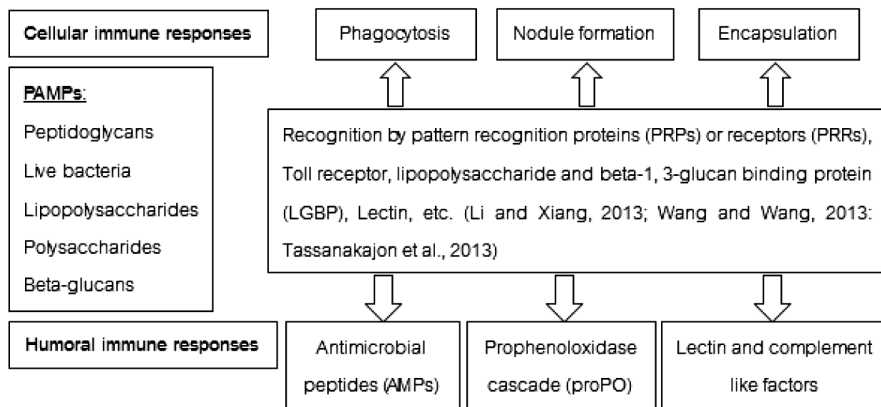


Figure 1 Simplified flow diagram of crustacean defense system responds to immunostimulant stimulations.

การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันใช้หลักการเปลี่ยนแบบ การติดเชื้อของกุ้ง หรือการให้สิ่งแปลกปลอมเข้าไปใน ร่างกายกุ้ง แต่เชื้อที่ใช้จะไม่สามารถก่อโรคในกุ้งได้ เช่น การใช้เชื้อตาย เชื้ออ่อนกำลังลง หรือเชื้อที่ไม่ก่อ โรค เป็นต้น ซึ่งคล้ายๆ กับการใช้วัคซีนในมนุษย์ (Smith et al., 2003) กุ้งจะมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันโดย การเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือด โปรตีน หรือเอนไซม์ ต่างๆ ในขณะนั้นๆ เพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ ร่างกาย จากรูปที่ 1 (Figure 1) สามารถอธิบายได้ว่า เมื่อมีการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดต่างๆ จะเกิด กลไกการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในกุ้ง โดยเริ่มจาก ปฏิกิริยาการจับกันระหว่าง Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs) ผ่านตัวรับ Pattern Recognition Proteins (PRPs) หรือ Pattern Recognition Receptors (PRRs) ที่อยู่บนผนังเซลล์เม็ดเลือดกุ้ง ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันสามารถจำแนกได้ว่าสิ่งนี้เป็น แผลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย จากนั้นโมเลกุลหรือ โปรตีนต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณ (signal molecules) จะถูกกระตุ้นให้ทำงาน โดยเซลล์เม็ดเลือด ที่อยู่ในระบบเลือดจะเคลื่อนที่เข้ามาในบริเวณที่มีการ รุกรานของสิ่งแปลกปลอมต่อมาจะเกิดการ ทำงานร่วม กันของระบบภูมิคุ้มกันโดยเซลล์เม็ดเลือด ได้แก่ ขบวนการฟาโกไซโทซิส ขบวนการโนดูลชัน กระบวนการห่อ หุ้มสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดใหญ่ และการทำงานของ สารที่อยู่ในน้ำเลือด ได้แก่ สารออกฤทธิ์ต้านจุลชีพ การ ทำงานของเอนไซม์ในระบบโปรตีนออกซิเดส และ สารน้ำต่างๆ (Wang and Wang, 2013) ดังนั้นเมื่อมี

การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันอย่างต่อเนื่อง กุ้งจะมีการ กระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นอย่าง ต่อเนื่องเช่นกัน เป็นการเตรียมความพร้อมในการรับมือ กับเชื้อก่อโรคที่จะบุกรุกเข้ามาในระหว่างการเลี้ยง

2. สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล

1) สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunostimulants) คือ สารประกอบใดๆ ก็ตาม ที่มีผลต่อกลไกการตอบ สอนของ ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ (Anderson, 1992) วัตถุประสงค์ของการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันคือ ส่งเสริมประสิทธิภาพการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน รักษาระดับ และเพิ่มระยะเวลาการทำงานของเซลล์ใน ระบบภูมิคุ้มกัน รวมทั้งลดภาวะของการกดภูมิคุ้มกัน ที่มีสาเหตุมาจากความเครียดในระหว่างเลี้ยง (Barman et al., 2013) การที่สัตว์น้ำมีความแข็งแรง และมีภูมิคุ้มกันโรคสูง จะช่วยลดความเสี่ยงของการ สูญเสียอันเนื่องมาจากโรคระบาดในช่วงเวลา หรือฤดู กาลนั้นๆ ได้รวมทั้งลดการระบาดของโรคประจำถิ่น และเชื้อก่อโรคที่แฝงในตัวกุ้งได้ (Smith et al., 2003) มีงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศ ที่รายงานถึงความ สำเร็จของการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งเพื่อควบคุม โรค ซึ่งส่วนใหญ่ได้มาจากสารประกอบจากสิ่งมีชีวิต (biological substances) ดังต่อไปนี้แบคทีเรียหรือ สารประกอบหรืออนุพันธ์ที่ได้จากแบคทีเรีย (bacterial derivatives) นักวิจัยได้มีการนำเซลล์แบคทีเรีย และ สารประกอบจากแบคทีเรีย ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ

มาใช้เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพื่อใช้ในการป้องกันและควบคุมโรคในกุ้ง เชลล์แบคทีเรียและสารประกอบหรืออนุพันธ์จากแบคทีเรียสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันกุ้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากมีโมเลกุลของโปรตีนตัวรับ PRRs หรือ PRPs ที่มีชื่อว่า lipopolysaccharide binding proteins (LGBPs) และ peptidoglycan recognition protein (PGRPs) อยู่บนผนังเซลล์ของเม็ดเลือดกุ้ง (Tassanakajon et al., 2013) ปัจจุบันมีการเตรียมเชื้อแบคทีเรีย เพื่อใช้เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันหลากหลายรูปแบบ เช่น แบคทีเรียที่มีชีวิต กลุ่มโปรไบโอติก แบคทีเรียที่ผลิตมาจากเชลล์แบคทีเรีย และสารสกัดที่ได้จากผนังเซลล์ของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ

- แบคทีเรียที่มีชีวิต (live bacteria) ในกลุ่มโปรไบโอติกที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ มีรายงานว่า กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่กินอาหารผสมแบคทีเรีย *Bacillus* S11 มีชบวนการฟาโกไซโทซิสเพิ่มขึ้น (Rengpipat et al., 2000) รวมทั้งกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ที่ได้รับแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* มีกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส และประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Vibrio alginolyticus* เพิ่มขึ้น (Chiu et al., 2007)

- แบคทีเรีย (bacterin) คือแบคทีเรียที่มีชีวิต แต่ทำให้อ่อนกำลังลง (attenuated bacterin) หรือแบคทีเรียที่ทำให้ตาย (killed bacterin) การใช้แบคทีเรียที่เตรียมมาจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* sp.) มีรายงานว่าให้ผลดีในระดับห้องปฏิบัติการ เช่น งานวิจัยของ Pais et al. (2008) พบว่าแบคทีเรียที่เตรียมจากเชื้อ *V. harveyi* สามารถเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันในเลือดกุ้งกุลาดำได้ นอกจากนี้กุ้งขาวและกุ้งกุลาดำที่ได้รับแบคทีเรียที่เตรียมจากเชื้อ *V. alginolyticus* มีกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส และกิจกรรมการต้านเชื้อเพิ่มขึ้น (Powell et al., 2011)

- โพลีแซ็กคาไรด์ (polysaccharide, LPS) คือส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ ซึ่ง LPS สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในกุ้งได้ โดยผ่านการทำงานของระบบโปรตีนฟีนอลออกซิเดส (Sritunyalucksana et al., 1999) Xian et al. (2009) รายงานว่า กุ้งขาวที่ได้รับ LPS มีปริมาณเม็ดเลือดชนิด

เซมิแกรนูลาร์ และแกรนูลาร์ลดลง กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส และอัตราการอดเพิ่มขึ้น

- เปปไทโดไกลแคน (peptidoglycan, PG) คือส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก ที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของกุ้งได้ เช่น กุ้ง *Marsupenaeus japonicus* ที่ได้รับ PG ที่สกัดได้จาก *Bifidobacterium thermophilum* ผสมอาหาร พบว่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์เซอรีนโปรตีเอส (serine protease) ในเม็ดเลือดเพิ่มขึ้น ซึ่งเอนไซม์นี้จะส่งเสริมการทำงานของระบบโปรตีนฟีนอลออกซิเดส (Rattnachai et al., 2005)

- 2) สารประกอบหรืออนุพันธ์ที่ได้จากยีสต์ (yeast derivatives) จากการค้นพบโมเลกุลของโปรตีนตัวรับ (PRRs หรือ PRPs) ที่มีชื่อว่า β -glucan binding proteins (β GBPs) ที่อยู่บนผนังเซลล์ของเม็ดเลือดกุ้ง (Soderhall and Cerenius., 1992) จึงมีการทดลองใช้ยีสต์เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันมากขึ้น นักวิทยาศาสตร์ทั้งในและต่างประเทศประสบผลสำเร็จในการใช้เบต้ากลูแคนบริสุทธิ์ที่สกัดจากผนังเซลล์ยีสต์ และการใช้ยีสต์ทั้งเซลล์เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น กุ้งขาวที่ได้รับเบต้ากลูแคนสกัดจากผนังเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ผสมอาหาร มีกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสและความสามารถในการต้านทานเชื้อ *V. harveyi* และ ไวรัสตัวแดงดวงขาว (White Spot Syndrome Virus, WSSV) เพิ่มขึ้น (Bai et al., 2014) นอกจากนี้กุ้งกุลาดำที่ได้รับเซลล์ยีสต์ *Candida aquatextoris* S527 ผสมอาหาร พบว่ามีการแสดงออกของสารออกฤทธิ์ต้านจุลชีพเพิ่มขึ้น (Babu et al., 2013)

- 3) สารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ (nutritional factors) สารเสริมอาหารที่มีส่วนช่วยในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และมีรายงานการใช้ในกุ้ง ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี แอสตาแซนทิน

- วิตามิน (vitamins) เป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อสัตว์น้ำ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ส่งเสริมการเจริญเติบโต และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีรายงานการใช้ วิตามินซี (Lee and Shiao, 2002) และ วิตามินอี (Lee and Shiao, 2004) ในกุ้ง โดยมีผลต่อการทำงานของอินเตอร์เฟอรอน (interferon) ซึ่งจะส่งผล

ต่อการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอล ออกซิเดส กิจกรรมของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (Superoxide dismutase activity, SOD) ในกุ้งขาว และกุ้งกุลาดำ (Qiao et al., 2011)

- แอสตาแซนทิน (astaxanthin) เป็นสารสีชนิดหนึ่งในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoid pigments) ทำหน้าที่ป้องกันเนื้อเยื่อในร่างกายสัตว์ไม่ให้ถูกทำลายเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน จากหน้าที่ดังกล่าวจึงมีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำด้วย กุ้งกุลาดำที่ได้รับแอสตาแซนทินจากยีสต์ *Phaffia rhodozyma* (นนทวิทย์ และคณะ, 2549) และ *Dunaliella* sp. (Supamattaya et al., 2005) โดยการผสมอาหาร มีผลทำให้กุ้งมีอัตราการรอด และความต้านทานต่อเชื้อเพิ่มขึ้น

4) สารสกัดจากสัตว์ (animal extracts) เช่น ไคติน/ ไคโตซาน ไคตินเป็นสารประกอบจำพวก โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) โดยพบมากในสิ่งมีชีวิตที่มีเปลือกหรือผนังแข็งหุ้มลำตัว เช่น กุ้ง ปู หอยแมลง นักวิทยาศาสตร์ได้รายงานถึงความสำเร็จในการใช้สารประกอบโพลีแซคคาไรด์หรือคาร์โบไฮเดรตเป็น สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยจะเข้าจับกับโมเลกุลของ โปรตีนตัวรับ ที่มีชื่อว่า lectin receptor ที่อยู่บนผนัง เซลล์ของเม็ดเลือดกุ้ง (Tassanakajon et al., 2013) ผลของการใช้ไคตินและไคโตซานในกุ้งกุลาดำพบว่า สามารถเพิ่มการเจริญเติบโต (Niu et al., 2013) และเพิ่มความต้านทานต่อการติดเชื้อ *V. alginolyticus* ในกุ้งขาวได้ (Wang and Chen, 2005)

5) สารสกัดจากพืช (plant extracts)

- สารสกัดจากพืชสมุนไพร (herbal extracts) การทดลองใช้สมุนไพรในการควบคุมโรคกุ้ง ประสบผลสำเร็จอย่างดีในหลายประเทศรวมทั้ง ประเทศไทย พืชและสมุนไพรสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ เนื่องจากมีสารสำคัญหรือสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ไกลซีร์ไรซิน (glycyrrhizin) ลิกวิริติน (liquiritin) และ กลาบรีดิน (glabridin) รวมทั้งสารออกฤทธิ์อื่นๆ เช่น แอนทราควิโนน (anthraquinone) ซาโปนิน (saponin) อะซาไดแรคติน (azadirachtin) เป็นต้น (ชนกันต์, 2013; Hai, 2015) กุ้งกุลาดำที่กินอาหารผสมสารสกัด

กลุ่มโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน (*Durio zibethinus*) (Pholdaeng and Pongsamart, 2010) และสาร polyvinylpyrrolidone ที่สกัดได้จากพญาขอ (*Clinacanthus nutans*) (Direkbusarakom et al., 1996) มีปริมาณเม็ดเลือดรวม กิจกรรมของเอนไซม์ ฟีนอลออกซิเดส และความต้านทานเชื้อแบคทีเรียและไวรัสเพิ่มขึ้น กุ้งขาวที่ได้รับสารกลุ่ม phenolic alkanon ที่สกัดได้จากขิง (*Zingerone officinale*) (Chang et al., 2012) สารซาโปนินที่สกัดจากยัคคา (*Yacca scidigera*) (Yang et al., 2015) และสารสกัดจากว่าน ท้องใบม่วง (*Gynura bicolor*) (Wu et al., 2015) โดยการผสมอาหารให้กิน มีปริมาณเม็ดเลือดรวม กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส และความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียและไวรัสตัวแดงดวงขาวเพิ่มขึ้น

- สารสกัดจากสาหร่าย (seaweed extracts) สาหร่ายประกอบด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น n-3 และ n-6 polyunsaturated fatty acid (PUFA) โพลีแซคคาไรด์ แร่ธาตุ วิตามิน และสารประกอบโพลีฟีนอล (Bertin, 2003) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น fucoidan, sodium alginate, sulfated galactan, laminarin และ carragenan จากงานวิจัยในกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำที่ได้รับ fucoidan ที่สกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum* sp. พบว่า มีกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส การผลิตซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน และความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียและไวรัสตัวแดงดวงขาวเพิ่มขึ้น (Immanuel et al., 2012; Kitikiew et al., 2013) รวมทั้งกุ้งขาววัยอ่อนที่ได้รับสาร sulfated galactans ที่สกัดจากสาหร่ายสีแดง *Gracilaria fisheri* ผ่านอาร์ทีเมีย มีกิจกรรมของเอนไซม์ ฟีนอลออกซิเดส การผลิตซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน และกิจกรรมการต้านเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวเพิ่มขึ้น (Wongprasert et al., 2014)

3. การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

จากคุณสมบัติของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ว่าระยะเวลาของการกระตุ้นมีขีดจำกัด หรือค่อนข้างสั้น ซึ่งต้องมีการกระตุ้นอย่างต่อเนื่อง (Hai, 2015) การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาถึง ปริมาณ รูปแบบที่ใช้ และระยะเวลาที่เหมาะสม เพื่อให้เกิด

ประสิทธิผลมากที่สุด จาก Table 1 ได้รวบรวมตัวอย่างงานวิจัยที่มีการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดต่างๆ ในกุ้ง ซึ่งมีวิธีการใช้ปริมาณ และระยะเวลาที่แตกต่างกัน

3.1 วิธีการใช้

การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยทั่วไปจะใช้เมื่อมีความเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อม หรือคุณภาพน้ำในระหว่างการเลี้ยง และในช่วงที่มีการระบาดของโรค เพื่อเตรียมพร้อมให้กุ้งสามารถรับมือกับเชื้อโรคที่จะเข้ามาในร่างกายได้ตลอดเวลา ในปัจจุบันนี้มีสารประกอบหลายชนิดที่มีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ วิธีการให้ก็มีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ต่างกัน นักวิทยาศาสตร์ได้ทดลองถึงการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่หลากหลายวิธี ได้แก่ การแช่ (immersion) การฉีด (injection) และการกิน โดยผสมอาหารเม็ดสำเร็จรูป (diet supplementation) และการส่งผ่านอาร์ทีเมีย (*Artemia*) ซึ่งวิธีการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้ง จะถูกพิจารณาร่วมกับระยะหรืออายุ และรูปแบบการเลี้ยงด้วย

การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยการฉีด จัดว่าเป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด เนื่องจากสารดูดซึมได้อย่างรวดเร็วและมั่นใจได้ว่าสารเข้าสู่ร่างกายสัตว์น้ำได้ตามปริมาณที่ใช้ แต่ข้อเสียของการฉีดคือต้องใช้แรงงานเป็นจำนวนมาก และก่อให้เกิดความเครียดได้สูง วิธีการแช่และการผสมอาหารให้กุ้งกินจึงเป็นวิธีที่นิยมมากกว่า เพราะใช้ได้กับกุ้งปริมาณมากๆ ไม่ก่อให้เกิดความเครียด และมีต้นทุนที่ไม่สูงมากนัก อย่างไรก็ตามสารออกฤทธิ์อาจมีผลละลายไปกับน้ำ และอาจถูกทำลายโดยกรดหรือน้ำย่อยในกระเพาะอาหารได้ ต่อมาจึงมีการใช้อาร์ทีเมียเป็นตัวนำส่งสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพื่อลดข้อจำกัดในข้างต้น ซึ่งก็ให้ผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งได้เช่นกัน (Wongprasert et al., 2014) แต่ขั้นตอนค่อนข้างยุ่งยาก เพราะต้องเลี้ยงอาร์ทีเมีย เนื่องจากวิธีการผสมอาหารเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปใช้จริงได้ในระดับฟาร์มดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการผลิตอาหารโดยกระบวนการต่างๆ เพื่อไม่ให้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันละลายในน้ำ หรือการใช้เทคโนโลยีนำส่งสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยไม่ถูกย่อยด้วยกรดในกระเพาะอาหารของกุ้ง

3.2 ปริมาณและระยะเวลาที่ใช้

ปริมาณและระยะเวลาของการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเป็นปัจจัยที่ต้องคำนึงถึง การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในปริมาณสูง-ต่ำเกินไป อาจลดประสิทธิภาพของการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน หรืออาจเกิดการกดการตอบสนองของภูมิคุ้มกันได้ (Jian and Wu, 2003) อย่างไรก็ตามผลของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันไม่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณ (dose) ที่ใช้ (Harikrishnan et al., 2011) ตัวอย่างเช่น Pholdaeng and Pongsamart (2010) ศึกษาผลของ polysaccharide gel ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน โดยการผสมอาหารให้กุ้งกินที่ระดับ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์/อาหาร 1 กิโลกรัม ผลการทดลองพบว่า ที่ 2 เปอร์เซ็นต์/อาหาร 1 กิโลกรัม กุ้งมีความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียและไวรัสได้สูงที่สุดอย่างไรก็ตามปริมาณในการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้องมีการศึกษาในสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันแต่ละชนิด เพื่อหาระดับที่เหมาะสมที่สุด และสามารถนำมาใช้ได้จริงในระดับฟาร์มต่อไป

ระยะเวลาในการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจะเกี่ยวข้องกับระยะเวลาในการเลี้ยงกุ้ง และความถี่ของการเกิดการระบาดของโรคในระหว่างเลี้ยง (Barman et al., 2013) การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในระยะเวลาที่ยาวนานอาจกดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้รายงานวิจัยในปัจจุบันนอกจากจะศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับปริมาณที่ต้องใช้ (dose) แล้ว ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับระยะเวลาการใช้ที่เหมาะสมอีกด้วย เช่น ทดลองของ ฉัทชนัน และคณะ (2549) พบว่ากุ้งขาวที่ได้รับเบต้ากลูแคน 3 ก./อาหาร 1 กก. นาน 4 สัปดาห์ มีระดับภูมิคุ้มกันสูงกว่ากลุ่มที่ให้ 2 และ 3 สัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และได้เสนอแนะไว้ว่า การให้เบต้ากลูแคน 1 เดือน หยุดให้ 1 เดือน ที่ความเข้มข้นเท่าเดิม จะมีผลในการเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันกุ้งให้สูงขึ้นตลอดช่วงระยะเวลาของการเลี้ยง รวมทั้งกุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมยีสต์สัปดาห์ละ 1 ครั้ง มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและความต้านทานไวรัส ตัวแดงดวงขาวได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการให้ทุกวัน การให้ 3 วัน/ครั้ง และ 10 วัน/ครั้ง (Babu et al., 2013) อย่างไรก็ตามระยะเวลาในการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจะขึ้นอยู่กับสารประกอบแต่ละชนิด วิธีการใช้ ชนิดและระยะของกุ้งซึ่งต้องมีการศึกษาต่อไป

Table 1 The application of immunostimulants in marine shrimp

Immunostimulants	Marine shrimps	Administration/ Dose/ Duration	Results (Increased parameters)	Resistance to pathogens	References
Lipopolysaccharide	<i>P. monodon</i> (2-4 g)	Diet/ 4µg/g of shrimp/meal/ 10 days	Antimicrobial peptide	<i>V. harveyi</i>	Runggrasamee et al. (2013)
Bacterin from <i>Bacillus</i> S11	<i>P. monodon</i> (10-12 g)	Diet/ 3%biomass/days/ 7 days	Phagocytosis activity, *proPO, antibacterial activity	<i>V. harveyi</i> and WSSV	Rengpipat et al. (2000)
β-glucan	<i>L. vannamei</i> (1-2 g)	Diet/ 0.1, 0.2%/kg/ 35 days	Antimicrobial peptide	WSSV	Bai et al. (2014)
Chitin, Chitosan	<i>L. vannamei</i> (10-12 g)	Inject/ chitin 6 µg/g, chitosan 4 µg/g/ 7 days	*THC, SOD, RB, phagocytosis activity	<i>V. alginolyticus</i>	Wang and Chen (2005)
Vitamin C	<i>P. monodon</i> (1-2 g)	Diet/ 2000, 10,000 mg/kg / 8 wk.	THC, O ₂ ⁻ , proPO, phagocytosis	ND	Lee and Shiau (2002)
<i>Sargassum hemiphyllum</i>	<i>P. vannamei</i> (1-2 g)	Immersion (300 mg/L)	Phagocytosis activity	WSSV	Immanuel et al. (2012)
<i>Gracilaria fisheri</i>	<i>P. monodon</i> (10-15 g)	Inject/ 1 mg/ml of ethanol/ 3, 7, and 14 days	THC, RB, proPO, lysozyme	WSSV	Wongprasert et al. (2014)
Sulfated galactins	<i>P. monodon</i> (5-8 g)	Enriched Artemial/ 200µg/ml/ 7 days	THC, SOD, O ₂ ⁻ , proPO	<i>V. alginolyticus</i> and WSSV	Huynh et al. (2011)
<i>Gynura bicolor</i>	<i>L. vannamei</i> (1-2 g)	Diet/ 1, 2%/kg/ 7-28 days	THC, proPO, SOD, RB	<i>V. harveyi</i> and WSSV	Pholdaeng and Pongsawat (2010)
Zingerone	<i>L. vannamei</i> (1-2 g)	Diet/ 2.5 and 5 mg/kg/ 56 days	THC, SOD	<i>V. alginolyticus</i>	Wu et al. (2015)

* THC= Total haemocyte count, proPO= Prophenoloxidase activity, SOD= Superoxide dismutase activity, RB= Respiratory burst activity, O₂⁻= Superoxide anion, ROS= Reactive oxygen species **ND= Non-detected

สรุป

การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง และมีความเป็นไปได้สูงในการนำมาใช้ในการป้องกัน และลดความเสี่ยงในการเกิดโรคในกุ้งทะเลทั้งที่เลี้ยงในระบบโรงเรือน และในระดับฟาร์ม เนื่องจากมีความปลอดภัยมากกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะ และสารเคมี สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทำหน้าที่ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะทั้งแบบเซลล์และแบบสารน้ำ เพื่อให้สามารถป้องกันเชื้อก่อโรคได้หลากหลายชนิดที่เข้าสู่ร่างกายได้ในเวลาเดียวกัน ในปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดต่างๆ เป็นจำนวนมาก เพื่อค้นหาสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มีประสิทธิภาพสูง ราคาถูก รวมทั้งมีการศึกษาถึงระยะเวลาและวิธีการใช้ที่เหมาะสม เพื่อให้สามารถนำมาใช้ได้จริง อย่างไรก็ตาม การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเป็นเพียงการส่งเสริมให้กุ้งมีความพร้อมในการป้องกันตัวเองเท่านั้น ซึ่งต้องทำควบคู่ไปกับการจัดการสิ่งแวดล้อมที่ดี มีความสมดุล การดูแลเอาใจใส่ตลอดระยะเวลาเลี้ยงด้วยเช่นกัน

เอกสารอ้างอิง

- ชนกันต์ จิตต์มนัส. 2013. ผลของผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรต่อภูมิคุ้มกันสัตว์น้ำ. *KKU Res. J.* 18: 257-269.
- นนทวิทย์ อารีย์ชน, ดวงใจ กิตติปริชากุล, และ ชุมพล ศรีทอง. 2549. การใช้แอคติโนแซนตินจากยีสต์ *Phaffia rhodozyma* กับกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* Fabricius. น. 252-265. ใน: การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 สาขาประมง 30 ม.ค.-2 ก.พ. 2549. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- นิตยา อัมเจริญ, นนทวิทย์ อารีย์ชน, ชุมพล ศรีทอง, และ นิติ ชูเชิด. 2549. การใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius). น. 214-228. ใน: การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 สาขาประมง 30 ม.ค.-2 ก.พ. 2549. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Anderson, D.P. 1992. Immunostimulant, adjuvant, and vaccine carriers in fish: Application to aquaculture. *Ann Rev Fish Dis.* 2: 281-307.
- Babu, D.T., S.P. Anthony, S.P. Joseph, A.R. Bright, and R. Philip. 2013. Marine yeast *Candida aquatextoris* S527 as a potential immunostimulant in black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *J. Invertebr Pathol.* 112: 243-252.
- Barman, D., P. Nen, S. C. Mandal, and V. kumar. 2013. Immunostimulants for aquaculture health management. *J Marine Sci Res Dev.* 3: 134. doi: 10.4172/2155-9910.1000134.
- Bai, N., M. Gu, W. Zhang, W. Xu, and K. Mai. 2014. Effects of β -glucan derivatives on the immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against white spot syndrome virus infection. *Aquaculture.* 426-427: 66-73.
- Burtin, P. 2003. Nutritional value of seaweeds. *J. Agric. Food Chem.* 2: 498-503.
- Capone, D.G., D.P. Weston, V. Miller, and C. Shoemaker. 1996. Antimicrobial residues in marine sediments and invertebrates following chemotherapy in aquaculture. *Aquaculture.* 145: 55-75.
- Chang, Y-P., C-H.Liu, C-C. Wu, C-M. Chiang, J-L. Lian, and S-L. Hsieh. 2012. Dietary administration of zingerone to enhance growth, non-specific immune response, and resistance to *Vibrio alginolyticus* in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) juveniles. *Fish & Shellfish Immunol.* 32: 284-290.
- Chiu, C.H., Y.K. Guu, C.H. Liu, T.M. Pan, and W. Cheng. 2007. Immune responses and gene expression in white shrimp *Litopenaeus vannamei* induced by *Lactobacillus plantarum*. *Fish & Shellfish Immunol.* 2: 364-377.
- Direkbusarakom, S., A. Herunsalee, M. Yoshimizu, and Y. Ezura. 1996. Protective efficacy of *Clinacanthus nutans* on yellow-head disease in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Fish Pathol.* 33: 404-410.
- Hai, V.N. 2015. The use of medicinal plants immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture.* 446: 88-96.
- Harikrishnan, R., C. Balasundaram, and M-S.Heo. 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture.* 317: 1-15.
- Immanuel, G., M. Sivagnanavelmurugan, T. Marudhupandi, S. Radhakrishnan, and A. Palavesam. 2012. The effect of fucoidan from brown seaweed *Sargassum wightii* on WSSV resistance and immune activity in shrimp *Penaeus monodon* (Fab). *Fish & Shellfish Immunol.* 32: 551-564.

- Janeway, C. A., and R. Medzhitov. 2002. Innate immune recognition. *Ann Rev Immunol.* 20: 197-216.
- Jian, J. and Z. Wu. 2003. Effects of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity and disease resistance of large yellow croaker, *Pseudoscia nacrocea* (Richardson). *Aquaculture*, 218: 1-9.
- Kitikiew, S., J.-C. Chen, D. F. Putra, Y.-C. Lin, S.-T. Yeh, and C.-H. Liou. 2013. Fucoidan effectively provokes the innate immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against experimental *Vibrio alginolyticus* infection. *Fish & Shellfish Immunol.* 34: 280-290.
- Lee, M.-H., and S.-Y. Shiau. 2002. Dietary vitamin C and its derivatives affect immune responses in grass shrimp, *Penaeus monodon*. *Fish & Shellfish Immunol.* 12: 119-129.
- Lee, M.S., and S.-Y. Shiau. 2004. Vitamin E requirements of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on non-specific immune responses. *Fish & Shellfish Immunol.* 16: 475-485.
- Li, F., and J. Xiang. 2013. Recent advances in researches on the innate immunity of shrimp in china. *Dev Comp Immunol.* 39: 11-26.
- Marudhupandi, T., and D. Inbakandan. 2015. Polysaccharides in aquatic diseases management. *Fish Aquac.* J. 6: 135. Doi: 10.4172/2150-3508.1000135.
- Niu, J., H.-Z. Lin, S.-G. Jiang, X. Chen, K.-C. Wu, Y.-J. Liu, S. Wang, and L.-X. Tian. 2013. Comparison of effect of chitin, chitosan, chitosan oligosaccharide and N-acetyl-D-glucosamine on growth performance, antioxidant defenses and oxidative stress status of *Penaeus monodon*. *Aquaculture*. 372-375: 1-8.
- Niu, J., X. Chen, X. Lu, S.-G. Jiang, H.-Z. Lin, Y.-J. Liu, Z. Huang, J. Wang, Y. Wang, and L.-X. Tian. 2015. Effects of different levels of dietary wakame (*Undaria pinnatifida*) on growth, immunity and intestinal structure of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture*. 435: 78-85.
- Pais, R., R. Khushivamani, I. Karunasagar, and I. Karunasagar. 2008. Effect of immunostimulants on the haemolymph haemagglutinins of tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture Res.* 39:1339-1345.
- Pholdaeng, K., and S. Pongsamart. 2010. Studies on the immunomodulatory effect of polysaccharide gel extracted from *Durio zibethinus* in *Penaeus monodon* shrimp against *Vibrio harveyi* and WSSV. *Fish & Shellfish Immunol.* 28: 555-561.
- Powell, A., E. C. Pope, F. E. Eddy, E. C. Roberts, R. J. Shields, M. J. Francis, P. Smith, S. Topps, J. Reid, and A. F. Rowley. 2011. Enhanced immune defenses in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) post-exposure to a vibrio vaccine. *J Invert Pathol.* 107: 95-99.
- Qiao, J., Z. Du, Y. Zhang, H. Du, L. Guo, M. Zhong, J. Cao, and X. Wang. 2011. Proteomic identification of the related immune-enhancing proteins in shrimp *Litopenaeus vannamei* stimulated with vitamin C and Chinese herbs. *Fish & Shellfish Immunol.* 31: 736-745.
- Rattanachai, A., I. Hironoa, T. Ohiraa, Y. Takahashib, and T. Aoki. 2005. Peptidoglycan inducible expression of a serine proteinase homologue from kuruma shrimp (*Marsupenaeus japonicus*). *Fish & Shellfish Immunol.* 18: 39-48.
- Rengpipat, S., S. Rukpratanporn, S. Piyatiratitivorakul, and P. Menasaveta. 2000. Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus S11*). *Aquaculture*. 191: 271-288.
- Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*. 172: 63-92.
- Smith, V.J., J.H. Brown, and C. Hauton. 2003. Immunostimulation in crustacean: does it really protect against infection? *Fish & Shellfish Immunol.* 15(1): 71-90
- Soderhall, K and L. Cerenius. 1992. Crustacean immunity. *Annu.Rev.Fish Dis.* 2: 3-23.
- Sritunyalucksana, K., P. Sithisarn, B. Withayachumnarnkul, and T.W. Flegel. 1999. Activation of prophenoloxidase, agglutinin and antibacterial activity in haemolymph of the black tiger prawn, *Penaeus monodon*, by immunostimulants. *Fish & Shellfish Immunol.* 9: 21-30.
- Sung, H. H., H. J. Chang, C. H. Her, J. C. Chang, and Y. L. Song. 1998. Phenoloxidase activity of hemocytes derived from *Penaeus monodon* and *Macrobrachium rosenbergii*. *J Invert Pathol.* 71: 26-33.
- Supamattayaa, K., S. Kiriratnikoma, M. Boonyaratpalinb, and L. Borowitzka. 2005. Effect of a *Dunaliella* extract on growth performance, health condition, immune response and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*. 248: 207- 216.

- Tassanakajon, A., K. Somboonwiwat, P. Supungul, and S. Tang. 2013. Discovery of immune molecules and their crucial functions in shrimp immunity. *Fish and Shellfish Immunol.* 34: 954-967.
- TFFA Newsletter. 2014. Available: <http://goo.gl/ZKGBYh>. Accessed Jul. 15, 2015.
- Thitamadee, S., A.Prachumwat, J. Srisala, P. Jaroenlak, P. V. Salachan, K. Sritunyalucksana, T. W. Flegel, and O. Itsathitphaisarn. 2016. Review of current disease threats for cultivated penaeid shrimp in Asia. *Aquaculture.* 452: 69-87.
- Wang, S. H., and J-C. Chen. 2005. The protective effect of chitin and chitosan against *Vibrio alginolyticus* in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunol.* 19: 191-204.
- Wang, X. W., and J. X. Wang. 2013. Pattern recognition receptors acting in innate immune system of shrimp against pathogen infections. *Fish & Shellfish Immunol.* 34: 981-989.
- Wongprasert, K., T. Rudtanatip, and J. Praiboon. 2014. Immunostimulatory activity of sulfated galactans isolated from the red seaweed *Gracilaria fisheri* and development of resistance against white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp. *Fish & Shellfish Immunol.* 36: 52-60.
- Wu, C-C., Y-P. Chang, J-J. Wang, C-H. Liu, S-L. Wong, C-M. Jiang, and S-L. Hsieh. 2015. Dietary administration of *Gynura bicolor* (Roxb. Willd.) DC water extract enhance immune response and survival rate against *Vibrio alginolyticus* and white spot syndrome virus in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunol.* 42: 25-33.
- Xian, J-A., A-L. Wang, J-X. Tian, J-W. Huang, C-X. Ye, W-N. Wang, and R-Y. Sun. 2009. Morphologic, physiological and immunological changes of haemocytes from *Litopenaeus vannamei* treated by lipopolysaccharide. *Aquaculture.* 298: 139-145.
- Yang, Q-H., B-P. Tan, X-H. Dong, S-Y. Chi, and G-Y. Liu. 2015. Effect of different levels of *Yucca schidigera* extract on the growth and nonspecific immunity of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and on culture water quality. *Aquaculture.* 439: 39-44.