

## การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งทะเล

### Application of immunostimulants in marine shrimps

**บทคัดย่อ:** ปัญหาด้านการระบาดของโรคในกุ้งทะเล เป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันน่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะนำมาใช้เพื่อควบคุมโรค โดยปราศจากการใช้ยาและสารเคมี บทความนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้องกับบทบาทของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้งทะเล ซึ่งจะช่วยให้เข้าใจถึงความสำคัญของการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้ง สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มีรายงานการใช้ในกุ้ง เช่น โปรไบโอติก เบตา-กลูแคน วิตามิน ไคติน ไคโตซาน สารสกัดจากพืช สมุนไพร และสาหร่าย เป็นต้น ในขณะนี้กำลังมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงรูปแบบและวิธีการที่เหมาะสม ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดเมื่อนำมาใช้ในระดับฟาร์ม

**คำสำคัญ:** สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน, ภูมิคุ้มกันกุ้ง, การจัดการสุขภาพ

**Abstract:** The problem of disease outbreaks of marine shrimp occurred frequently and caused severe economic loss. The use of immunostimulant is considered as alternative strategies and approaches to disease control/ prevention without drugs and chemicals used. The objective of this paper is to review the role and application of immunostimulants which lead to understand the beneficial effects of immunostimulants in shrimp. Immunostimulants are used in cultured shrimp such as probiotics, beta-glucan, vitamins, chitin, chitosan, and extract substance from plants, herbs and seaweeds. Nowadays, the research is ongoing to find out the appropriate and most effective of administration when applied at the farm level.

**Keywords:** Immunostimulants, shrimp immunity, health management

### บทนำ

กุ้งทะเลเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถนำรายได้เข้าประเทศในแต่ละปีเป็นมูลค่าหลายหมื่นล้านบาท (TFFA Newsletter, 2014) แต่ในปัจจุบันอุตสาหกรรมกุ้งไทยประสบกับปัญหาการแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อทั้งกลุ่มแบคทีเรีย และไวรัส ส่งผลให้ปริมาณผลผลิตกุ้งในประเทศลดลง เกษตรกรจึงมีการใช้ยาและสารเคมีเพื่อป้องกันเชื้อมากขึ้น แต่การใช้ที่ไม่ถูกต้อง และปริมาณสูง ๆ ก่อให้เกิดการดื้อยา และตกค้างในเนื้อเยื่อกุ้ง ทำให้เกิดปัญหาการตรวจพบการตกค้างของยาปฏิชีวนะในกุ้งแช่แข็ง และแปรรูปที่ส่งออก ซึ่งมีผลกระทบต่อมูลค่าการส่งออกของประเทศไทย และจากข้อจำกัดด้านภูมิคุ้มกันของกุ้ง ที่มีระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเท่านั้น ทำให้การใช้

ข้อคิดเห็น[c1]: ไม่ควรบอก

ข้อคิดเห็น[c2]: การเลี้ยง

ข้อคิดเห็น[c3]: ?

ข้อคิดเห็น[c4]: ??

ข้อคิดเห็น[c5]: ของเชื้อโรค

ข้อคิดเห็น[c6]: ปรับการเขียน

25 วัคซีนในกึ่งยังไม่มียุทธศาสตร์เท่าที่ควร จากปัญหาข้างต้นจึงเกิดคำถามว่า ทำอย่างไรจึงจะลดการตายของกึ่ง และลด  
26 การเสียชีวิตได้ การจัดการสุขภาพโดยใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจึงน่าจะเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตกึ่งได้  
27 โดยใช้หลักการป้องกันเพื่อไม่ให้กึ่งป่วย หรืออ่อนแอจนมีความสามารถในการรับเชื้อได้ง่าย บทความนี้มีวัตถุประสงค์  
28 เพื่อทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันกึ่ง การทำงานของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันใน  
29 กึ่งทะเล ซึ่งจะทำให้เข้าใจถึงความสำคัญของการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกึ่ง เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตที่  
30 ก่อให้เกิดการเลี้ยงกึ่งอย่างยั่งยืน และปลอดภัยต่อไป

ข้อคิดเห็น[C7]: เพราะอะไร ควรให้เหตุผล  
ข้อคิดเห็น[C8]: ปรับภาษาการเขียน  
ข้อคิดเห็น[C9]: ??

## 31 2. ภูมิคุ้มกันกึ่ง และบทบาทของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มีต่อกึ่งทะเล

32 ระบบภูมิคุ้มกันของกึ่ง เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด (innate immunity) เป็นระบบที่ไม่สามารถจดจำ  
33 ความแตกต่างของสิ่งแปลกปลอมหรือจุลชีพต่าง ๆ ได้อย่างจำเพาะเจาะจง และไม่มีการสร้างแอนติบอดีที่มีความจำเพาะ  
34 ต่อสิ่งแปลกปลอม ระบบภูมิคุ้มกันของกึ่งมี 2 ระบบ คือ ระบบภูมิคุ้มกันแบบที่มีการตอบสนองโดยเซลล์ (cellular  
35 immune response) ซึ่งเป็นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือด เช่น กระบวนการฟาโกไซโทซิส (phagocytosis activity) การ  
36 ผลิตซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion activity) กระบวนการห่อหุ้มสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดใหญ่  
37 (encapsulation) กระบวนการเกิดจุดสีดำที่เปลือก (melanisation) ที่เกี่ยวข้องกับระบบโปรตีนออกซิเดส  
38 (prophenoloxidase cascade, proPO) กระบวนการกำจัดสารพิษออกจากเซลล์ (cytotoxic reactions) และแบบที่มี  
39 การตอบสนองโดยการหลั่งสารน้ำ (humoral immune response) ที่เป็นการทำงานของโปรตีนต่าง ๆ ที่อยู่ในน้ำเลือด เช่น  
40 แอคคลูตินิน (agglutinin) สารคล้ายไซโตไคน์ (cytokine like factors) โมดูเลเตอร์ (modulators) สารที่เกี่ยวข้องกับการ  
41 แข็งตัวของเลือด (clotting proteins) และสารน้ำที่เป็นผลิตภัณฑ์จากระบบโปรตีนออกซิเดส ซึ่งอยู่ในเซลล์เม็ดเลือด  
42 สารออกฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial peptide, AMPs) โดยทั้ง 2 ระบบนี้จะมีการทำงานร่วมกัน เพื่อทำหน้าที่ป้องกัน  
43 และทำลายเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ตัวกึ่ง (Soderhall and Cerenius, 1992)

ข้อคิดเห็น[C10]: สร้างสารเมลานิน  
ข้อคิดเห็น[C11]: ??  
ข้อคิดเห็น[C12]: ระบบภูมิคุ้มกัน

44 การทำงานของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน คือส่งเสริมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด ที่รวมทั้ง  
45 ภูมิคุ้มกันแบบเซลล์ และภูมิคุ้มกันโดยการหลั่งสารน้ำ ซึ่งการกระตุ้นจะเกิดในช่วงระยะเวลาหนึ่ง ๆ ทำให้เกิดการ  
46 เปลี่ยนแปลงของเซลล์หรือสารในระบบภูมิคุ้มกันไปในทางที่เพิ่มขึ้น (immune-compromise) โดยมีผลต่อการเพิ่มการ  
47 ป้องกันโรค และลดปัจจัยที่มีผลต่อการกดภูมิคุ้มกัน (immunosuppression) ในระหว่างการเลี้ยง (Sakai, 1999)

ข้อคิดเห็น[C13]: ขาดความเชื่อมโยง  
ข้อคิดเห็น[C14]: ?

48 เมื่อมีการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ก็จะเกิดกลไกการตอบสนองของทางภูมิคุ้มกันในกึ่ง โดยเริ่มจากการจับกันระหว่าง  
49 Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs) ผ่านตัวรับ Pattern Recognition Proteins (PRPs) หรือ Pattern  
50 Recognition Receptors (PRRs) ที่อยู่บนผนังเซลล์เม็ดเลือดกึ่ง ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันสามารถจำแนกได้ว่าสิ่ง  
51 แปลกปลอมนี้อาจเป็นอันตราย (danger signal) จากนั้นโมเลกุลหรือโปรตีนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณ (signal  
52 molecules) จะถูกกระตุ้นให้ทำงาน เซลล์เม็ดเลือดที่อยู่ในระบบเลือดจะเคลื่อนที่เข้ามาในบริเวณที่มีการรุกรานของสิ่ง  
53 แปลกปลอม โดยปฏิกิริยา chemotaxis ต่อมาจะเกิดกระบวนการกำจัด หรือทำลายสิ่งแปลกปลอมออกจากร่างกาย โดย  
54 ทำงานร่วมกันของระบบภูมิคุ้มกันโดยเซลล์เม็ดเลือด และสารที่อยู่ในน้ำเลือด (Wang and Wang 2013) เมื่อมีการใช้สาร  
55 กระตุ้นภูมิคุ้มกันอย่างต่อเนื่อง กึ่งก็จะมีกระบวนการกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองของทางภูมิคุ้มกันอย่างต่อเนื่องเช่นกัน

ข้อลิตหั้น[C15]: ให้ตรวจสอบการเขียนอ้างอิงที่ถูกต้อง

56 3. สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกึ่งทะเล

57 สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน คือ ยา สิ่งมีชีวิต สารเคมี หรือสารประกอบใด ๆ ก็ตาม ที่มีผลต่อกลไกการตอบสนองของ  
58 ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ (Anderson, 1992) วัตถุประสงค์ของการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันคือส่งเสริมประสิทธิภาพการ  
59 ตอบสนองของทางภูมิคุ้มกัน รักษาระดับ และเพิ่มระยะเวลาการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน รวมทั้งลดผลกระทบของ  
60 การกดภูมิคุ้มกัน ที่มีสาเหตุมาจากความเครียดในระหว่างเลี้ยง (Barman et al., 2013) การที่สัตว์น้ำมีความแข็งแรงและมี  
61 ภูมิคุ้มกันโรคสูง จะช่วยลดความเสี่ยงของการสูญเสียอันเนื่องมาจากโรคระบาดในช่วงเวลานั้นได้ มีงานวิจัยทั้งในและ  
62 ต่างประเทศ ที่รายงานถึงความสำเร็จของการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์เพื่อควบคุมโรค สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มีการ  
63 ทดลองในกึ่งมีหลายประเภทซึ่งส่วนใหญ่ได้มาจากสารประกอบจากสิ่งมีชีวิต (biological substances) ดังต่อไปนี้

ข้อลิตหั้น[c16]: (eng)

64 1) สารประกอบหรืออนุพันธ์ที่ได้จากแบคทีเรีย (bacterial derivatives) นักวิจัยได้มีการนำสารประกอบจาก  
65 แบคทีเรีย ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ มาใช้เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพื่อใช้ในการป้องกันและควบคุมโรคในกึ่ง  
66 สารประกอบหรืออนุพันธ์จากแบคทีเรียสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันกึ่งได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากมีโมเลกุลของโปรตีน  
67 ตัวรับ PRRs หรือ PRPs ที่มีชื่อว่า lipopolysaccharide binding proteins (LGBPs) และ peptidoglycan recognition  
68 protein (PGRPs) อยู่บนผนังเซลล์ของเม็ดเลือดกึ่ง (Tassanakajonet al., 2013) ปัจจุบันมีการเตรียมเชื้อแบคทีเรีย เพื่อ  
69 ใช้เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันหลากหลายรูปแบบ เช่น **แบคทีเรีย** ที่ผลิตมาจากเซลล์แบคทีเรีย และสารสกัดที่ได้จากผนัง

70 เซลล์ของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ รวมทั้งแบคทีเรียที่มีประโยชน์ที่ได้จากกระบวนการหมัก (probiotic  
71 bacteria) (เอกสารอ้างอิง?)

72 - Bacterin คือแบคทีเรียที่มีชีวิต แต่ทำให้อ่อนกำลังลง (attenuated bacterin) หรือแบคทีเรียที่ทำให้ตาย (killed

73 bacterin) แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ใช้กระตุ้นภูมิคุ้มกันกึ่ง นียมเตรียมมาจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม vibrio (*Vibrio* sp.) ซึ่งมี

ข้อคิดเห็น[c17]: สาเหตุ?

74 รายงานว่าให้ผลดีในระดับห้องปฏิบัติการ เช่น งานวิจัยของ Pais et al. (2008) พบว่าแบคทีเรียที่เตรียมจากเชื้อ *Vibrio*

75 *harveyi* สามารถเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันในเลือดกึ่งกุลาดำได้ นอกจากนี้กึ่งขาว และกึ่งกุลาดำที่ได้รับแบคทีเรียที่เตรียม

ข้อคิดเห็น[c18]: sci. name

76 จากเชื้อ *V. alginolyticus* มีกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสและกิจกรรมการต้านเชื้อเพิ่มขึ้น (Powell et al., 2011)

ข้อคิดเห็น[c19]: sci. name

77 - โพลีโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide, LPS) คือส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ จากงานวิจัย

78 พบว่า LPS สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในกึ่งได้ โดยผ่านการทำงานของระบบโปรตีนฟีนอลออกซิเดส

79 (Sritunyalucksana et al., 1999) Xian et al. (2009) รายงานว่าปริมาณเม็ดเลือดชนิดซีมีแกรนูลาร์ และแกรนูลาร์ของกึ่ง

80 ขาวลดลง ภายหลังการได้รับ LPS ซึ่งเป็นผลมาจากการตีแกรนูลาร์ของเม็ดเลือด ทำให้เกิดการกำเริบของระบบโปร

ข้อคิดเห็น[c20]: โขงความสัมพันธ์กับ BC content อย่างไร?

81 ฟีนอลออกซิเดสในเวลาต่อมา

82 - เปปติโดไกลแคน (peptidoglycan, PG) คือส่วนประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก ที่สามารถกระตุ้น

83 ภูมิคุ้มกันได้แบบไม่จำเพาะของกึ่งได้ เช่น กึ่ง *Marsupinaeus japonicus* ที่ได้รับ PG ที่สกัดได้จาก *Bifidobacterium*

84 *thermophilum* ผสมอาหาร มีการแสดงออกของยีน serine protease ในเม็ดเลือดเพิ่มขึ้น (Ratnachai et al., 2005)

ข้อคิดเห็น[c21]: enzyme??

85 สำหรับในประเทศไทย มีการทดลองใช้แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* sp. เพื่อเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันกันอย่างแพร่หลาย จาก

86 งานวิจัยของนิตยา ยัมเจริญ และคณะ (2549) พบว่าแบคทีเรียแกรมบวกชนิดนี้มีผนังเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการกระตุ้น

87 ภูมิคุ้มกันกึ่งได้อย่างมีประสิทธิภาพ

88 2) สารประกอบหรืออนุพันธ์ที่ได้จากยีสต์ (yeast derivatives) จากการค้นพบโมเลกุลของโปรตีนตัวรับ (PRRs

89 หรือ PRPs) ที่มีชื่อว่า  $\beta$ -glucan binding proteins ( $\beta$ GBPs) ที่อยู่บนผนังเซลล์ของเม็ดเลือดกึ่ง (Soderhall and

90 Cerenius., 1992) จึงมีการทดลองใช้ยีสต์เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันมากขึ้น นักวิทยาศาสตร์ทั้งในและต่างประเทศประสบ

91 ผลสำเร็จในการใช้เบต้ากลูแคนบริสุทธิ์ที่สกัดจากผนังเซลล์ยีสต์ และการใช้ยีสต์ทั้งเซลล์เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น กึ่ง

92 ขาวที่ได้รับเบต้ากลูแคนสกัดจากผนังเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ผสมอาหาร มีภูมิคุ้มกันและ

93 ความสามารถในการต้านทานเชื้อ *V. harveyi* และ ไวรัสตัวแดงดวงขาว (White Spot Syndrome Virus, WSSV) เพิ่มขึ้น  
94 (Bai et al., 2014) นอกจากนี้กุ้งกุลาดำที่ได้รับ yeast cell suspension จากยีสต์ทะเล *Candida aquatextoris* S527  
95 ผสมอาหารพบว่ามีการแสดงออกของเพปไทด์ต้านจุลชีพเพิ่มขึ้น (Babu et al., 2013)

96 3) สารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ (nutritional factors) สารเสริมอาหารที่มีส่วนช่วยในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และมี  
97 การใช้ในอุตสาหกรรมกุ้ง ได้แก่ วิตามินซี, วิตามินอี, แอสตาแซนทิน, กรดไขมัน และกรดอะมิโน

98 - วิตามิน (vitamins) เป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อสัตว์น้ำ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ส่งเสริมการ  
99 เจริญเติบโต และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีรายงานการใช้ วิตามินซี (Lee and Shiau, 2002a) และวิตามินอี (Lee and Shiau,  
100 2004) ในกุ้ง โดยมีผลต่อการทำงานของ interferon และส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยา chemotaxis ของเม็ดเลือดซึ่งจะส่งผลต่อ  
101 การเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส (Superoxide dismutase activity, SOD) ในกุ้ง  
102 ขาวและกุ้งกุลาดำด้วย (Qiao et al., 2011)

103 - แอสตาแซนทิน (astaxanthin) เป็นสารสีชนิดหนึ่งในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoid pigments) ทำหน้าที่ป้องกัน  
104 เนื้อเยื่อในร่างกายสัตว์น้ำไม่ให้ถูกทำลายเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน จากหน้าที่ดังกล่าวจึงมีผลต่อการทำงานของระบบ  
105 ภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำด้วย กุ้งกุลาดำที่ได้รับแอสตาแซนทินจากยีสต์ *Phaffia rhodozyma* (นนทวิทย์ อารีย์ชน และคณะ,  
106 2549) และ *Dunaliella* sp. (Supamattaya et al., 2005) โดยการผสมอาหาร มีผลทำให้กุ้งมีอัตราการรอด และความ  
107 ต้านทานต่อเชื้อเพิ่มขึ้น

108 - กรดอะมิโน (amino acids) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโปรตีน เป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาต่าง ๆ ทาง  
109 ชีววิทยาของสิ่งมีชีวิต การได้รับกรดอะมิโนที่เหมาะสมและเพียงพอ จะช่วยรักษาความสมดุลทางสรีรวิทยาของร่างกายได้  
110 จากงานวิจัย กุ้งขาวที่ได้รับกรดอะมิโนชนิดโพรลีน (proline) (Xie et al., 2012) ไลซีน (lysine) (Xie et al., 2015) และที่รี  
111 โธนิน (threonine) (Zhou et al., 2013) ด้วยการผสมอาหาร พบว่ามีการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น

112 - แร่ธาตุ (minerals) ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ในปฏิกิริยาต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิต ในการเลี้ยงกุ้งจะมีการเสริมแร่ธาตุ  
113 ในอาหาร ซึ่งนอกเหนือจากการเพิ่มการเจริญเติบโตแล้ว ก็ยังมีรายงานว่าผลต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันอีกด้วย กุ้งที่  
114 กินอาหารผสมซิงค์ (zinc) (Shiau and Jiang, 2006) และคอปเปอร์ (copper) (Lee and Shiau, 2002b) มีปริมาณเม็ด  
115 เลือดรวม และการผลิตซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออนเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการเสริมแร่ธาตุ

ข้อคิดเห็น[c22]: ??

ข้อคิดเห็น[c23]: ??

ข้อคิดเห็น[c24]: Immune stimulant? ดู Px เทียบ  
กับนิยาม / ผลทางตรง / ผลทางอ้อม

116 4) โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) คือคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบกันเป็นสายยาว นักวิทยาศาสตร์ได้รายงาน  
117 ถึงความสำเร็จในการใช้โพลีแซคคาไรด์ เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยจะเข้าจับกับ โมเลกุลของโปรตีนตัวรับ ที่มีชื่อว่า  
118 lectin receptor ที่อยู่บนผนังเซลล์ของเม็ดเลือดขาว (Tassanakajonet al., 2013) ตัวอย่างของสารที่เป็นโพลีแซคคาไรด์  
119 เช่น ไคตินและไคโตซาน ที่สกัดได้จากเปลือกกุ้ง ปู หมึก ซึ่งมีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มการเจริญเติบโต (Niu et al.,  
120 2013)และถูกนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำเช่นกัน ( Wang and Chen, 2005)

ข้อคิดเห็น[c25]: Px ก็อะไร

121 5) สารสกัดจากพืชสมุนไพร และพืช (herbal plant and plant extracts) การทดลองใช้สมุนไพรในการควบคุม  
122 โรคกุ้งประสบผลสำเร็จอย่างดีในหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทย พืชและสมุนไพรสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่  
123 จำเพาะ และยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสและแบคทีเรียได้ เนื่องจากมีสารสำคัญหรือสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น โกล  
124 เซอริน สารลิควิวิติน และกลาบรีติน รวมทั้งสารออกฤทธิ์อื่น ๆ เช่น โพลีแซคคาไรด์ อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิ  
125 โนิน น้ำมันหอมระเหย ซาโปนิน และ สารอะซาไคแรคติน ฯลฯ (ชนกันต์ จิตมณัฏ, 2013; Hai, 2015) กุ้งกุลาดำที่กิน  
126 อาหารผสมสารสกัดกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ จากเปลือกหุ้เรียน (*Durio zibethinus*) (Pholdaeng and Pongsamart, 2010)  
127 และสาร polyvinylpyrrolidone ที่สกัดได้จากพญาขอ (*Clinacanthus nutans*) (Direkbusarakom et al., 1996) มี  
128 ภูมิคุ้มกัน และความต้านทานเชื้อแบคทีเรียและไวรัสเพิ่มขึ้น กุ้งขาวที่ได้รับสารกลุ่ม phenolic alkanon ที่สกัดได้จากชิง  
129 (*Zingerone officinale*) (Chang et al., 2012) สารซาโปนินที่สกัดจากยัคคา (*Yacca scidigera*)(Yang et al., 2015)และ  
130 สารสกัดจากว่านทองใบม่วง (*Gynura bicolor*) (Wu et al., 2015) โดยการผสมอาหารให้กิน มีภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ  
131 และความต้านทานต่อเชื้อ *V. alginolyticus* และไวรัสตัวแดงดวงขาวเพิ่มขึ้น

ข้อคิดเห็น[c26]: (eng)

ข้อคิดเห็น[c27]: (eng)

ข้อคิดเห็น[c28]: (eng)

ข้อคิดเห็น[c29]: ตรวจสอบ เนื่องจากสารบางตัวมี  
ผลต่อ bact อยู่ด้วย

ข้อคิดเห็น[C30]: ตรวจสอบรูปแบบและขนาดของ  
ตัวเลข

132 6) สารสกัดจากสาหร่ายทะเล (seaweed extracts) สาหร่ายประกอบด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อการ  
133 เจริญเติบโต และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น n-3 และ n-6 polyunsaturated fatty acid (PUFA) โพลีแซคคาไรด์ แร่ธาตุ วิตามิน  
134 และสารประกอบโพลีฟีนอล (Bertin, 2003) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น fucoidan, sodium alginate, sulfated  
135 galactan, laminarin และ carragenan จากงานวิจัยในกุ้งขาวและกุ้งกุลาดำที่ได้รับ fucoidan ที่สกัดจากสาหร่ายสี  
136 น้ำตาล *Sargassum* sp. มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน และมีความต้านทานต่อเชื้อ *V. alginolyticus* และเชื้อไวรัสตัวแดง  
137 ดวงขาวเพิ่มขึ้น (Immanuel et al., 2012; Kitikiew et al., 2013) กุ้งขาววัยอ่อนที่ได้รับสาร sulfated galactans ที่สกัด

ข้อคิดเห็น[c31]: อย่างไร? เพื่อสนับสนุนผลงาน  
เขียนของ ผู้เขียน

138 จากสาหร่ายสีเขียว *Gracilaria fisheri* ผ่านอาร์ทีเมีย มีการตอบสนอง และกิจกรรมการต้านเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวเพิ่มขึ้น  
139 (Wongprasert et al., 2014)

ข้อคิดเห็น[c32]: อย่างไร? เพื่อสนับสนุนผลงานเขียนของผู้เขียน

#### 140 4. การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

141 จากคุณสมบัติของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ที่ว่าระยะเวลาของการกระตุ้นมีขีดจำกัด หรือค่อนข้างสั้น ซึ่งต้องมีการ  
142 กระตุ้นอย่างต่อเนื่อง (Hai, 2015) และการที่กุ้งมีหลายช่วงอายุ ระยะเวลา หรือรูปแบบของการเลี้ยงที่แตกต่างกัน ดังนั้น  
143 เมื่อมีการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในทุกระยะ ก็มักจะมีคำถามเกิดขึ้นว่า จะใช้เมื่อไหร่ จะใช้อย่างไร ปริมาณเท่าไร และใช้  
144 ระยะเวลาานานเท่าใด จึงจะเกิดประสิทธิผลมากที่สุด จากตารางที่ 1 ได้รวบรวมตัวอย่างงานวิจัยที่มีการใช้สารกระตุ้น  
145 ภูมิคุ้มกันชนิดต่าง ๆ ในกุ้ง ซึ่งมีวิธีการใช้ ปริมาณ และระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ข้อคิดเห็น[c33]: วิธีเขียนนำเสนอเชิงวิชาการ?

#### 146 4.1 วิธีการใช้

147 การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยทั่วไปจะใช้เมื่อมีความเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อม หรือคุณภาพน้ำในระหว่างการ  
148 เลี้ยง และในช่วงที่มีการระบาดของโรค เพื่อเตรียมพร้อมให้กุ้งสามารถรับมือกับเชื้อโรคที่จะเข้ามาในร่างกายได้  
149 ตลอดเวลา ในปัจจุบันนี้มีสารประกอบหลายชนิดที่มีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ วิธีการให้ก็มีผลต่อการกระตุ้น  
150 ภูมิคุ้มกันที่แตกต่างกัน นักวิทยาศาสตร์ได้ทดลองถึงการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่หลากหลายวิธี ได้แก่ การแช่  
151 (immersion) การฉีด (injection) และการกิน โดยผสมอาหารเม็ดสำเร็จรูป (diet supplementation) และการส่งผ่านอาร์ที  
152 เมีย (via *Artemia*) ซึ่งวิธีการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกุ้ง จะถูกพิจารณาพร้อมกับระยะหรืออายุ และรูปแบบการเลี้ยงด้วย  
153 เช่น กุ้งกุลาดำวัยอ่อนระยะนอเพ็ลีส และซูเรียที่เลี้ยงในโรงเรือน (hatchery) ที่ได้รับเบต้ากลูแคนด้วยวิธีการแช่ มีอัตรา  
154 การรอดสูงภายหลังจากปล่อยเลี้ยงในบ่อดิน (Sung et al., 1998) การฉีดจัดว่าเป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด  
155 เนื่องจากสารดูดซึมได้อย่างรวดเร็วและมั่นใจได้ว่าสารเข้าสู่ร่างกายสัตว์น้ำได้ตามปริมาณที่ใช้ การฉีดนิยมใช้กับกุ้งขนาด  
156 ใหญ่ที่มีขนาด 10 กรัมขึ้นไป หรือพ่อแม่พันธุ์ แต่ข้อเสียของการฉีดคือต้องใช้แรงงานเป็นจำนวนมาก และก่อให้เกิด  
157 ความเครียดได้สูง การทดลองเกี่ยวกับการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันส่วนใหญ่มักจะใช้วิธีการผสมอาหารให้กุ้งกิน เพราะ  
158 นอกจากจะไม่ก่อให้เกิดความเครียดแล้วยังใช้ได้กับกุ้งในปริมาณมาก ๆ และใช้ได้จริงในระดับฟาร์ม รวมทั้งมีต้นทุนที่ไม่  
159 สูงมากนัก อย่างไรก็ตามสารออกฤทธิ์อาจมีผลละลายไปกับน้ำ และอาจถูกทำลายโดยกรดหรือน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร  
160 มีรายงานการใช้อาร์ทีเมียเป็นตัวนำส่งสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพื่อลดข้อจำกัดในข้างต้นซึ่งก็ให้ผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันใน

ข้อคิดเห็น[c34]: วิธีอื่นเป็นอย่างไร กับระยะอื่น?

161 กุ้งได้ (Wongprasert et al., 2014) แต่ขั้นตอนนี้ค่อนข้างยุ่งยาก เพราะต้องเลี้ยงอาร์ทีเมีย เนื่องจากวิธีการผสมอาหารเป็น  
162 วิธีที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปใช้จริงในระดับฟาร์มได้ ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการผลิตอาหารผสมสาร  
163 กระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ไม่มีการสูญหายไป เช่น อาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผลิตมาจากโรงงานโดยตรง เพื่อให้ง่ายต่อการใช้และเป็น  
164 มาตรฐานเดียวกัน

#### 165 4.2 ปริมาณและระยะเวลาที่ใช้

166 ปริมาณและระยะเวลาของการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เป็นปัจจัยที่ต้องคำนึงถึง การใช้สารกระตุ้น  
167 ภูมิคุ้มกันในปริมาณสูง-ต่ำเกินไป อาจลดประสิทธิภาพของการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน หรืออาจเกิดการกดการ  
168 ตอบสนองของภูมิคุ้มกันได้ (Jian and Wu, 2003) อย่างไรก็ตามผลของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันไม่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับ  
169 ปริมาณ (dose) ที่ใช้ (Harikrishnan et al., 2011) ตัวอย่าง เช่น Pholdaeng and Pongsamart (2010) ศึกษาผลของ  
170 polysaccharide gel ที่สกัดจากเปลือกทุเรียน โดยการผสมอาหารให้กุ้งกินที่ระดับ 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1  
171 กิโลกรัม ผลการทดลองพบว่า ที่ 2 เปอร์เซ็นต์ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม กุ้งมีความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียและไวรัสได้สูงที่สุด  
172 อย่างไรก็ตามปริมาณในการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้องมีการศึกษาในสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันแต่ละชนิด เพื่อหาระดับที่  
173 เหมาะสมที่สุด และสามารถนำมาใช้ได้จริงในระดับฟาร์มต่อไป

174 ระยะเวลาในการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจะเกี่ยวข้องกับระยะเวลาในการเลี้ยงกุ้ง และความเครียดต่อการ  
175 เกิดการระบาดของโรคในระหว่างเลี้ยง (Barman et al., 2013) การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันในระยะเวลาที่ยาวนานอาจกด  
176 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้ รายงานวิจัยในปัจจุบันนอกจากจะศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิด  
177 ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับปริมาณที่ต้องใช้ (dose) แล้ว ก็ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับระยะเวลาการใช้ที่เหมาะสมอีกด้วย เช่น  
178 ทดลองของจันทน์ ศิริไพศาล และคณะ (2549) พบว่ากุ้งที่ได้รับเบต้ากลูแคน 3 ก./ อาหาร 1 กก. นาน 4 สัปดาห์ มี  
179 ระดับภูมิคุ้มกันสูงกว่ากลุ่มที่ให้ 2 และ 3 สัปดาห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และได้เสนอแนะไว้ว่าการให้เบต้า  
180 กลูแคน 1 เดือน หยุดให้ 1 เดือน ที่ความเข้มข้นเท่าเดิม จะมีผลในการเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันกุ้งให้สูงขึ้นตลอดช่วงระยะเวลา  
181 ของการเลี้ยง กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสมยีสต์สัปดาห์ละ 1 ครั้ง มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและความต้านทานเชื้อ  
182 ไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการให้ทุกวัน การให้ 3 วันต่อครั้ง และ 10 วันต่อครั้ง (Babu et al.,  
183 2013)



184 การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้ได้ผลดีในกึ่งนอกเหนือจากวิธีการใช้ ระยะเวลาและปริมาณที่ใช้ ต้อง  
185 คำนึงถึงสภาวะความสมบูรณ์และความแข็งแรงของร่างกายของกึ่งในขณะนั้น อายุของกึ่ง สภาพแวดล้อมที่กึ่งอาศัยอยู่  
186 ร่วมด้วย (ชนกันต์, 2013) การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเป็นเพียงการส่งเสริมให้กึ่งมีความพร้อมในการป้องกันตัวเอง ซึ่ง  
187 ต้องทำควบคู่ไปกับการจัดการสิ่งแวดล้อมที่ดี การดูแลเอาใจใส่ตลอดระยะเวลาเลี้ยง

ข้อคิดเห็น[C35]: ใน review ส่วนใด?

188 **สรุป**

189 จากวิกฤตการณ์ระบาดของโรคในกึ่งทะเล ส่งผลให้มีการกวดขันในการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ปลอดโรค การนำ  
190 เทคโนโลยีใหม่ ๆ เข้ามาใช้ในการจัดการสิ่งแวดล้อม และระบบเลี้ยง รวมทั้งหาวิธีการจัดการสุขภาพที่มีประสิทธิภาพ เพื่อ  
191 ควบคุมและป้องกันโรค การใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันนี้น่าจะเป็นแนวทางหนึ่งในการจัดการสุขภาพ อีกทั้งเป็นการลดการใช้  
192 สารเคมีและยาปฏิชีวนะด้วย จากการสำรวจการเลี้ยงกึ่งทะเลในขณะนี้ก็มีการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกกันมากขึ้น ซึ่ง  
193 นอกเหนือจากการปรับสมดุลในลำไส้แล้ว ก็ยังมีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเช่นกัน และผู้ประกอบการรายใหญ่ก็ให้  
194 ความสำคัญกับการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยมีการนำมาแช่ลูกกึ่ง ในระยะนอเพลีส และไมซีส และรูปแบบการใช้ก็  
195 หลากหลายออกไปในแต่ละฟาร์ม อย่างไรก็ตามต้องมีการค้นคว้าวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับชนิดของสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มี  
196 ประสิทธิภาพสูง เมื่อนำมาใช้แล้วราคาถูก ไม่เพิ่มต้นทุนการผลิตกึ่งมากนัก มีความปลอดภัย สามารถนำมาใช้ได้จริงใน  
197 ระดับฟาร์มต่อไป หรืออาจมีหน่วยงานที่ผลิตอาหารผสมสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน รวมทั้งมีการให้ความรู้กับเกษตรกรเกี่ยวกับ  
198 ปริมาณและเวลาที่ใช้ เพื่อลดความสูญเสียในอุตสาหกรรมเลี้ยงกึ่งต่อไป

Table 2. 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> (2-4g)	Diet/ 4 µg/g of shrimp/meal/ 10 days	Antimicrobial peptide	<i>V. harveyi</i>	Rungrassamee 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> (10-12g)	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 <sub>2</sub> <sup>-</sup> , proPO, phagocytosis	ND	Lee and Shiau (2002)
Proline	<i>L. vannamei</i> (1-2 g)	Diet/ 2.2-2.3% of proline / 8 wk.	proPO, stress tolerance	ND	Xie et al. (2015)
<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 <i>Artemia</i> / 200µg/ml/ 7 days	THC, SOD, O <sub>2</sub> <sup>-</sup> , 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, O<sub>2</sub><sup>-</sup>= Superoxide anion,

ROS= Reactive oxygen species \*\*ND= Non-detected

### เอกสารอ้างอิง

- ชนกันต์ จิตต์มนัส. 2013. ผลของผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรต่อภูมิคุ้มกันสัตว์น้ำ. *KKU Res. J.* 18: 257-269.
- นนทวิทย์ อารีย์ชน, ดวงใจ กิตติปรีชากุล, และ ชุมพล ศรีทอง. 2549. การใช้แอสตาแซนทินจากยีสต์ *Phaffia rhodozyma* กับกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon* Fabricius. น. 252-265. ใน: การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 สาขาประมง 30 ม.ค.-2 ก.พ. 2549. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ
- นิตยา ยิ้มเจริญ, นนทวิทย์ อารีย์ชน, ชุมพล ศรีทอง, และ นิตติ 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  $\beta$ -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 (2003), pp. 498-503.
- 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.

- 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, *Pseudosciaea 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. 2002a. Dietary vitamin C and its derivatives affect immune responses in grass shrimp, *Penaeus monodon*. *Fish & Shellfish Immunol.* 12: 119-129.
- Lee, M-H. and S-Y. Shiau. 2002b. Dietary copper requirement of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on non-specific immune responses. *Fish & Shellfish Immunol.* 13: 259-270.
- 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.
- 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 haemolymphagglutinins of tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research.* 39:1339-1345.
- Pholdaeng, K. 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. Hirono, T. Ohira, Y. Takahashi, 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.
- Shiau, S-Y. and L-C. Jiang. 2006. Dietary zinc requirements of grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on immune responses. *Aquaculture*. 254: 476–482.
- Smith, V.J., J.H. Brown, and C. Hauton. 2003. Immunostimulation in crustacean: does it really protect against infection? *Fish & Shellfish Immunol*. 00: 1-20.
- 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. [http://www.thai\\_frozen.or.th/newsletters\\_jan2014\\_01.php](http://www.thai_frozen.or.th/newsletters_jan2014_01.php). Accessed 15 July 2015.
- 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 and 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.
- Xie, F., W. Zeng, Q. Zhou, H. Wang, T. Wang, C. Zheng, and Y. Wang. 2012. Dietary lysine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture.* 358-359: 116-121.
- Xie, S-W, L-X. Tian, Y-M. Li, W. Zhou, S-L. Zeng, H-J. Yang, and Y-J. Liu. 2015. Effect of proline supplementation on anti-oxidative capacity, immune response and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture.* 448: 105-111.
- 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.
- Zhou, Q. C., Y-L. Wang, H-L. Wang, and B-P. Tan. 2013. Dietary threonine requirements of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture.* 392-395: 142-147.