



ผลของผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรต่อภูมิคุ้มกันสัตว์น้ำ Effects of herbal products on fish immunity

ชนกันต์ จิตมนัส¹

Chanagun Chitmanat¹*

¹คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

*Correspondent author: chanagun1@hotmail.com

บทคัดย่อ

ปัญหาและสารเคมีตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้นักวิจัยและเกษตรกรหันมาใช้พืชสมุนไพรเพื่อเป็นทางเลือกใหม่ในการป้องกันโรคสัตว์น้ำ จุดประสงค์ของบทความนี้เป็นการรวบรวมงานวิจัยด้านผลของการใช้ผลิตภัณฑ์จากพืช 50 ชนิด ซึ่งมีสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ไกลเซอไรซิน (glycyrrhizin) สารลิควิรีติน (liquiritin) และกลาบริดิน (glabridin, GLAB) รวมทั้งสารออกฤทธิ์อื่น ๆ เช่น โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) อัลคาลอยด์ (alkaloids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แอนทราควิโนน (anthraquinone) น้ำมันหอมระเหย (essential oil) ซาโปนิน (saponin) และสารอะซาไดแรคติน (azadirachtin) สารเหล่านี้มีสรรพคุณในการลดความเครียด เป็นสารต้านทานอนุมูลอิสระ ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ป้องกันและรักษาโรคสัตว์น้ำ เราสามารถให้สารสกัดสมุนไพรโดยการผสมอาหาร แช่และฉีด อย่างไรก็ตามการให้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่มากเกินไปอาจจะส่งผลเสียต่อสัตว์น้ำได้

Abstract

Antibiotic and chemical residues in fish products cause researchers and farmers to investigate the application of herbal products as alternatives for fish disease prevention and treatment. The purpose of this article is to review some of the available literature relating to the effects of fifty herbal products containing various active ingredients such as polysaccharides, alkaloids, flavonoids, anthraquinone, essential oils, saponin, and azadirachtin on aquatic animals. These herbal products are able to reduce stress, enhance antioxidant activities, improve immunity, and provide effective modes of fish disease prevention and treatment. Administration of these immunostimulants can be administered by feeding, immersion, and injection. However, an overdose, as with any medication/treatment, could lead to negative effects on aquatic animals.

คำสำคัญ: สมุนไพร ภูมิคุ้มกันสัตว์น้ำ สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โรคสัตว์น้ำ

Keywords: herb, fish immunity, immunostimulant, fish diseases

1. บทนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตสัตว์น้ำที่สำคัญของโลก โดยผลผลิตสัตว์น้ำจากการเพาะเลี้ยงมีประมาณ 1.384 ล้านตัน และมูลค่าการส่งออกสินค้าสัตว์น้ำสูงถึง 224,512 ล้านบาทในปี 2552 (1) ปัจจุบันการผลิตสัตว์น้ำนอกจากมีเป้าหมายเพื่อให้ได้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคที่เพิ่มสูงขึ้นแล้ว ยังต้องคำนึงถึงคุณภาพของสัตว์น้ำและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วย แม้ว่าจะมีการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตที่ดีทำให้ได้ผลผลิตสัตว์น้ำที่มีคุณภาพสูงและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามการขนส่งลูกพันธุ์จากแหล่งผลิตไปยังบ่อเลี้ยง การเคลื่อนย้ายระหว่างบ่อ การคัดขนาด การที่สัตว์น้ำถูกนำมาเลี้ยงอย่างหนาแน่นเพื่อเพิ่มผลผลิตต่อพื้นที่ การจัดการด้านอาหารและคุณภาพน้ำที่ผิดพลาด ล้วนมีผลทำให้ปลาเครียด มีภูมิคุ้มกันโรคลดต่ำลง ง่ายต่อการติดเชื้อและเกิดโรคระบาดอันนำไปสู่ความเสียหายทางเศรษฐกิจ โดยความเสียหายจากโรคสัตว์น้ำของประเทศจีนสูงกว่า 400 ล้านดอลลาร์สหรัฐ ในปี 2536 ส่วนอินเดียประมาณ 17.6 ล้านดอลลาร์สหรัฐ ในปี 2537 สำหรับไทยมีความเสียหายกว่า 500 ล้านดอลลาร์สหรัฐ ในปี 2539 (2) มีการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะหลายชนิดในการควบคุมป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อปรสิต แบคทีเรียและเชื้อรา ยาปฏิชีวนะที่ใช้กันมากในสัตว์น้ำ ได้แก่ อะม็อกซิซิลลิน (amoxicillin) เอนโรฟลอกซาซิน (enrofloxacin) และออกซีเตทราซัยคลิน (oxytetracycline) (3) ส่วนยาปฏิชีวนะที่นิยมใช้ในฟาร์มกึ่งประเทศไทยได้แก่ ฟลูออโรควิโนโลน (fluoroquinolones) เตตราซัยคลิน (tetracyclines) และซัลโฟนาไมด์ (sulfonamides) (4) ฟาร์มปลาน้ำจืดมักนิยมใช้กลุ่มยาซัลฟา เอนโรฟลอกซาซินและออกซีเตทราซัยคลิน ซึ่งมีข้อเสียที่มากมาย อย่างไรก็ตามหากมีการใช้สารเคมีหรือยาปฏิชีวนะเหล่านี้เกินขนาดอาจทำให้สัตว์น้ำตายหรือส่งผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ เช่น ส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันสัตว์น้ำ เกิดการตกค้างในเนื้อสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อม ปัญหามลพิษ การพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ดื้อยาซึ่งสามารถถ่ายทอดสู่สัตว์น้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติและเชื้อก่อโรคในมนุษย์

ส่งผลเสียต่อการส่งออก ความปลอดภัยของผู้บริโภค การใช้ฟอร์มาลินจะทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลงอย่างมากและยังส่งผลเสียต่อเหงือกปลา (5) Punitha *et al.* (6) รายงานว่า การใช้ยาปฏิชีวนะไนโตรฟูราโซน (nitrofurazone) ซ้ำ ๆ จะทำให้เกิดแผลผิวหนัง (ulcerative dermatitis) ปัจจุบันห้ามใช้ยาปฏิชีวนะนี้กับสัตว์น้ำที่ใช้บริโภคแล้ว

แม้ว่าจะมีการวิจัยและพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรียและไวรัสในสัตว์น้ำ แต่ข้อเสียของวัคซีนคือ ราคาแพง การใช้ยุ่งยาก มีความจำเพาะต่อเชื้อโรค และมักจะไม่ได้ผลสำหรับเชื้อที่อยู่ในเซลล์ (intracellular pathogen) (6) การที่มีเชื้อโรคในสิ่งแวดล้อมหลากหลาย การพัฒนาวัคซีนต่อเชื้อโรคชนิดใดชนิดเดียวจึงไม่เพียงพอ การจัดการสุขภาพสัตว์น้ำที่ดี การใช้ระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ (Biosecurity) และการใช้สารจากพืชสมุนไพรกระตุ้นภูมิคุ้มกันในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีกว่าการใช้ยาและสารเคมีที่มีราคาแพง (7–9) เพราะสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากพืชสมุนไพรสามารถควบคุมโรคได้หลายหลายชนิดกว่าราคาเหมาะสมและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จุดประสงค์ของงานเขียนนี้เพื่อทบทวนเอกสารเกี่ยวกับการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันสัตว์น้ำ ลดความเครียดและควบคุมโรคสัตว์น้ำ

2. ประโยชน์ของพืชสมุนไพรต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

นักวิทยาศาสตร์จากหลายประเทศนำพืชสมุนไพรทั้งแบบสด อบแห้งหรือสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ กันมาทดลองเพื่อช่วยลดความเครียด ต้านอนุมูลอิสระ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ป้องกันและรักษาโรคสัตว์น้ำ โดยใช้ข้อมูลจากภูมิปัญญาที่เคยมีมาแต่บรรพบุรุษ บางชนิดได้มีการใช้ได้ผลดีต่อคนและสัตว์โดยไม่ส่งผลข้างเคียง จึงนำมาประยุกต์ใช้กับสัตว์น้ำ การใช้สมุนไพรในการควบคุมโรคปลาและกึ่งประสบความสำเร็จอย่างดีในเม็กซิโก อินเดีย ญี่ปุ่นและไทย (9–12)

2.1 สมุนไพรที่ช่วยลดความเครียดในสัตว์น้ำ

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำสมุนไพรมาใช้ลดความเครียดในสัตว์น้ำมีน้อย ส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นไปที่การป้องกันรักษาโรค อาจจะเป็นเพราะตัวบ่งชี้เกี่ยวกับความเครียดของสัตว์น้ำค่อนข้างไวต่อการเปลี่ยนแปลง ทำให้ยากแก่การทดสอบ นักวิจัยจึงมักจะตรวจสอบว่าสมุนไพรใช้ได้ผลหรือไม่โดยการทดสอบความสามารถในการทนต่อการติดเชื้อโรคระบาด จากการตรวจเอกสารพบว่า โกลูกันพรวัว (*Picrorhiza kurroa*) มีฤทธิ์ในการลดความเครียดในกุ้ง (13) และกุ้งก้ามกรามที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดจากตัวอึ่ง (*Rheum officinale*) 0.1 – 0.2% ช่วยป้องกันความเครียดจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น (14) ปัญหาสำคัญของการเลี้ยงปลา คือ ปลามักจะเครียดจากการอยู่ในน้ำที่มีออกซิเจนต่ำนาน ๆ ซึ่งบางครั้งหากปลาทนไม่ได้ อาจจะมีโรคตายทั้งหมดบ่อหรือกระชัง การหาพืชสมุนไพรที่ช่วยลดความเครียดของสัตว์น้ำที่ต้องอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำเป็นสิ่งที่น่าสนใจ

2.2 สมุนไพรที่ใช้รักษาโรคสัตว์น้ำ

มีการใช้สารสกัดจากพืชในการรักษาโรคระบาดปลา (Epizootic Ulcerative Syndrome, EUS) (15) ไวรัสที่เกิดโรคหูดปลา (lymphocystis disease virus, LDV) (16) หรือโรคติดเชื้อปรสิตอื่น ๆ เช่น โรคเห็บระฆัง (17) โรคที่เกิดจากปลิงใส โรคเห็บปลา เป็นต้น (18 – 19) กุ้งเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่ถูกคุกคามโดยไวรัสหลายชนิดจนทำให้ต้องมีการลดความเสี่ยงโดยการเปลี่ยนจากการเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นกุ้งขาวแวนนาไม เพราะไม่มียาที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อไวรัส การคิดค้นหาสารจากธรรมชาติเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันกุ้งจึงเป็นสิ่งจำเป็น อาหารกุ้งผสมสารสกัดพลาโยจากเอธานอลช่วยป้องกันโรคหัวเหลือง (11) อาหารผสมโกลูกันพรวัว สารสกัดหญ้าแพรก (*C. dactylon*) มะตูม (*Aegle marmelos*) บอระเพ็ด (*T. cordifolia*) สารสกัดจากคำเย (*Aclypha indica*) โสมอินเดีย (*Withania Somnifera*) และขิง (*Z. officinalis*) ลดการติดเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวได้ (20) สถาพรและคณะ (21) ทดลองใช้หญ้าใต้ใบ (*Phyllanthus urinaria*) ในอัตรา 10 มก./มล ผสมกับเชื้อไวรัสตัวแดงดวงขาวแล้วนำไปฉีดเข้ากล้ามเนื้อกุ้งกุลาดำ พบว่า กุ้งมีอัตราการตาย 100% แสดงว่า สมุนไพร

ดังกล่าวมีฤทธิ์ทำลายไวรัส

การใช้กระเทียมสดบดละเอียด 10 กรัม คลุกผสมอาหารกุ้งชนิดเม็ด 1 กิโลกรัม ให้กุ้งวัยอ่อนที่ติดพยาธิกริการิน กินวันละ 5 มื้อ ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน พบว่า จำนวนพยาธิกริการินที่พบในตัวกุ้งลดลงภายใน 2 สัปดาห์ และตรวจไม่พบหลังจากการรักษาไปได้ 30 วัน (22) อย่างไรก็ตามงานที่ขัดแย้งกับคำกล่าวของ รศ.น.สพ. ดร.จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์ (23) ที่รายงานว่า การใช้กระเทียม กลัวย่น้ำว้าดิบ เปลือก มังคุด สับปะรด ผสมอาหารให้กุ้งกินเพื่อรักษาโรคเชื้อขาว ส่วนใหญ่ไม่ประสบความสำเร็จ ต้องจับกุ้งขายก่อนกำหนด

อัญชลีและจิราพร (24) รายงานว่า สารสกัดเปลือกทับทิม ใบหูกวาง กระเทียมสด ชาเขียวญี่ปุ่น และใบชะพลู มีฤทธิ์และประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคสำคัญในกุ้งก้ามกราม 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ในขณะที่มีความเป็นพิษต่อลูกกุ้งก้ามกรามระดับต่ำ สารสกัดจากใบมะกอกโอลีฟ (*Olea europaea*) สามารถควบคุมแบคทีเรียไวรัสในปลาแซลมอน (*Salmonid rhabdovirus*) และไวรัสวีเอชเอส (VHSV หรือ viral haemorrhagic septicaemia virus) (25) ใบฝรั่ง (*Psidium guajava*) ช่วยในการควบคุมโรคติดเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* (26) กระเพรา (*Ocimum sanctum*) ช่วยป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* ในปลานิล (*Oreochromis mossambicus*) (27) สารสกัดจากทับทิมสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ *Aeromonas caviae* ที่แยกจากปลาอุก (28) และเชื้อ *A. hydrophila* (29 – 30)

ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากใบพลูและรากเปราะหอมที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *S. parasitica* H2 ได้สมบูรณ์มีค่าเท่ากับ 500 และ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากเหง้าข่า ใบทองพันชั่งและใบเปราะหอมที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมมีผลยับยั้งการเติบโตของเชื้อรานี้ได้เล็กน้อย ผลการทำลายเชื้อรา *S. parasitica* H2 พบว่า สารสกัดจากใบพลู ใบทองพันชั่งและรากเปราะหอมออกฤทธิ์ในการทำลายเชื้อรานี้ที่ความเข้มข้น 500, 5,000

และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบของเหง้าข่าและใบปรางหมื่นที่ 5000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรไม่สามารถทำลายเชื้อรานี้ได้ นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบและระยะเวลาที่เชื้อราสัมผัสกับสารสกัดมีผลต่อการทำลายเชื้อรานี้ด้วย (31) จะเห็นได้ว่า นักวิจัยแต่ละกลุ่มมีวิธีการเตรียมสารสกัด ปริมาณการใช้ วิธีการตรวจสอบ ชนิดและปริมาณเชื้อก่อโรคที่แตกต่างกัน จึงน่าที่จะมีการสร้างมาตรฐานในการตรวจสอบประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรในการป้องกันรักษาโรคสัตว์น้ำที่ยอมรับได้ระดับสากล

2.3 สมุนไพรที่ช่วยเสริมภูมิคุ้มกัน

การที่สัตว์น้ำมีความแข็งแรงและมีภูมิคุ้มกันโรคสูงจะช่วยลดความเสี่ยงของการสูญเสียอันเนื่องมาจากโรคระบาด สมุนไพรที่มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะในปลา ได้แก่ สารสกัดจากกะเพรา (32–33) พญานาค (*A. aspera*) (34) มะแว้ง (*Solanum trilobatum*) (35) สะเดา (*Azadirachta indica*) (36) กระเทียม (*Allium sativum*) (37–38) แพงพวย (*Catharanthus roseus*) (39) โรสแมรี่ (*Rosmarinus Officinale*) (40) และกะเม็ง (*Eclipta alba*) (41) สารสกัดจากโสมอินเดียหรือแอชวแกนดา (*W. somnifera*) และจันทน์เทศ (*Myristica fragrans*) ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลาเก๋า (*Epinephelus tauvina*) (42) การเสริมสารสกัดหยาบจากฟ้าทะลายโจรในอาหารเม็ดสำเร็จรูปเลี้ยงปลากะพงขาวสามารถเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดแดง การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและความต้านทานโรคจากเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. ได้ (43) สาหร่ายสไปรูลินามีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันในปลาทอง (44) ปลานิล (45) ปลากดอเมริกัน (channel catfish) (46) และปลาแซลมอน (47) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) และกระเทียมมีส่วนช่วยกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดในการจับกินสิ่งแปลกปลอมในปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) (38) มีการใช้มะขามป้อม (*Emblica officinalis*) หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*) และใบเสนียด (*Adathoda vasica*) ช่วยเสริมภูมิคุ้มกันโรคและลดการติดเชื้อจุลินทรีย์ในปลาทอง (*Carassius auratus*) (48) สารสกัดจากน้ำและเอธานอลของสะเดา กะเพรา และขมิ้นชันช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันและป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* ใน

ปลาทอง (49) จึงช่วยเพิ่มความสามารถในการจับกินเชื้อโรคในเซลล์ปลาเรนโบว์เทราต์ (50)

มีการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยการผสมอาหารและการฉีดเข้าสู่ตัวปลาเพื่อช่วยกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดขาวและภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ เช่น การจับกินสิ่งแปลกปลอมหรือฟาโกไซโทซิส ไคโซไซม์ คอมพลีเมนต์ เอนไซม์แอนติโปรตีเอส (antiprotease) เอนไซม์ไมอีโลเปอร์ออกซิเดส (myeloperoxidase) อนุมูลอิสระออกซิเจน (reactive oxygen species) อนุพันธ์ไนโตรเจนที่ว่องไว (reactive nitrogen species) ปฏิกริยาซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (respiratory burst activity) สารไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) เอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase) เอนไซม์กลูตาไทโอน เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) และมีการศึกษาพบว่า สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเหล่านี้ยังมีส่วนช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะด้วย โดยวัดจากแอนติบอดีไฮเตอร์ สารทำลายแบคทีเรีย ปฏิกริยาการเกาะกลุ่มของซีรัม (hemagglutination) ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อโรคต่าง ๆ ของสัตว์น้ำ (5)

ไลโซไซม์เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ ซึ่งพบว่า ปลานิลที่ได้รับอาหารผสมสมุนไพรจีนแอสทรากาลัส (*astragalus*) 0.1–0.5% ช่วยเพิ่มการทำงานของไลโซไซม์ (51) ปลาคาร์พที่ได้รับอาหารผสมแอสทรากาลัส 0.5% และเห็ดหลินจือ 0.5% จะมีภูมิคุ้มกันโรคที่สูงขึ้น (52) อย่างไรก็ตามเห็ดหลินจือมีราคาสูงอาจจะไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ การจับกินสิ่งแปลกปลอมและกิจกรรมไลโซไซม์ในซีรัมของปลาทองเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับอาหารผสมสมุนไพร 4 ชนิด คือ โกสน้ำเต้า (*R. officinale*) ฟ้าทะลายโจร (*A. paniculata*) ปังลิ้งกิง (*I. indigotica*) และสาหร่ายน้ำผึ้ง (*L. japonica*) (53) สมุนไพรจีนโบราณผสมทำให้ไลโซไซม์ของปลาเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน (54)

2.4 สมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกายและสารพิษจะเป็นพิษต่อเซลล์และทำให้เซลล์ตายได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเสริมวิตามินหรือแร่ธาตุต่าง ๆ เพื่อต้านอนุมูลอิสระ สมุนไพรบางชนิดเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น

สารสกัดสมุนไพรจีนชื่อซังโหว (Polygonum multiflorum) (55) ปลาเลี้ยงเทศที่ได้รับอาหารผสมหญ้าพันธุ์ขาว (Achyranthes aspera) จะมีการสร้างอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion production) และสารต้านทานแบคทีเรียในน้ำเลือดเพิ่มสูงขึ้น (56)

นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์จากพืชยังช่วยบรรเทาความเครียด ช่วยให้เจริญอาหาร เร่งการเจริญเติบโต เร่งการเจริญพันธุ์ การใช้ไดโนรูส (Elephantopus scaber) และฮอสพาควาย (Thaileptadopsis tenuis) ผสมอาหารในอัตราส่วน 40 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของปลานิล (57) วิญญูและคณะ (58) ทดลองใช้รางจืดเพื่อลดพิษจากยาปราบศัตรูพืชในปลาตะเพียนขาว แต่ผลที่ได้ยังไม่ชัดเจน แม้ว่ากระทรวงสาธารณสุขจะรณรงค์ให้ใช้รางจืดขับสารพิษยาฆ่าแมลงในเกษตรกรกลุ่มเสี่ยง

3. ตัวยาสำคัญที่ได้จากพืชสมุนไพร

พืชสมุนไพรมีสารสำคัญหรือสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ไกลเซอร์ไรซิน (glycyrrhizin) สารลิควิริติน (liquiritin) และกลาบริดิน (glabridin, GLAB) รวมทั้งสารออกฤทธิ์อื่น ๆ เช่น โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) อัลคาลอยด์ (alkaloids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แอนทราควิโนน (anthraquinone) น้ำมันหอมระเหย (essential oil) ซาโปนิน (saponin) และสารอะซาไดแรคติน (azadirachtin) (59) ซึ่งสารสำคัญเหล่านี้มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันในหนู ไก่และเซลล์ของคน (60) สารสำคัญที่สกัดจากพืชจะกระตุ้นการทำงานของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะและอาจจะยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสในเซลล์ (13) ไกลเซอร์ไรซินมีฤทธิ์ป้องกันการอักเสบและสารต้านทานมะเร็ง (61) ปลาหางเหลือง (yellowtail) ที่ได้รับอาหารผสมไกลเซอร์ไรซิน 50 mg/kg จะมีการทำงานของคอมพลีเมนต์ที่ดีขึ้นและช่วยต้านทานการติดเชื้อแบคทีเรีย Streptococcus (62) นอกจากนี้ไกลเซอร์ไรซินช่วยในการเพิ่มเม็ดเลือดขาวในปลาเรนโบว์เทราต์ (63)

สารกลุ่มอะซาไดแรคติน (azadirachtin) ที่สกัดจากสะเดา (27, 49) มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ

ปลานิลที่ได้รับสารอะซาไดแรคตินจากเมล็ดสะเดา (A. indica) มีภูมิคุ้มกันโรคที่ดีขึ้น (64) ปลาหางเหลืองที่ได้รับอาหารผสมซาโปนิน (Saponin) จากต้นสบู่ (soapbark, Quillaja saponin) จะมีภูมิคุ้มกันโรคที่ดีขึ้น (65) ปลาเทราต์ที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดคาร์วาโครล (carvacrol) และไทมอล (thymol) ที่ได้จากพืชซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัทเอกชน จะมีการเจริญเติบโตและมีการผลิตสารต้านทานอนุมูลอิสระที่สูงขึ้น (66)

4. การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพร

มีการทดลองใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันหลากหลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นการฉีด การแช่ การให้กินทั้งแบบผ่านอาหารมีชีวิตและผสมลงในอาหาร การใช้สมุนไพรผสมอาหารเป็นวิธีที่ใช้ได้จริงเชิงปฏิบัติ เนื่องจากไม่ทำให้ปลาเครียดและสามารถให้กับปลาทุกขนาด ใช้กับสัตว์น้ำจำนวนมาก ๆ ในเวลาอันสั้น อย่างไรก็ตามนักวิจัยหลายท่านชี้ว่า การให้สารจากพืชสมุนไพรโดยการฉีดจะให้ผลที่ดีกว่าการให้โดยวิธีผสมอาหาร (46, 67 – 68) เนื่องจากสัตว์น้ำจะได้รับสารสำคัญและสามารถถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้ดีกว่า ปลานิลที่ได้รับสารสกัดบอระเพ็ด 6 – 60 มก./น้ำหนักปลา 1 ก.ก. จะมีภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะสูงขึ้นและมีภูมิต้านทานโรคติดเชื้อแบคทีเรีย A. hydrophila (69) แต่การฉีดนั้นจะต้องใช้แรงงานจำนวนมาก มักทำให้ปลาเครียดและไม่เหมาะสมสำหรับปลาที่มีขนาดเล็กกว่า 15 กรัม ส่วนการจุ่มหรือแช่อาจจะเหมาะสมสำหรับปลาขนาดเล็ก ปลาทองแขในน้ำสะเดา กระเทียม กะเพราและขมิ้นช่วยป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรียได้ (49, 70) ในขณะที่ปลาไนที่จุ่มในสารสกัดสะเดาจะมีความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย A. hydrophila (71) ปลาเลี้ยงเทศที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดจากดอกแพงพวย (C. roseus) จะมีภูมิคุ้มกันโรคสูงขึ้น (72) ปลาหางเหลืองที่ได้กินอาหารผสมสารสกัดจาก Quillaja saponin มีภูมิคุ้มกันโรคที่สูงขึ้นเช่นกัน (65) Abutbul et al. (73) ให้อาหารผสมโรสแมรี่ เพื่อรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย Streptococcus ในปลานิล (Oreochromis sp.) ปลานิลที่ได้

รับอาหารผสมน้ำมันสกัดจากคันทูช่าย (Chinese chive oil) 800 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมจะมีการตายจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Flavobacterium columnarum* ต่ำกว่าปลาที่ไม่ได้รับอาหารผสมน้ำมันสกัดดังกล่าว (26) ปลาเทราต์ที่ได้รับอาหารผสมจึงผสมตำแยและกาฝากจะมีความสามารถในการทำลายสิ่งแปลกปลอมดีขึ้น รวมทั้งเพิ่มการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (50) Immanuel et al. (74) กล่าวว่า กุ้งแชบ๊วย (*Penaeus indicus*) ที่ได้กินอาหารผสมสารสกัดจากสาหร่ายทะเลจะมีความสามารถในการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio parahaemolyticus* กุ้งขาวที่ได้รับอาหารเสริมน้ำมันกระเทียม 5% จะมีภูมิคุ้มกันที่สูงขึ้นและมีความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *V. alginolyticus* (37) อาร์ทีเมียผสมสารสกัดจากมะแว้ง (*S. trilobatum*) โสม (*Withania somnifera*) และฟ้าทะลายโจร ช่วยลดการติดเชื้อแบคทีเรียไวรัส (75) อย่างไรก็ตามการให้อาหารผสมพืชสมุนไพรเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยการผสมอาหาร สารสำคัญอาจถูกทำลายโดยกรดและน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหารได้

มีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อการทำงานของพืชสมุนไพรที่มีต่อสัตว์น้ำเช่น ระยะเวลาในการให้ ปริมาณที่ให้ วิธีการที่ให้ สภาพร่างกายและความแข็งแรงของสัตว์น้ำในเวลานั้น อายุของสัตว์น้ำ สภาพแวดล้อมที่สัตว์น้ำอาศัยอยู่ ดังนั้นการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันอย่างเดียวก็ยังไม่ทำให้สัตว์น้ำปลอดภัยจากการเกิดโรคระบาดได้ 100% เกษตรกรควรเอาใจใส่ถึงสวัสดิภาพสัตว์น้ำด้วย (76) นอกจากนี้ การสร้างสารชีวภาพของพืชอาจผันแปรได้ตามแหล่งพืช อายุต้นพืช ฤดูกาลและสิ่งแวดล้อม จึงควรมีการหาตัวบ่งชี้เกี่ยวกับสารสำคัญที่ชัดเจน

5. ความเข้มข้นและระยะเวลาของการใช้พืชสมุนไพร

มักมีคำถามอยู่เสมอว่า ควรจะใช้สารเหล่านี้ปริมาณเท่าไร ใช้นานเท่าใดและจะเริ่มใช้เมื่อไหร่ถึงจะป้องกันโรคสัตว์น้ำได้ ตารางที่ 1 แสดงถึงปริมาณของสมุนไพรที่มีการใช้กับสัตว์น้ำหลากหลายชนิดในความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน Harikrishnan et al. (5) แนะนำว่าควรมีการใช้สารสกัดจากพืชผสมอาหารในอัตราส่วน 0.1% – 10% นาน 14 – 70 วัน อย่างไรก็ตามหากมีการใช้ในปริมาณมากเกินไปและนานเกินไป อาจทำให้ประสิทธิภาพของสารสกัดเหล่านี้ลดลงได้ ระยะเวลาในการใช้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจะเกี่ยวข้องกับระยะเวลาในการเลี้ยง การเจริญเติบโตและความเสี่ยงต่อการเป็นโรค Kim et al. (77) รายงานว่า ปลาที่ได้รับอาหารผสมว่านหางจระเข้ 0.5% มีอัตราการตายน้อยกว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมว่านหางจระเข้ 0.1% และอาหารชุดควบคุม แต่มีนักวิจัยหลายท่านที่ให้ความเห็นแตกต่างว่าปริมาณของสารที่ให้ไม่ได้สัมพันธ์กับผลที่เกิดขึ้น และบางครั้งกลับพบว่า หากมีการใช้ปริมาณมาก ๆ จะมีผลยับยั้งการทำงานของภูมิคุ้มกัน (78 – 79) จากที่รวบรวมเอกสารมาทั้งหมดจะเห็นได้ว่า มีการใช้สมุนไพรชนิดเดียวบ้าง ผสมกันหลายชนิดบ้าง จึงมักเกิดคำถามจากผู้ให้ประโยชน์เสมอว่า ในทางปฏิบัตินั้นควรจะทำอย่างไร ซึ่งเป็นงานวิจัยที่จะต้องดำเนินการต่อไป โดยเฉพาะการทดลองใช้ในพื้นที่จริง

Table 1. Herbal immunostimulants applied through immersion, oral, or injection for innate and adaptive immunity in aquatic organisms against diseases

Herbs	Concentrations	Adm.	Exposure	Fish	Weight (g)	Pathogen	References
<i>R. officinale</i>	0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.4%	Diet	10 w	<i>M. rosenbergii</i>	1.07	–	Liu et al. (14)
<i>P. granatum</i>	5, 50, 500 mg	i.p	8 w	<i>P. olivaceus</i>	547	LDV virus	Harikrishnan et al. (16)
<i>T. catapa</i>	800 ppm	immersion	indefinite	<i>O. niloticus</i>	3.62	<i>Trichodina</i> sp.	Chitmanat et al. (17)
<i>A. tuberosum</i>	200, 400, 600, 800 mg/kg	Diet	2 w	<i>O. niloticus</i>	10	<i>F. columnare</i>	Rattanachaikunsopon and Phumkhachorn (26)
<i>A. sativum</i>	0.1, 0.5, 1.0%	Diet	70 d	<i>L. rohita</i>	10	<i>A. hydrophila</i>	Sahu et al. (38)
<i>R. officinale</i>	0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.4%	Diet	10 w	<i>M. rosenbergii</i>	1.07	–	Xie et al. (40)
<i>E. alba</i>	0.01, 0.1, 1%	Diet	3 w	<i>O. mossambicus</i>	50	<i>A. hydrophila</i>	Christybapita et al. (41)
<i>A. aspera</i>	0.01, 0.1, 0.5%	Diet	4 w	<i>L. rohita</i>	3	<i>A. hydrophila</i>	Rao et al. (56)
<i>O. sanctum</i>	10%	i.p	28 d	<i>O. niloticus</i>	25	<i>A. hydrophila</i>	Logambal et al. (64)
<i>T. ordifolia</i>	6, 60, 600 mg/kg body weight	i.p	4 d	<i>O. mossambicus</i>	50	<i>A. hydrophila</i>	Alexander et al. (69)
<i>R. officinalis</i>	Ratio	Diet	NA	<i>Oreochromis</i> sp	7	<i>S. iniae</i>	Abutbul et al. (73)
<i>A. vera</i>	0.1, 0.5%	Diet	4 w	schlegeli	25	<i>V. alginolyticus</i>	Kim et al. (77)

NA: Not available, i.p.: Intraperitoneal injection, w: Week, d: Days

6. บทสรุป

สาเหตุเบื้องต้นที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์น้ำ คือ ความแปรปรวนของสิ่งแวดล้อม การจัดการเลี้ยงที่ไม่ดี คุณภาพน้ำและอาหารไม่เหมาะสม จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาเทคโนโลยีการเลี้ยงให้เหมาะสมเพื่อให้สัตว์น้ำแข็งแรง โตเร็ว คุณภาพดี การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรน่าจะเป็นทางเลือกในการแก้ไขปัญหาการเลี้ยงปลานิลและสารเคมีซึ่งไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค มีรายงานวิจัยหลายชิ้นที่ชี้ชัดว่า พืชสมุนไพรซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันหาได้ง่ายในท้องถิ่นและราคาไม่แพง สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งแบบจำเพาะและไม่จำเพาะของสัตว์น้ำ มีสรรพคุณควบคุมเชื้อโรคที่กว้างขวาง ช่วยลดความเครียดของสัตว์น้ำจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม รวมทั้งเร่งการเจริญเติบโตและช่วยให้สัตว์น้ำกินอาหารได้มากขึ้น แม้ว่ากลไกในการทำงานของสารเหล่านี้ยังไม่ชัดเจน อย่างไรก็ตามต้องมีการศึกษาวิจัยพัฒนาสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากพืชสมุนไพรเพื่อควบคุมโรคในสัตว์น้ำโดยไม่ก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อสัตว์น้ำก่อนนำไปใช้ในระดับฟาร์มเลี้ยงอย่างจริงจัง

7. เอกสารอ้างอิง

- (1) Information Technology Center, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. Fisheries Statistics of Thailand; 2009. No. 9/2011. Thai.
- (2) Hill BJ. 2012. International Trade in Farmed Fish and Shellfish: the Impact of Disease Spread. Available from: www.agriculture.de/acms1/conf6/ws9fish.htm
- (3) Agnew W, Barnes AC. *Streptococcus iniae*: an aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination. Vet. Microbiol. 2007; 122: 1 – 15.
- (4) Graslund S, Holmstrom K, Wahlstrom A. A field survey of chemicals and biological products used in shrimp farming. Marine Pollution Bulletin 2003; 46: 81 – 90.
- (5) Harikrishnan R, Balasundaram C, Heo M. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. Aquaculture. 2011; 317: 1 – 15.
- (6) Punitha SMJ, Babu MM, Sivaram V, Shankar VS, Dhas SA, Mahesh TC, Immanuel G, Citarasu T. Immunostimulating influence of herbal biomedicines on nonspecific immunity in Grouper *Epinephelus tauvina* juvenile against *Vibrio harveyi* infection. Aquacult. Int. 2008; 16: 511–23.
- (7) Sakai M. Current research statue of fish immunostimulant. Aquaculture 1999; 172: 63 – 92.
- (8) Robertsen B. Modulation of the non-specific defence of fish by structurally conserved microbial polymers. Fish Shellfish Immunol. 1999; 9: 269 – 90.
- (9) Raa J, Rorstad G, Engstad RE, Robertson B, The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organisms to microbial infections. In: Shariff, M., Subasinghe, R.P., Arthur, J.R. (Eds.), Disease in Asian Aquaculture. Proceedings of the First Symposium on Diseases in Asian Aquaculture. Asian Fisheries Society, Philippines; 1992. pp. 39 – 50.
- (10) Auro de Ocampo A, Jimenez EM. Herbal medicines in the treatment of fish diseases in Mexico. Vet. Mex. 1993; 24: 291 – 95.
- (11) Dey RK, Chandra S. Preliminary studies to raise disease resistant seed (fry) of Indian major carp *Catla catla* (Ham.) through herbal treatment of spawn. Fish Chimes 1995; 14: 23 – 5.
- (12) Direkbusarakom S, Herunsalee A, Yoshimizu M, Ezura Y. Antiviral activity of several Thai

- traditional herb extracts against fish pathogenic viruses. *Fish Pathol.* 1996; 31: 209 – 13.
- (13) Citarasu T. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquacult. Int.* 2010; 18: 403 – 14.
 - (14) Liu B, Xie J, Ge X, Xu P, Wang A, He Y, et al. Effects of anthraquinone extract from *Rheum officinale* Bail on the growth performance and physiological responses of *Macrobrachium rosenbergii* under high temperature stress. *Fish Shellfish Immunol.* 2010; 29(1): 49 – 57.
 - (15) Campbell RE, Lilley JH, Richards RH. 1998. The use of natural products in the treatment of EUS (Epizootic Ulcerative Syndrome). In: Kane, A.S., Poynton, S.L. (Eds.), *Proceedings of the International Symposium on Aquatic Animal Health*. Baltimore, USA.
 - (16) Harikrishnan R, Heo J, Balasundaram C, Kim MC, Kim SJ, Han YJ. et al. Effect of *Punica granatum* solvent extracts on immune system and disease resistance in *Paralichthys olivaceus* against lymphocystis disease virus (LDV). *Fish Shellfish Immunol.* 2010; 29: 668 – 73.
 - (17) Chitmanat C, Tongdonmuan K, Nunsong W. The use of crude extracts from traditional medicinal plants to eliminate *Trichodina* sp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 2005, 27(Suppl. 1): 359 – 64.
 - (18) Harikrishnan R, Balasundaram C, Kim MC, Kim JS, Han YJ, Heo MS. Effect of a mixed herb-enriched diet on the innate immune response and disease resistance of *Paralichthys olivaceus* against *Philasterides dicentrarchi* infection. *J. Aquat. Animal Health* 2010; 22: 235 – 43.
 - (19) Dey RK. On the use of herbal materials for managing diseases and health conditions of fish during sustainable aquaculture practices. 1997. Abstract, National Workshop on Fish and Shellfish Health Management. CIFA, Bhubaneswar, India.
 - (20) Citarasu T, Sivaram V, Immanuel G, Rout N, Murugan V. Influence of selected Indian immunostimulant herbs against white spot syndrome virus (WSSV) infection in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* with reference to haematological, biochemical and immunological changes. *Fish Shellfish Immunol.* 2006; 21: 372 – 84.
 - (21) Direkbusarakom S, Onthong K, Rungdomneadswong S, Choutikarn N. Virucidal activity of some Thai traditional herbs against systemic external mesodermal baculovirus in tiger shrimp (*Penaeus monodon*). The proceedings of 35th Kasetsart University Annual conference; 1996 Feb 3 – 5; Bangkok, Thailand.
 - (22) Chutchawanchaipan W, Thavornnyutikarn M, Kasornchandra J. Application of garlic paste against gregarine infection in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. Coastal Aquatic Animal Health Research Institute. Available from: <http://www.shrimpcenter.com>.
 - (23) Tangtrongpiros J. White Stool Disease. Division of Research Development and Promotion, Chulalongkorn University. Available from: http://www.research.chula.ac.th/rs_news/2553/N0010_03.html
 - (24) Tummarongkongsatid A, Rojtinakorn J. Effective of Thai herbs extracts to inhibit bacterial pathogens in Giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *J. Fish. Tech. Res.* 2007; 1(2): 192 – 200. Thai.
 - (25) Micol V, Caturla N, Perez-Fons L, Mas V., Perez L, Estepa A. The olive leaf extract

- exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). *Antiviral Res.* 2005; 66: 129 – 36.
- (26) Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. Potential of Chinese chive oil as a natural antimicrobial for controlling *Flavobacterium columnare* infection in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fisheries Science* 2009; 75(6): 1431 –37.
- (27) Logambal SM, Michael RD. Immunostimulatory effect of Azadirachtin in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Indian J. Exp. Biol.* 2000; 38: 1092 – 96.
- (28) Siri S, Wadbua P, Wongphathanakul W, Kitancharoen N, Chantaranothai P. Antibacterial and Phytochemical Studies of 20 Thai Medicinal Plants against Catfish-Infectious Bacteria, *Aeromonas caviae*. *KKU Sci. J.* 2008: 36 (Supplement): 1 – 10.
- (29) Wiriyaumpaiwong P, Petjul K. Effect of Traditionally Medical Plants to Inhibit Aquatic Animal Bacteria. Research Report. Rajamangala University of Technology Isan Kalasin Campus. 42 p. Thai.
- (30) Wadbua P. Anti-bacterial activity of 41 Thai medicinal plant extracts against infectious-catfish Bacteria, *Aeromonas caviae* and *Aeromonas sobria*. Master of Science Thesis in Biochemistry, Graduate School, Khon Kaen University. Thai.
- (31) Udomkunsri P, Trongvanichnam K, Limpoka M, Klangkaew N, Kusucharit N. In vitro Efficacy of the Antifungal Activity of Some Thai Medicinal-Plants on the Pathogenic Fungus, *Saprolegnia parasitica* H2, in Fish. [Internet]. 2012 [updated 2010 Jul 10; cited 2012 Sep 7]. Available from: <http://www.lib.ku.ac.th/KUCONF/KC4503027.pdf>
- (32) Logambal SM, Venkatalakshmi S, Michael RD. Immunostimulatory effect of leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Hydrobiologia* 2000; 430: 113 – 20.
- (33) Venkatalakshmi S, Michael RD. Immunostimulation by leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *J. Aquac. Trop.* 2001; 16: 1 – 10.
- (34) Rao YV, Chakrabarti R. Stimulation of immunity in Indian major carp *Catla catla* with herbal feed ingredients. *Fish Shellfish Immunol.* 2005; 18: 327 – 34.
- (35) Divyagnaneswari M, Christyapita D, Michael RD. Enhancement of nonspecific immunity and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* by *Solanum trilobatum* leaf fractions. *Fish Shellfish Immunol.* 2007; 23: 249 – 59.
- (36) Das BK, Mukherjee SC, Sahu BB, Murjani G. Neem (*Azadirachta indica*) extract as an antibacterial agent against fish pathogenic bacteria. *Indian J Exp Biol.* 1999; 37(11):1097 – 100.
- (37) Thawonsuwan, J. Efficacy of Oil Macerated Garlic Extract on Immune Responses and Diseases Resistance in White Shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). Available from: <http://www.aquathai.org/index.php>.
- (38) Sahu S, Das BK, Mishra BK, Pradhan J, Sarangi N. Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *J. Appl. Ichthyol.* 2007; 23: 80 – 86.
- (39) Nguyen TTT, Mukherjee SC, Pani PK. Studies on the immunostimulatory effect of certain plant extracts on fish. Abstracts: AH-13, The Sixth Indian Fisheries Forum, Mumbai, India, 2002. p. 153.

- (40) Xie J, Liu B, Zhou Q, Su Y, He Y, Pan L, et al. Effects of anthraquinone extract from rhubarb *Rheum officinale* Bail on the crowding stress response and growth of common carp *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* 2008; 281: 5 – 11.
- (41) Christyapita D, Divyagnaneswari M, Dinakaran MR. Oral administration of *Eclipta alba* leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. *Fish Shellfish Immunol.* 2007; 23: 840 – 52.
- (42) Sivaram V, Babu MM, Citarasu T, Immanuel G, Murugadass S, Marian MP. Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. *Aquaculture* 2004; 237: 9 – 20.
- (43) Roongkamnertwongsa J, Roongkamnertwongsa S. 2012. Effects of Crude Extract *Andrographis paniculata* on Blood Component, Immune system and Disease Resistance in Seabass (*Lates calcarifer* Bloch, 1790) Available from: <http://www.aquathai.org/web/images/ArticleImage/2010/20101015/00819.pdf>
- (44) Kumprom T, Promya J, Meng-Umphun K, Whangchai N, Chitmanat C. Effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* sp. on Immunity Stimulating Capacity and Color Improvement of Goldfish (*Carassius auratus*). *KKU Res J.* 2011; 16(6): 612 – 21.
- (45) Park KH, Jeong HD. Enhanced resistance against *Edwardsiella tarda* infection in tilapia *Oreochromis niloticus* by administration of protein-bound polysaccharide. *Aquaculture* 1996; 141: 135 – 43.
- (46) Duncan PL, Klesius PH. Effect of feeding *Spirulina* on specific and non specific immune response of channel cat fish. *J. Aquat. Anim. Health* 1996; 8: 308 – 13.
- (47) Gildberg A, Bøgwald GAJ, Johansen A, Stenberg E. Isolation of acid peptide fractions from a fish protein hydrolysate with strong stimulatory effect on Atlantic Salmon (*Salmo salar*) head kidney leucocytes. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 1996; 114: 97 – 101.
- (48) Minomol M. Culture of Gold fish *Carassius auratus* using medicinal plants having immunostimulant characteristics. 2005. M.Phil Dissertation, MS University, India.
- (49) Harikrishnan R, Balasundaram C, Kim M, Kim J, Han Y, Heo M. Innate immune response and disease resistance in *Carassius auratus* by triherbal solvent extracts. *Fish Shellfish Immunol.* 2009; 27(3): 508 – 15.
- (50) Dugenci SK, Arda N, Candan A. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *J. Ethnopharmacol.* 2003; 88: 99 – 106.
- (51) Yin G, Jeney G, Racz T, Xu P, Jun X, Jeney Z. Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 2006; 253: 39 – 47.
- (52) Yin G, Ardo L, Thompson KD, Adams A, Jeney Z, Jeney G. Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol.* 2009; 26: 140 – 45.
- (53) Chen X, Wu Z, Yin J, Li L. Effects of four species of herbs on immune function of *Carassius auratus* gibelio. *J. Fish. Sci. China* 2003; 10: 36 – 40. Chinese.

- (54) Jian J, Wu Z. Influences of traditional Chinese medicine on non-specific immunity of Jian carp (*Cyprinus carpio*). *Fish Shellfish Immunol.* 2004; 16: 185–91.
- (55) Chiu PY, Mak DH, Poon MK, Ko KM. In vivo antioxidant action of a lignanenriched extract of Schisandra fruit and an anthraquinone-containing extract of Polygonum root in comparison with schisandrin B and emodin. *Planta Med.* 2002; 68: 951–56.
- (56) Rao YV, Das BK, Jyotirmayee P, Chakrabarti R. Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol.* 2006; 20: 263–73.
- (57) Kaewtapee W. Use of herbs as supplementary feed for growth enhancer in tilapia. *Rajabhat Chiang Mai Research Journal* 2011; 12: 121–30.
- (58) Boonprasert W, Chaibu P, Promya J, Meng-umphan K, Chitmanat C. Effects of Babbler's Bill leaf (*Thunbergia laurifolia* Linn) crude extract on Glutathione S- transferase and Acetylcholinesterase enzymes in Silver Barb (*Barbonymus gonionotus*) exposed to paraquat. *Journal of Fisheries Technology Research* 2011; 5:87–96.
- (59) Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Chandra P, Rabenau H, Doerr HW. Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS associated coronavirus. *Lancet* 2003; 361: 2045–46.
- (60) Lin ZB, Zhang HN. Anti-tumor and immunoregulatory activities of Ganoderma lucidum and its possible mechanisms. *Acta Pharmacol. Sin.* 2004; 25: 1387–95.
- (61) Zhang YH, Yoshida T, Isobe K, Rahman SM, Nagase F, Ding L, Nakashima I. Modulation by glycyrrhizin of the cell-surface expression of H-2 class I antigens on murine tumor cell lines and normal cell populations. *Immunology* 1990; 70: 405–410.
- (62) Edahiro T, Hamoguchi M, Kusda R. Effect of glycyrrhizine against streptococcal infection of young yellowtail. *Seriola quinqueradiata* (in Japanese). *Suisanzoshoku* 1990; 38: 239–43.
- (63) Kim KJ, Jang SI, Marsden MJ, Secombes CJ, Choi MS, Kim YG, et al. Effect of glycyrrhizin on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* leukocyte responses. *J. Korean Soc. Microbiol.* 1998; 33: 263–71.
- (64) Logambal SM, Michael RD. Azadirachtin – An immunostimulant in *Oreochromis mossambicus* (Peters). 1997. Abstract, National workshop on fish and shellfish health management. CIFA, Bhubaneswar, India.
- (65) Ninomiya M, Hatta H, Fujiki M, Kim M, Yamamoto TR. Enhancement of chemotactic activity of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) leucocytes by oral administration of *Quillaja saponin*. *Fish Shellfish Immunol.* 1995; 5: 325–27.
- (66) Giannenas I, Triantafyllou E, Stavrakakis S, Margaroni M, Mavridis S, Steiner T, et al. Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Aquaculture, In Press.
- (67) Ainsworth AJ. β -glucan inhibitable zymosan receptor on channel catfish neutrophils. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1994; 41: 141–52.
- (68) Yoshida T, Kruger R, Inglis V. Augmentation of non-specific protection in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), by the long-term

- oral administration of immunostimulants. J. Fish Dis. 1995; 18: 195 – 98.
- (69) Alexander CP, Kirubakaran CJW, Michael RD. Water soluble fraction of *Tinospora cordifolia* leaves enhanced the non-specific immune mechanisms and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* Fish Shellfish Immunol. 2010; 29(5): 765 – 72.
- (70) Harikrishnan R, Balasundaram C. In vitro and in vivo Studies of the use of some medicinal herbals against the pathogen *Aeromonas hydrophila* in goldfish. J. Aquat. Anim. Health 2008; 20: 165 – 76.
- (71) Harikrishnan P, Nisha RM, Balasundaram C. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. Aquaculture 2003; 222: 41 – 50.
- (72) Thuy NTT, Mukherjee SC, Prasad PK. Studies on the immunostimulatory effect of certain of certain plant extracts on fish. 2002. The sixth Indian Fisheries Forum, Mumbai, India.
- (73) Abutbul S, Golan-Goldhirsh A, Brazani O, Zilberg D. Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis* sp.). Aquaculture 2004; 238: 97 – 105.
- (74) Immanuel G, Vincy Bai VC, Palavesam A, Marian PM. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles. Aquaculture 2004; 236: 53 – 65.
- (75) Citarasu T, Ramalingam VK, Raja Jeya Sekar R, Babu MM, Marian M. Influence of the antibacterial herbs, *Solanum trilobatum*, *Andrographis paniculata* and *Psoralea corylifolia* on the survival, growth and bacterial load of *Penaeus monodon* post larvae. Aquac. Int. 2003; 11: 583 – 95.
- (76) Chitmanat C. Fish Welfare. Naresuan University Journal 2010; 18(2): 106 – 111. Thai.
- (77) Kim KH, Hwang YJ, Bai SC. Resistance to *Vibrio alginolyticus* in juvenile rockfish (*Sebastes schlegelii*) fed diets containing different doses of aloe. Aquaculture 1999; 180: 13 – 21.
- (78) Robertsen B, Ehgstad RE, Jørgensen JB. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C. (Eds.), β -glucan as immunostimulants in fish. Modulators of Fish Immune Response, 1. SOS Publications, Fair Haven, NJ, 1994. pp. 83 – 99.
- (79) Kajita Y, Sakai M, Atsuta S, Kobayashi M. The immunomodulatory effects of levamisole on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish Pathol. 1990; 25: 93 – 8.