



A review of the potentials and challenges of developing a vaccine for prevention of acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp

Sheikh Asadi M.*¹; Gozari M.¹

1-Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute (IFRSI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandarabbas, Iran

Abstract:

Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) is a deadly infectious disease in the shrimp that has devastating impact on the shrimp aquaculture industry. The resistance of shrimp to invading pathogens depends on the immune status of the host. Although the defense mechanisms of crustaceans are less mature than those of teleosts and other vertebrates and lack true immune memory, there is increasing evidence that shrimp and some arthropods have a specific and memory-like immunity. This type of immune response, which is observed in invertebrates, is known as "specific innate immunity". However, a better understanding of the precise mechanisms of the shrimp defense system can help improve disease management and treatment strategies in the shrimp farming industry. Since the use of antibiotics in aquaculture has been banned in many countries, farmers are looking for alternative methods to prevent diseases. One of these methods is to strengthen the shrimp immune system through a type of "vaccination" that has been studied to combat various diseases, including the bacterial disease vibriosis and acute hepatopancreatic necrosis of shrimp. This article reviews studies and the possibility of developing a shrimp vaccine.

Review History:

Received: 10/10/2025

Revised: 11/01/2025

Accepted: 11/07/2025

Available Online: 11/10/2025

Keywords:

Acute hepatopancreatic
necrosis disease
Dscam
Immune system
Shrimp farming
Vaccine

How To Cite This Article:

Sheikh Asadi, M., & Gozari, M. (2025). A review of the potentials and challenges of developing a vaccine for prevention of acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp. *Int. J. Biotech. Adv. Res.*, 1(1): 87-98



*Corresponding author's email: M_Gozari@yahoo.com



Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to Green Wave Pub. The content of this article is subject to the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) License. For more information, please visit <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



مروری بر قابلیت‌ها و چالش‌های توسعه واکسن برای پیشگیری از بیماری نکروز حاد هپاتوپانکراس میگو

محمد شیخ اسدی^۱، محسن گذری^{۱*}

۱- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

چکیده:

تاریخچه داوری:

دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۱۸
بازنگری: ۱۴۰۴/۰۸/۱۰
پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۱۶
ارائه آنلاین: ۱۴۰۴/۰۸/۱۹

کلمات کلیدی:

پرورش میگو
سیستم ایمنی
مولکول چسبندگی سلولی
نکروز حاد هپاتوپانکراس میگو
واکسن

بیماری نکروز حاد هپاتوپانکراس (AHPND) از بیماری‌های مهلک میگوهای پرورشی بوده که خسارات قابل توجهی در صنعت آبی پروری ایجاد نموده است. مقاومت میگو در برابر عوامل بیماری‌زای مهاجم به وضعیت ایمنی این آبی وابسته است. اگرچه مکانیزم‌های دفاعی سخت‌پوستان نسبت به ماهیان استخوانی و سایر مهره‌داران از بلوغ کمتری برخوردار بوده و فاقد حافظه ایمنی واقعی می‌باشند لیکن شواهد زیادی وجود نوعی ایمنی اختصاصی و حافظه‌ای را در میگو و برخی بندپایان نشان می‌دهد. این نوع پاسخ ایمنی که در بی‌مهرگان مشاهده می‌شود، با عنوان "ایمنی ذاتی با ویژگی اختصاصی" شناخته می‌شود. با این حال درک بهتر مکانیزم‌های دقیق سیستم دفاعی میگو می‌تواند به بهبود راهکارهای مدیریت بیماری‌ها و درمان آن‌ها در صنعت پرورش میگو کمک کند. از آنجایی که استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در آبی‌پروری در بسیاری از کشورها ممنوع شده است، پرورش‌دهندگان به دنبال روش‌های جایگزین برای پیشگیری از بیماری‌ها هستند. یکی از این روش‌ها، تقویت سیستم ایمنی میگو از طریق نوعی «واکسیناسیون» است که برای مقابله با بیماری‌های مختلف از جمله بیماری باکتریایی ویبریوزیس و نکروز حاد هپاتوپانکراس میگو مورد بررسی قرار گرفته است. در این مقاله مروری بر مطالعات و امکان توسعه واکسن میگو پرداخته شده است.

برای ارجاع به این مقاله از عبارت زیر استفاده کنید:

Sheikh Asadi, M., & Gozari, M. (2025). A review of the potentials and challenges of developing a vaccine for prevention of acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp. *Int. J. Biotech. Adv. Res.*, 1(1): 87-98 (In Persian)



مقدمه

توسعه و گسترش فعالیت‌های آبی‌پروری، به‌ویژه پرورش میگو، در سال‌های اخیر با افزایش بروز و شیوع بیماری‌های مختلف همراه بوده است. این بیماری‌ها معمولاً خسارات سنگینی را به صنعت پرورش میگو وارد کرده و موجب کاهش چشمگیر عملکرد و بهره‌وری مزارع شده است. یکی از مهم‌ترین بیماری‌های باکتریایی در میگو، بیماری نکروز حاد هپاتوپانکراس است که از عوامل اصلی کاهش تولید در این صنعت شناخته می‌شود. (Huang et al., 2025). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در آبی‌پروری در بسیاری از کشورها به دلیل اثرات بالقوه نامطلوب آن‌ها بر

سلامت آبزیان، انسان و محیط‌زیست ممنوع یا به‌شدت محدود شده است. علاوه بر این، ظهور سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک موجب افزایش نگرانی‌ها و تشدید محدودیت‌ها در مصرف آن‌ها شده است. استفاده مکرر و نادرست از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در سال‌های گذشته منجر به پیدایش پاتوژن‌های مقاوم چندگانه شده و اثربخشی درمان‌های آنتی‌بیوتیکی را در کنترل عفونت‌های باکتریایی کاهش داده است. از این‌رو، توسعه روش‌های جایگزین مانند استفاده از واکسن‌ها برای تقویت سیستم ایمنی آبزیان، به‌ویژه در پرورش میگو، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Li and Jang, 2025).

* نویسنده عهده‌دار مکاتبات: M_Gozari@yahoo.com



بیماری‌های مختلف میگو، از جمله "سندرم قرمز روشن"، "بیماری دم سفید باکتریایی"، و "بیماری ویروز درخشانده و "سندرم *Bolitas nigricans*" ظاهر شود. یکی دیگر از گونه‌های مهم ویروز که میگو را آلوده می‌کند *V. parahaemolyticus* است. این بیماری با بیماری نکروز حاد هیپاتوپانکراس در میگو مرتبط بوده است. *AHPND* یک تهدید جدی برای صنعت میگو در سطح جهان ایجاد کرد که منجر به خسارت سالانه ۱ میلیارد دلاری شد. این بیماری نخستین بار در سال ۲۰۰۹ در جنوب چین گزارش شد. در مدت زمان نسبتاً کوتاهی، این بیماری در منطقه جنوب شرق آسیا، مکزیک و ایالات متحده آمریکا گزارش شد و به سرعت به یک نگرانی در سراسر جهان تبدیل شد. سایر گونه‌های ویروز که می‌توانند باعث ایجاد ویروز در میگو شوند عبارتند از *V. alginolyticus*، *V. damsela* و *angullarium*. تا به امروز، ویروزیس معمولاً در پرورش میگو رخ داده است. علاوه بر این، وقوع انتقال افقی ژن بین گونه‌های ویروز نیز نگران‌کننده است زیرا صفات بیماری‌زا و مقاوم به آنتی‌بیوتیک را می‌توان در میان گونه‌های نزدیک به هم به اشتراک گذاشت (Kumar et al., 2024; Aguilar-Rendon et al., 2022; Soto-Rodriguez et al., 2024; Vandeputte et al., 2024).

بیماری نکروز حاد هیپاتوپانکراس (AHPND)

بیماری نکروز حاد هیپاتوپانکراس که قبلاً به عنوان سندرم مرگ زودرس شناخته می‌شد، یک بیماری نوظهور است که خسارات اقتصادی قابل توجهی را به صنعت پرورش میگو وارد کرده است (Harvey et al., 2019). این بیماری می‌تواند باعث مرگ و میر ناگهانی و تلفات دسته جمعی میگوها گردد و در زمان ۳۵-۳۰ روز پس از ذخیره سازی میگوها مشاهده شود (De la Pena et al., 2015). عامل اصلی این بیماری باکتری *Vibrio parahaemolyticus* است که یک باکتری میله‌ای شکل گرم منفی است. این باکتری دارای پلاسمید *pVA1* است که مولد توکسین‌های دوتایی کشنده *Pir A/Pir B* بوده و باعث مرگ سریع میگوهای آلوده می‌شود (Vandeputte et al., 2024). این پلاسمید با سنتز این توکسین‌ها باعث بیماری در روده میانی و دستگاه گوارش و هیپاتوپانکراس می‌شود (Kumar et al., 2021). باکتری بیماری‌زا می‌تواند در میگوهای پرورشی، آب، رسوبات و آبزیان مرتبط با

از آغاز فعالیت‌های پرورش میگو، انواع مختلفی از بیماری‌های عفونی در جمعیت‌های پرورشی بروز کرده‌اند. شایع‌ترین عوامل بیماری‌زا شامل ویروس‌ها و باکتری‌ها هستند و در برخی موارد، عفونت‌های قارچی نیز نقش دارند که به‌ویژه در مراحل پرورش لارو و رشد میگو خسارت‌زا می‌باشند. افزایش مداوم فعالیت‌های آبی‌پروری، به‌ویژه پرورش میگو، همراه با سایر عوامل استرس‌زا مانند نوسانات دما و شوری آب، موجب تشدید بروز و شدت بیماری‌ها شده است. برآوردها نشان می‌دهد که حدود ۶۰ درصد از تلفات در تولید میگوی پرورشی ناشی از عفونت‌های ویروسی از جمله ویروس سندرم لکه سفید است، در حالی که حدود ۲۰ درصد از تلفات به عوامل باکتریایی، عمدتاً گونه‌های *Vibrio*، نسبت داده می‌شود (Bhassu and Nagalingam, 2024).

بیماری ویروزیس در پرورش میگو به عنوان یک تهدید دائمی شناخته شده است. *Vibrio harveyi* یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های میگو است که می‌تواند باعث مرگ و میر انبوه میگوهای خانواده پنائیده در هجری‌ها و استخرهای پرورش شود. به غیر از آن، *V. parahaemolyticus* باعث بیماری نکروز حاد هیپاتوپانکراس (AHPND) در میگو می‌شود، بیماری که تقریباً یک دهه است صنعت میگو را به طور قابل توجهی دچار تزلزل کرده است. سویه‌های *V. harveyi* با مقاومت چندگانه به استرپتومایسین، اریترومایسین و کوتریموکسازول باعث مرگ و میر توده‌ای در لارو میگو می‌شوند (Vandeputte et al., 2024).

ویروزیس به عنوان یک تهدید دائمی در پرورش میگو باعث ایجاد طیف وسیعی از مشکلات در میگو شده است، از تأخیر در رشد تا مرگ و میر پراکنده و در نهایت انبوه در مراحل مختلف چرخه زندگی میگو. گونه‌های ویروز همه جا در سیستم‌های آبی‌پروری دریایی و محیط‌های دریایی یافت می‌شوند. این گروه از باکتری‌ها در محیط‌هایی مانند همزیست‌ها جایگاه خاص خود را دارند و در چرخه کربن آلی دریایی نقش دارند. در میان گونه‌های شناخته شده ویروز، *V. harveyi* و *V. parahaemolyticus* از پاتوژن‌های مهم مرتبط با ویروز در میگو هستند. این عوامل بیماری‌زا از همان روزهای اولیه پرورش میگو، کشت میگو را آلوده کرده‌اند. علاوه بر این، ایجاد عفونت توسط *V. harveyi* می‌تواند به

شد. اگر چه هموسیت‌های بند پایان قبلاً برای بیان پروتئین‌های تشخیص الگو (PRP) شناخته شده بودند که بین مولکول‌های خود و غیرخودی تمایز قائل می‌شدند، اولین شواهد مبنی بر اینکه Dscam ممکن است در این مکانیسم فاگوسیتی نقش داشته باشد تنها بیش از دو دهه بعد کشف شد (Watson et al., 2005).

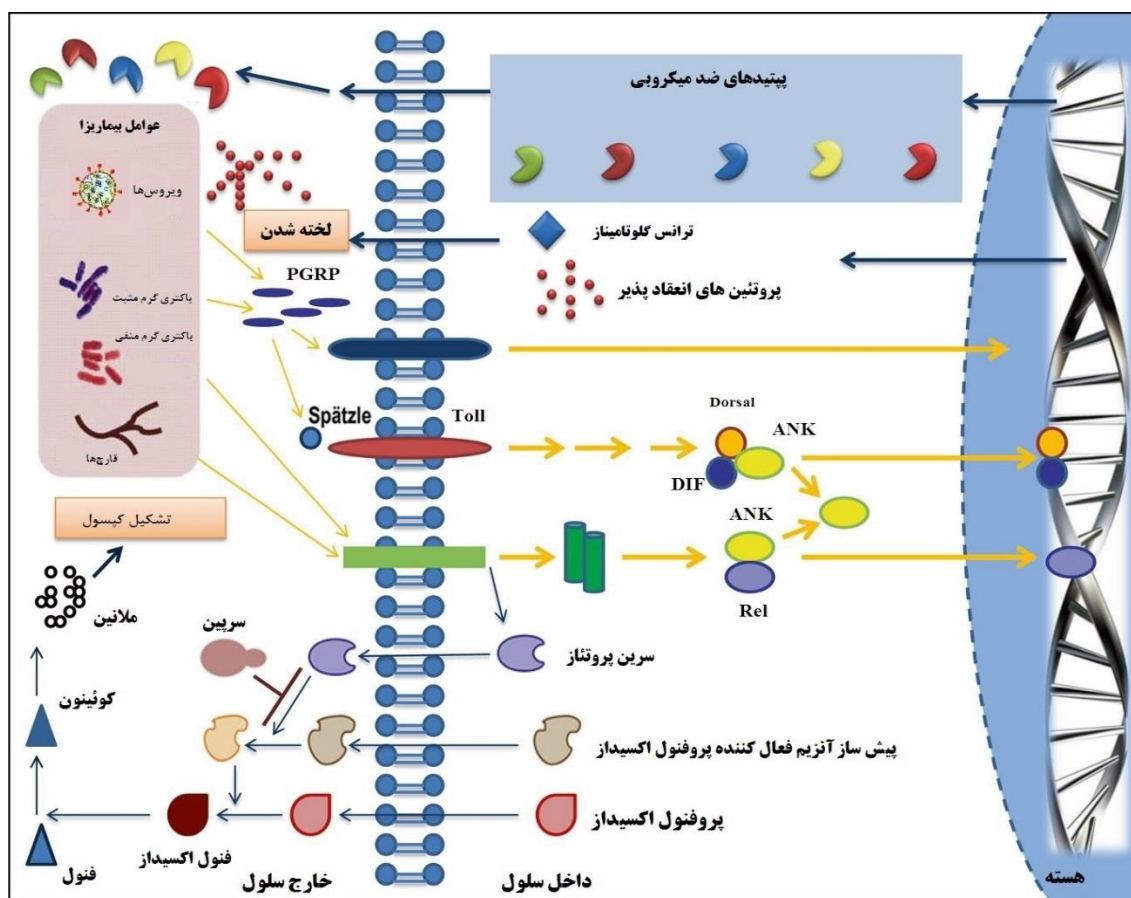
هموسیت‌ها واسطه‌های اصلی پاسخ ایمنی سلولی سخت‌پوستان هستند که به انواع گیرنده‌های تشخیص الگو، عملکردهای مؤثر و مسیرهای سیگنالینگ وابسته هستند. پاسخ ایمنی میزبان که شامل عدم تشخیص اولیه خود، فاگوسیتوز، کپسوله شدن، ملانیزاسیون، سمیت سلولی و ارتباط سلول-سلول است، به شدت به هموسیت‌ها بستگی دارد. (Cerenius and Söderhäll, 2004). اکثر هموسیت‌های سخت‌پوستان را می‌توان به سه دسته سلول‌های هالین (HC)، سلول‌های نیمه‌گرانولی (SGC) و سلول‌های دانه‌ای (GC) طبقه‌بندی کرد. سلول‌های هالین مسئول فاگوسیتوز هستند، در حالی که سلول‌های نیمه‌گرانولی در کپسوله سازی، عدم شناسایی اولیه خود، ملانیزاسیون و انعقاد، همراه با فاگوسیتوز در برخی گونه‌ها نقش دارند و سلول‌های دانه‌ای محل ذخیره و آزادسازی اولیه سیستم proPO هستند و همچنین عملکردهای ملانیزاسیون، واکنش سیتوتوکسیک و تولید ترشح پپتیدهای ضد میکروبی را دارند. هموسیت‌ها، SGC و GC در حضور الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن (PAMPs) واکنش‌های دگرانولاسیون سریعی را متحمل می‌شوند و مجموعه‌ای از مولکول‌های مؤثر ایمنی قوی را در مجاورت PAMP‌های محرک به گردش خون آزاد می‌کنند، که شاید جای تعجب نباشد که زیموزن پروفنول اکسیداز (ProPO) بیشترین مطالعه را داشته باشد. در سخت‌پوستان، انعقاد و لخته شدن یکی دیگر از پاسخ‌های ایمنی مهم است که در صورت آسیب، بلافاصله لخته‌هایی از اجزای خون برای جلوگیری از دست دادن همولنف تشکیل می‌شود و ترانس گلوتامیناز (Tgase) نقش مهمی در این فعالیت ایفا می‌کند. علاوه بر پاسخ‌های ایمنی فوری، هموسیت‌ها همچنین تأمین‌کنندگان مهم پپتیدهای ضد میکروبی مختلف، لک‌تین‌ها، مهارکننده‌های پروتئیناز و اوپسونین‌ها مانند پروتئین چسبندگی سلولی پروکسینکتین هستند (شکل ۱)

استخرهای تکثیر و پرورش بطور گسترده‌تر حضور داشته باشد. بر اساس مطالعات اخیر عوامل محیطی مانند دما، شوری، اکسیژن محلول می‌تواند بر بقا، استقرار و تکثیر این باکتری مؤثر باشد (Sheikhasadi et al., 2024).

سیستم ایمنی میگو

سازوکار دفاعی در سخت‌پوستان شامل دو نوع سیستم ایمنی ذاتی و ایمنی اکتسابی است. ایمنی ذاتی بر پایه پاسخ‌هایی است که میزبان در نخستین مواجهه با عامل بیماری‌زا از خود نشان می‌دهد و به ویژگی‌های گونه‌ای و ژنتیکی بستگی دارد. در مقابل، ایمنی اکتسابی شامل پاسخ‌هایی است که پس از مواجهه اولیه با یک پاتوژن مهاجم یا آنتی‌ژن و مواد متابولیتی درون بدن ایجاد می‌شود (Bouallegui, 2006; Jiravanichpaisal et al., 2021; Xin and Zhang, 2023). این ساز و کار دفاعی، شامل مکانیسم‌های ایمنی سلولی و ایمنی خونی است. پاسخ‌های ایمنی سلولی در سخت‌پوستان شامل فعالیت و عملکرد انواع مختلف سلول‌های موجود در همولنف سخت‌پوستان است. پاسخ‌های خونی در واقع نوعی از پاسخ‌های سلولی بوده که با ترشحات سلولی با خواص باکتری‌کشی و جلوگیری از رشد باکتری‌ها همراه خواهند بود. هر دو سازوکار دفاعی خونی و سلولی در یک سری فعالیت‌های هماهنگ و همزمان موجب حذف عوامل بیماری‌زای مهاجم می‌شوند (Cerenius et al., 2010; Huang et al., 2020).

میگو فاقد سیستم ایمنی اکتسابی کامل بوده و عمدتاً به سیستم ایمنی ذاتی وابسته است. اگرچه یافته‌های اولیه در مورد وجود نوعی سیستم ایمنی اکتسابی در بی‌مهرگان از جمله میگو باعث شده تا واکنش‌های در این موجودات امیدوارکننده‌تر به نظر برسد. شواهد جدید نشان می‌دهند که ایمنی ذاتی می‌تواند آموزش‌پذیر و سفارشی شود. این فرآیند که تحت عنوان ایمنی آموزش‌دیده (Trained immunity) شناخته می‌شود، امکان ایجاد نوعی حافظه‌ی ایمنی را فراهم می‌آورد که می‌تواند در مواجهه‌های بعدی از بدن محافظت کند (Hsu et al., 2025). به همین دلیل، تولید واکسن علیه بیماری‌های رایج مانند ویبریوزیس در میان میگوها یک مسیر بسیار امیدوارکننده است. ایده ایمنی اختصاصی در حشرات و سخت‌پوستان برای توضیح مشاهدات افزایش فعالیت فاگوسیتی در هموسیت‌های بندپایان پس از مواجهه قبلی با آنتی‌ژن‌های خارجی مطرح



شکل ۱- مدل شباتیک سیستم ایمنی میگو

اجزای اصلی دیواره سلولی باکتری هستند و پاتوژن‌ها را هیدرولیز و از بین می‌برند (Liang et al., 2020). در بسیاری از بی‌مهرگان، PO نشان‌دهنده پاسخ دفاعی حیاتی میزبان است. PO آنزیم پایانی در سیستم فعال سازی pro-PO است و در واکنش‌های دفاعی میزبان مانند ترمیم زخم، سمیت سلولی و فاگوسیتوز نقش دارد (Sheikhasadi et al., 2024).

سیستم آنتی اکسیدانی میگو

فعالیت‌های آنتی اکسیدانی شاخصی از وضعیت آنتی اکسیدانی و استرس اکسیداتیو در آبزیان هستند. زمانی که تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) افزایش می‌یابد، موجودات زنده قادر به فعال کردن یک مجموعه‌ای از سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلووتاتیون اس-ترانسفراز (GST) و گلووتاتیون پراکسیداز (GSH-Px) ترانسفراز

آنزیم‌های سیستم ایمنی میگو

آنزیم‌های ایمنی مختلف از جمله فنول اکسیداز (PO)، اسید فسفاتاز (ACP)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و لیزوزیم (LSZ) به طور کلی به عنوان شاخصی برای ارزیابی وضعیت ایمنی و مقاومت در برابر بیماری میگو شناخته می‌شوند (Liang et al., 2020). ACP و ALP از انواع مختلفی از فسفومون استرازها تشکیل شده‌اند که برای سیستم ایمنی سخت پوستان بسیار مهم هستند. علاوه بر این، ACP یک جزء مهم از لیزوزوم‌های فاگوسیتی است و در فاگوسیتوز و کپسوله کردن هموسیت‌ها، لیزوزوم‌های فاگوسیتی با آزادسازی ACP نقش آنتی باکتریال دارند. ALP نوعی فسفومون استراز است که به سم زدایی و فاگوسیتوز و در هضم و جذب بسیاری از مواد مغذی کمک می‌کند (Liang et al., 2020). لیزوزیم جزئی از سیستم ایمنی ذاتی میگو است که به عنوان یک پروتئین ضد باکتری عمل می‌کند و موکوپلی ساکاریدها را که

خانواده ایمونوگلوبولین ویژه (IgSF)، نقش مهمی در سیستم ایمنی میگو ایفا می‌کند. با اتصال جایگزین، گروهی از ایزوفرم‌های Dscam ضد عوامل بیماری‌زای خاصی پس از قرار گرفتن در معرض پاتوژن القا شده و شبیه PRRs (گیرنده‌های تشخیص الگو) سیستم ایمنی حشرات عمل کردند. با این وجود، ایزوفرم‌های Dscam در هموسیت‌های میگوی واکنش‌دهنده و واکنش‌دهنده شناسایی شدند. تجزیه و تحلیل بیشتر نشان داد که LvDscam نواحی Ig2 و Ig3 از نظر عملکردی در پاسخ ایمنی اختصاصی میگو در برابر WSSV اهمیت بیشتری دارد، زیرا به شناسایی پاتوژن خاص کمک می‌کند. همین پاتوژن‌ها از طریق فعالیت فاگوسیتیک هموسیت‌های اختصاصی حذف خواهند شد. شواهدی برای نقش فاگوسیتوز در پاک‌سازی ویروسی در میگوی Kuruma، P. japonicus گزارش شده است. این یافته‌ها منجر به انجام چندین مطالعه مستقل در مورد ایمن‌سازی میگو در برابر WSSV شد.

اگرچه مکانیسم‌هایی که زیربنای این پدیده‌ها هستند هنوز به خوبی شناخته نشده‌اند، اما اگر یک میزبان بی‌مهره بتواند تعدادی از پاتوژن‌های مختلف را با ویژگی خاص تشخیص دهد، احتمالاً به یک گیرنده خاص پاتوژن که قادر به تنوع بالا باشد نیاز است. در بندپایان، این ویژگی‌ها در مولکول چسبندگی سلولی سندرم داون (Dscam) یافت می‌شود، که تنوع بسیار بالایی را نشان می‌دهد و از یک تک‌کپی ژن از طریق پیوند جایگزین ایجاد می‌گردد. با این حال، اگر Dscam بخواهد با موفقیت پاسخ تطبیقی پستانداران را تقلید کند، باید انتظار داشت که جمعیت ایزوفرم Dscam بندپایان در پاسخ به میکروارگانیسم‌های مهاجم تغییر کند و ایزوفرم‌های Dscam نیز باید به‌عنوان گیرنده‌های تشخیص خاص پاتوژن عمل کنند (Ng and Kurtz, 2014; Ng et al., 2019; Wan et al., 2019). اگرچه ایزوفرم‌های خاص Dscam ناشی از پاتوژن در بسیاری از گونه‌های بندپایان شناسایی شده‌اند، مکانیسم دقیق تولید این ایزوفرم‌ها در پاسخ به مواجهه با پاتوژن هنوز به‌طور کامل مشخص نیست. فرآیندهایی که تنظیم‌کننده‌ی انتخاب ایزوفرم به صورت اختصاصی هستند، بسیار پیچیده بوده و احتمالاً شامل رقابت ساختار ثانویه RNA، تأثیر مسیرهای

به‌منظور سم زدایی ROS، جلوگیری یا ترمیم آسیب اکسیداتیو هستند (Liang et al., 2020). SOD یک نشانگر زیستی مولکولی برای ارزیابی وضعیت استرس اکسیداتیو موجودات آبی است، زیرا باعث کاتالیز کردن تغییر آنیون‌های سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی می‌شود و یک سیستم دفاعی آنزیمی آنتی‌اکسیدانی خط اول را تشکیل می‌دهد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و CAT مسئول از بین بردن رادیکال‌های سوپراکسید هستند و در مکانیسم‌های محافظتی در آسیب بافتی به دنبال فرآیند اکسیداتیو و فاگوسیتوز نقش دارند (Muralisankar et al., 2014). GSH-Px می‌تواند پراکسیدهای لیپیدی ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن و OH را حذف کند و از یکپارچگی ساختار و عملکرد غشای سلولی محافظت کند. GSH با گلوپاتوژن پراکسیداز در کاهش پراکسید هیدروژن به آب عمل می‌کند، در نتیجه یکپارچگی غشای گلبول‌های قرمز را حفظ می‌کند و از گلبول‌های قرمز در برابر پاتوژن‌ها محافظت می‌کند (Liang et al., 2020).

مولکول چسبنده سلولی سندرم داون (Dscam)

پاسخ ایمنی اختصاصی شامل گروهی از مولکول‌ها به نام Dscam (مولکول چسبنده سلولی سندرم داون)، نوعی ایمونوگلوبولین است که نقش کلیدی در سیستم ایمنی اکتسابی جایگزین بی‌مهرگان دارد. نخستین یافته‌ها در این زمینه توسط کورتز و فرانز در سال ۲۰۰۳ در مورد ایمنی اکتسابی جایگزین در بی‌مهرگان گزارش شد. در مطالعات آن‌ها، کاهش قابل توجهی در میزان عفونت مجدد گونه‌ای از کوبه پودا بنام *Macrocyclus albidus* در برابر زیر کرم نواری *Schistocephalus solidus* مشاهده شد (Kurtz and Franz, 2003). این پاسخ ایمنی ویژه در سایر بی‌مهرگان مانند مگس میوه (*Drosophila melanogaster*)، زنبور عسل (*Bombus terrestris*) و پشه (*Anopheles gambiae*) نیز گزارش شده است (Hizawa et al. 2024).

در همین زمینه، مطالعات انجام شده روی میگو بیانگر ایمنی زایی عواملی مانند ویروس غیرفعال، پروتئین ویروسی نوترکیب و باکتری‌های غیرفعال در محافظت از میگوها از مرگ و میر توسط عوامل بیماری‌زای مرتبط بود. نتایج این مطالعات نشان داد Dscam، به عنوان عضوی از

سلول‌های ویبریوی غیرفعال استفاده می‌شوند. روش‌ها هنوز هم بسیار مرتبط هستند، زیرا نه تنها ساده و ارزان هستند، بلکه منجر به تولید یک واکسن پایدار نیز می‌شوند (Amatul-Samahah et al., 2020). به طور کلی، انواع مختلفی از واکسن وجود دارد که شامل واکسن‌های غیرفعال، ضعیف شده زنده، زیر واحد، نوترکیب، DNA و مصنوعی/پیتیدی می‌شود. همه این واکسن‌ها در اصل از خود پاتوژن گرفته شده‌اند (Sivasankar et al., 2017). واکسن یک آماده سازی بیولوژیکی است که حاوی آنتی ژن‌هایی است که شبیه یک پاتوژن است. آنتی ژن، سیستم ایمنی بدن را برای شناسایی پاتوژن تحریک می‌کند تا سیستم ایمنی بتواند به راحتی میکروارگانیسم همولوگ را از بین ببرد (Kumar et al., 2018).

مطالعات مختلف از غیرفعال کردن کل سلول برای ایمنی زایی استفاده کرده اند. اگرچه از بیوفیلیم‌های *V. alginolyticus* و لیپوپلی ساکارید *V. harveyi* برای واکسیناسیون میگو استفاده شده است. با این حال، جداسازی این اجزا از عوامل بیماری‌زا نیازمند یک مرحله آماده سازی پیچیده و زمان بر است. نشان داده شده است که این مواد محافظت در برابر بیماری AHPND را در گروه درمان در مقایسه با گروه کنترل بهبود می‌بخشد (Amatul-Samahah et al., 2020).

آزمایش میدانی دیگری توسط Ray و همکاران در سال ۲۰۱۷ انجام شد. پست‌لاروهای *P. monodon* در تراکم‌های مختلف (کم، متوسط و زیاد) در سه مزرعه مختلف ذخیره سازی شد. واکسن غیرفعال از طریق تغذیه تزریق شد. غذای میگو با سلول‌های *V. anguillarum* کشته شده با فرمالین پوشانده شد و میگوها در طول دوره پرورش به میزان دو روز متوالی در هفته و تا زمان برداشت به مدت حدود ۱۴۰ روز تغذیه شدند. پارامترهای کیفیت آب حوضچه‌های پرورش در محدوده بهینه نگه داشته شد تا از نوسانات قابل توجهی که باعث ایجاد استرس به میگو می‌شود جلوگیری شود. مشخص شد که سطح تعداد کل هموسیت‌ها و فعالیت پروفنول اکسیداز در میگوهای بالغ دریافت کننده خوراک پوشش داده شده با واکسن به طور قابل توجهی نسبت به میگوهای دریافت کننده خوراک شاهد بالاتر بود. به طور کلی، مطالعه به این نتیجه رسید که تجویز خوراکی واکسن ویبریو از طریق خوراک باعث

انتقال سیگنال، تنظیم‌کننده های اتصال، به‌ویژه پروتئین‌های غنی از سرین/آرژنین (SR) و پیچ‌هویت RNA و نیز دخالت شبکه‌های موضوعی اسپیلیسیگ RNA می‌شوند (Hung et al., 2013).

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که در مواجهه با باکتری‌ها و ویروس‌های مختلف، ترکیب ایزوفرم‌های Dscam در هم‌گام با پاتوژن تغییر می‌کند؛ به‌طوری‌که برخی ایزوفرم‌ها فقط بعد از تماس با یک پاتوژن خاص تولید می‌شوند و این نشان‌دهنده‌ی نقش آن‌ها در یک نوع ایمنی اختصاصی شبه‌تطبیقی است. با این حال، هنوز مشخص نیست که چه سیگنال‌های سلولی یا انتقال‌دهنده‌هایی این انتخاب را القا می‌کنند. شواهد اولیه شامل فعالیت‌های RNAi حاوی اثرات متفاوت در تنوع اسپیلیسیگ و فازهای مختلف ایمنی است، اما هنوز بخش بزرگی از این مکانیسم‌ها ناشناخته باقی مانده‌اند و نیاز به پژوهش‌های کاربردی‌تری دارند (Amatul-Samahah et al., 2020).

مطالعات توسعه واکسیناسیون میگو

توسعه‌ی واکسن‌های تجاری با چالش‌های زیادی همراه است، از جمله سیستم‌های ایمنی منحصر به فرد میگو که هنوز به‌طور کامل شناخته نشده‌اند، و نیز نیاز به روش‌های حساس برای ارائه‌ی واکسن که بتواند پاسخ ایمنی قوی و موثر ایجاد کند. از سوی دیگر، اخیراً روش‌های نوینی مانند واکسیناسیون خوراکی با باکتری‌های بی‌خطری که ژن‌های آنتی‌ژن را به سلول‌های میزبان منتقل می‌کنند نیز اثرات محافظتی قابل‌توجهی در افزایش مقاومت میگو به ویروس‌ها نشان داده‌اند (Cheng et al., 2025). بنابراین، مهم‌ترین گام بعدی در تکمیل قابلیت واکسیناسیون بر علیه ویبریوزیس، انجام مطالعه‌های جامع و چندجانبه در سطح مولکولی، سلولی و زیست‌محیطی است تا بتوان ویژگی‌های ایمنی آموزش‌پذیر را در میگو کشف کرد و از آن‌ها برای طراحی واکسن‌های ایمن و موثر بهره برد. این گزارش به بررسی تحقیقاتی می‌پردازد که در راستای توسعه واکسن علیه نکروز حاد هیپاتوپانکراس در میگو و پتانسیل آن انجام شده است.

تحقیقات در زمینه تولید واکسن میگو از اواخر دهه ۱۹۸۰ آغاز شد. در آن سال‌ها، پاتوژن‌ها با استفاده از گرما یا فرمالین برای تولید واکسن غیرفعال می‌شدند. این روش‌ها هنوز به طور گسترده در مطالعات اخیر برای تولید

parahaemolyticus با شد و این واکسن DNA می‌تواند به عنوان یک واکسن مؤثر برای کنترل سندرم بیماری نکروز حاد هپاتوپانکراس (AHPND) در میگو استفاده شود (Madsari et al., 2022).

روش های تجویز واکسن به میگو

روش های اصلی تجویز واکسن به میگو شامل تجویز خوراکی از طریق تغذیه، تزریق به بخش سفالوتوراکس، تزریق عضلانی و تجویز طریق غوطه وری می‌باشد. با این حال، میزان جذب آنتی ژن ممکن است در بین موجودات متفاوت باشد. علاوه بر این، آنتی ژن باید از روده عبور کند که منجر به از دست دادن ایمنی زایی می‌شود. با این حال، میگو باید در مراحل اولیه زندگی، مانند مرحله پست لارو یا لاروی، واکسینه شود. با در نظر گرفتن اندازه موجود، تجویز خوراکی و غوطه وری بیشترین اهمیت را دارد. علاوه بر این، افزودن کربوکسی متیل β -1,3-گلوکان (CMBG) به واکسیناسیون، کارایی آن را افزایش می‌دهد (Radhakrishnan et al., 2023; Gomes et al., 2024; Munangandu et al., 2024; Hsu et al., 2025; Zhang et al., 2025; Wongtavatchai et al., 2025). همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند که پست لارو میگوی ببری سیاه (P. monodon)، و میگوی سفید غربی (L. vannamei)، با آرتیمیا غنی شده با Vibromax (تنها واکسن Vibrio شناخته شده AquaVac™ Vibromax توسط شرکت بهداشت حیوانات (Schering-Plough) به مدت ۱۰ روز مداوم تغذیه شدند و سپس با یک حمام غوطه وری با V. parahaemolyticus به چالش کشیده شدند.

بهبود ایمنی و افزایش تولید در استخرهای پرورش میگو می‌گردد (Ray et al., 2017).

در مطالعه‌ای توسط Madsari و همکاران در سال ۲۰۲۲ تعیین اثربخشی استفاده از ژن پروتئاز سرین به عنوان واکسن DNA برای محافظت در برابر عفونت Vibrio parahaemolyticus در میگوی سفید غربی مورد بررسی قرار گرفت. ژن پروتئاز سرین برای جایگزینی باقیمانده‌های حفاظت شده His82، Asp131 و Ser231 به ترتیب با Gly، Asp و Pro جهش یافت. سپس، یک وکتور pcDNA3.1 برای بیان mutVpSP (سرین پروتئاز جهش یافته) برای بررسی واکسن DNA در محیط in vitro و in vivo ساخته شد. تجزیه و تحلیل رونویسی mutVpSP در محیط in vivo بیان آن را در بافت‌های مختلف میگوی سفید غربی واکسینه شده، مانند هموسیت‌ها، هپاتوپانکراس، معده، روده، آبشش‌ها و ماهیچه‌ها نشان داد. اثر بخشی پیشگیری از عفونت V. parahaemolyticus در میگوهای واکسینه شده بررسی شد و کمترین درصد تلفات تجمعی ۳۰ درصد بود، در حالی که میگوی شاهد دارای نرخ تلفات تجمعی ۶۰ درصد بود. سیستم ایمنی در میگوهای واکسینه شده با واکسن DNA تحریک شد. بیان mRNA ژن‌های فنول اکسیداز، پروکسینکتین و لکتین نوع C میگو که سیستم ایمنی پاسخ‌دهنده میگو هستند به طور قابل توجهی تنظیم شده بود. علاوه بر این، پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی، از جمله فعالیت‌های PO، فاگوسیتیک و کپسوله‌سازی و تشکیل ندول، افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که پروتئاز سرین می‌تواند یک تعیین‌کننده حدت V.

جدول ۱- پژوهش‌های انجام شده در رابطه با واکسیناسیون علیه V. parahaemolyticus در میگو

عامل بیماری‌زا	گونه	نوع واکسن	روش تجویز	اثر بخشی	منابع
V. parahaemolyticus	P. monodon و P. vannamei	سلول‌های ویبریو کشته‌شده با فرمالین	خوراکی	محرک رشد و بازماندگی پست لارو میگو	Wongtavatchai et al., 2010
V. parahaemolyticus	P. vannamei	سلول‌های ویبریو کشته‌شده با فرمالین	خوراکی	افزایش قابل توجه در نرخ بقا و ارتقای سلامت میگو	Heidarieh et al., 2010
V. parahaemolyticus	P. vannamei	سلول‌های ویبریو کشته‌شده با فرمالین	خوراکی و عضلانی	تقویت انتخابی دفاع‌های سلولی میگو	Powell et al., 2011

می‌بخشد (Chan et al., 2019; Guzman-Villanueva et al., 2020) اما استفاده ترکیبی از پروبیوتیک‌ها با واکسن‌های *Vibrio* گزارش نشده است (Madsari et al., 2022). Traifalgar و همکاران در سال ۲۰۱۳، لیپوپلی ساکارید ویبریو را همراه با پری بیوتیک فوکویدان که از جلبک قهوه‌ای *Fucus vesiculosus* استخراج گردیده را طی پژوهشی به میزان ۲ میلی گرم بر کیلوگرم غذای میگو مورد استفاده قرار دادند و نرخ بازماندگی، فعالیت فاگوسیتوزی، فعالیت همولایزیز و تعداد کل هموسیت‌ها را تحت تیمارهای آزمایشی مختلف مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که استفاده از واکسن به تنهایی در تیمارهای آزمایشی موجب بهبود و افزایش پارامترهای مورد نظر شده است.

نتیجه‌گیری

پرورش میگو یکی از بخش‌های مهم و در حال رشد صنعت آبی‌پروری در سطح جهان است، اما این صنعت همچنان به شدت تحت تأثیر شیوع بیماری‌های ویروسی و باکتریایی قرار دارد. اگرچه میگو فاقد یک سیستم ایمنی اکتسابی کلاسیک مشابه مهره‌داران است لیکن مطالعات وجود نوعی ایمنی ذاتی آموزش‌پذیر را نشان داده است. بر همین اساس، برخی از مزارع تجاری پرورش میگو در سال‌های اخیر از استراتژی‌های واکسیناسیون و ایمنی‌زایی غیرکلاسیک برای کاهش بروز بیماری و افزایش مقاومت میزبان در برابر پاتوژن‌های شایع استفاده کرده‌اند (Hsu et al., 2025). نتایج بدست آمده در مورد حافظه ایمونولوژیک میگو، بیانگر آن است که واکسیناسیون میگو می‌تواند یک

یافته‌های کلی این مطالعه نشان داد که *Vibromax* ر شد و بقای پست لاروها را افزایش می‌دهد. با این حال، کارایی واکسن ممکن است با توجه به دوز تجویز شده و شرایطی که از قبل برای پست لارو وجود داشته، متفاوت باشد.

تقویت تأثیر واکسن با استفاده از مکمل‌های عملکردی خوراک

مطالعات نشان داده است تجویز واکسن ویبریو با پری بیوتیک‌ها تأثیر واکسیناسیون را بر پاسخ ایمنی میگو افزایش داد. بتا گلوکان یک پری بیوتیک معمولی است که در آبی‌پروری استفاده می‌شود و مدت‌هاست به عنوان یک افزودنی در رژیم غذایی آبی‌پروری برای بهبود پاسخ ایمنی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در میگو، β -گلوکان در تقویت پاسخ ایمنی ذاتی نقش داشت. بر اساس این مطالعه، تجویز خوراکی واکسن ویبریو با بتا گلوکان منجر به افزایش فعالیت‌های باکتری‌کشی، فنل اکسیداز و فاگوسیتوز شده و در نهایت منجر به بقای بهتر شد. یکی دیگر از پری بیوتیک‌های بالقوه در این زمینه فوکویدان می‌باشد که یک پلی ساکارید مشتق شده از ریزجلبک‌ها است. نشان داده شده است که تجویز فوکویدان از طریق رژیم غذایی باعث افزایش پاسخ ایمنی میگو می‌شود و در نتیجه بقای بهتری را در پی چالش با عامل بیماری‌زا در مقایسه با تجویز واکسن ویبریو به تنهایی ایجاد کرد. بنابراین، در ساخت واکسن ویبریو، تجویز همراه با پری بیوتیک‌ها باید به طور جدی در نظر گرفته شود تا واکنش سیستم ایمنی میگو در برابر یک پاتوژن به حداکثر برسد. در مورد پروبیوتیک‌ها، استفاده از آن به تنهایی سیستم ایمنی میگو را بهبود

جدول ۲: آزمایش تجربی واکسن ویبریو به همراه پری بیوتیک‌ها

نوع واکسن	نوع پری بیوتیک	غلظت	پارامتر	نتایج	منابع
سلول‌های ویبریو کشته شده با فرمالین	کربوکسی متیل بتا-۱ و ۳-گلوکان	۰.۱ درصد غذا	فعالیت باکتری‌کشی فعالیت انفجار تنفسی فعالیت فنول اکسیداز	افزایش پارامترها در تیمارهای واکسن + پری بیوتیک	Devaraja et al., 1998
سلول‌های ویبریو کشته شده با فرمالین	کربوکسی متیل بتا-۱ و ۳-گلوکان	۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیومس	نرخ بازماندگی تعداد کل هموسیت‌ها فعالیت باکتری‌کشی فعالیت فنول اکسیداز	افزایش پارامترها در تیمارهای واکسن + پری بیوتیک	Klannukarn et al., 2004
بیوفیلیم ویبریو غیرفعال شده با فرمالین	کیتین	۰.۶ درصد وزن بدن	نرخ بازماندگی شاخص-های رشد	افزایش پارامترها در تیمارهای واکسن + پری بیوتیک	Vina et al., 2019

Shellfish Immunol. 101, 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.03.061>.

6. Bouallegui, Y. 2021. A Comprehensive Review on Crustaceans' Immune System With a Focus on Freshwater Crayfish in Relation to Crayfish Plague Disease. *Frontiers Immunology*, 13:12:667787. doi: 10.3389/fimmu.2021.667787.

7. Cerenius, L., Jiravanichpaisal, P., Liu, H., 2010. Crustacean immunity. 708:239-59.

8. Chan, Y.H., Chu, K.H., Chan, K.M., 2019. Ecdysteroid-mimicking compounds act as both agonists and antagonists to the crustacean ecdysone receptor. *Chemosphere*, 237, 12455. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124551>

9. Cheng, C.-H., Huang, W.-S., Chen, I.-T., and Chang, Y.-S. 2025. Advances in anti-WSSV immune mechanisms of penaeid shrimp: decoding host-pathogen interactions for WSSD resilience. *Aquaculture International*, 33, 506. <https://doi.org/10.1007/s10499-025-02095-5>

10. de la Pena, L.D. et al., 2015. Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) outbreaks in *Penaeus vannamei* and *P. monodon* cultured in the Philippines. *Dis Aquat Org*. 116:251–254. DOI: <https://doi.org/10.3354/dao02919>.

11. Devaraja, T.N., Oha, S.K., Shubha, G., Karunasagar, I., Tauro, P., 1998. Immunostimulation of shrimp through oral administration of *Vibrio bacterin* and yeast glucans. In: Flegel, T.W. (Ed.), *Advances in Shrimp Biotechnology*. National Centre for Engineering and Biotechnology, Bangkok, Thailand, pp. 167–170.

12. Elbahnaswy, S., Zahran, E., El-Son, M., El-Gawad, E., Shosha, M., and Sebaei, M. 2025. Advances in anti-WSSV immune mechanisms of penaeid shrimp: decoding Host-Pathogen Interactions for WSSD Resilience. *Aquaculture International*, 33:506. <https://doi.org/10.1007/s10499-025-02095-5>.

13. Guzmán-Villanueva, L.T., Escobedo-Fregoso, C., Barajas-Sandoval, D.R., Gomez-Gil, B.,

14. Harvey, M.S., Ching, Y.T., et al., 2019. Diagnosis and potential treatments for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): a review. *Aquaculture International*, 28: 169-185. doi: 10.1007/s10499-019-00451-w.

15. Heidarieh, M., Afsharnasab, M., Soltani, M., Dashtyannasab, A., 2010. Effects of ergosan and Vibromax to prevent vibriosis and WSSV in *L. vannamei*. *J. Fish Aqua Sci*. 5, 120–125. <https://doi.org/10.3923/jfas.2010.120.125>.

16. Hizawa, K., Sasaki, T., & Arimura, N. (2024). A comparative overview of DSCAM and its multifunctional roles in *Drosophila* and vertebrates. *Neuroscience Research*, 202, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2023.12.005>

17. Hsu, J. C. K., Hsu, T., Guan, S., Chi, P., and Chen, L. 2025. Development of an oral vaccine

گزینه امیدوارکننده در صنعت آبی پروری میگو برای مهار یا کنترل وقوع بیماری مانند AHPND باشد. بنابراین ضروری است تلاش‌های تحقیقاتی با استفاده از مواد مشتق شده از باکتریهای بیماریزای ویبریو یا کل سلول‌های غیرفعال شده ویبریو برای تحریک سیستم ایمنی میگو در برابر ویبریوزیس با تمرکز بر دو گونه تجاری پنائید *P. monodon* و *vannamei* برجسته‌تر شود. اگرچه نتایج همیشه یکسان نیستند، اما واکسیناسیون میگو با زیر واحدهای بیماری‌زا و پلاسמידهای DNA حامل ژن‌های آنتی ژن باعث ایجاد ایمنی محافظتی در برابر چندین بیماری بیماری‌زا می‌شود. واکسیناسیون میگو برای کنترل یا کاهش بروز بیماری نکروز حاد هپاتوپانکراس میگو یک انتخاب قابل قبول است. واکسیناسیون میگو سیستم ایمنی آن را به آسانی برای محافظت در برابر یک عامل بیماری‌زا تقویت می‌کند و در نتیجه بروز بیماری را کاهش می‌دهد. با این حال، در توسعه و تجویز واکسن، باید بر اقداماتی مانند مدیریت بهینه مزرعه با تکیه بر اصول بهداشتی در نظر گرفته شود.

منابع:

1. Aguilar-Rendon, K.G., Soto-Rodriguez, S.A, Gomez-Gil, B., Lozano-Olvera, R., and Yanez-Rivera, B. 2022. Water microbiome dynamics of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* infected with *Vibrio parahaemolyticus* strains responsible for acute hepatopancreatic necrosis disease. *Aquaculture*. 551:737871. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737871>.

2. Amatul-Samahah, Md. A., Omar, W., Ikhsan, NFM., Azmai, Mn., Zamri-Saad, M., and Ina-Salwany, Md. Y., 2020. Vaccination trials against vibriosis in shrimp: A review. *Aquaculture Reports*, 18 (100471) : 2352-5134. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100471>.

3. Armitage, S.A.O., Peuß, R., Kurtz, J., 2015. Dscam and pancrustacean immune memory – a review of the evidence. *Dev. Comp. Immunol*. 48 (2), 315–323. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.03.004>.

4. Bhassu, S., Shama, M., Tiruvayipati, S., Soo, T., Ahmed, N., and Yusoff, Kh. 2024. Microbes and pathogens associated with shrimps - implications and review of possible control strategies. *Frontiers in Marine Science*, 1-20. DOI: 10.3389/fmars.2024.1397708.

5. Boonyakida, J., Xu, J., Satoh, J., Nakanishi, T., Mekata, T., Kato, T., Park, E.Y., 2020. Antigenic properties of VP15 from white spot syndrome virus in kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*. *Fish*

28. Li, Q., Zhang, T., and Chen, J. 2025. Alternatives to antibiotics in aquaculture: Progress and future perspectives on vaccines, probiotics, and phage therapy. *Aquaculture*, 585, 740123. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2025.740123>
29. Liang F et al. 2020 Effects of chitosan-gentamicin conjugate supplement on non-specific immunity, aquaculture water, intestinal histology and microbiota of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Mar Drugs* 18. <https://doi.org/10.3390/md18080419>.
30. Madsari, N., Maskaw, S., Obchoei, S., Kwankaew, P., Senghoi, W., Utarabhand, P., and Runsaeng, P. 2022. Determination of the efficacy of using a serine protease gene as a DNA vaccine to protect against *Vibrio parahaemolyticus* infection in *Litopenaeus vannamei*. *Developmental and Comparative Immunology*, 135 (104459): 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2022.104459>.
31. Munang'andu, H. M., He, J. G., and Sommerset, I. 2024. Immersion vaccination strategies in aquaculture: mucosal immune activation and adjuvant optimization. *Fish and Shellfish Immunology*, 122, 231-248. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2024.06.010>
32. Muralisankar T, Bhavan PS, Radhakrishnan S, Seenivasan C, Manickam N, Srinivasan V. 2014. Dietary supplementation of zinc nanoparticles and its influence on biology, physiology and immune responses of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Biol Trace Elem Res* 160:56–66. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-0026-4>.
33. Ng, T.H., Chiang, Y.-A., Yeh, Y.-C., Wang, H.-C., 2014. Review of Dscam-mediated immunity in shrimp and other arthropods. *Developmental and Comparative Immunology*. 48 (2), 306–314. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.07.017>.
34. Ng, T.H., Kumar, R., Apitanyasai, K., He, S.-T., Chiu, S.-P., Wang, H.-C., 2019. Selective expression of a “correct cloud” of Dscam in crayfish survivors after second exposure to the same pathogen. *Fish Shellfish Immunol*. 92, 430–437. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.06.023>.
35. Ng, T.H., Kurtz, J., 2019. Dscam in immunity: a question of diversity in insects and crustaceans. *Dev. Comp. Immunol*. 103539. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2019>.
36. Patil, P.K., Gopal, C., Panigrahi, A., Rajababu, D., Pillai, S.M., 2013. Oral administration of formalin killed *V. anguillarum* cells improves growth and protection against challenge with *V. harveyi* in banana shrimp. *Lett. Appl. Microbiol*. 58, 213–218. <https://doi.org/10.1111/lam.12176>.
37. Peña-Rodríguez, A., Martínez-Díaz, S.F., Balcázare, J.L., Quiroz-Guzmán, E., 2020. Assessment of microbial dynamics and antioxidant enzyme gene expression following probiotic administration in farmed Pacific white shrimp (*L. delivery systems against major shrimp pathogens: a comprehensive review. Aquaculture*, 598, 742010. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2025.742010>
18. Hsu, J. C. K., Hsu, T., Guan, S., Chi, P., Chiang, C., Pouton, C. W., Wong, Z., Huang, P., and Chen, L. 2025. Development of an oral vaccine delivery system for shrimp aquaculture using attenuated *Listeria monocytogenes*. *Aquaculture*, 597, 741940. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741940>
19. Huang, Z., Aweya, J., Zhu, Ch., Tran, N., Hong, Y., Zhang, Y., 2020. Modulation of Crustacean Innate Immune Response by Amino Acids. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.574721>.
20. Huang, Zh., Liao, Y., Du, J., Yang, Zh., Li, F., Ruan, L., and Shi, H. 2025. Transcriptomic insights into the resistance mechanism of *Penaeus vannamei* against highly lethal *Vibrio parahaemolyticus*. *Scientific Reports*, 15:13490. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-96168-3>.
21. Hung, H.Y., Ng, T.H., Lin, G.H., Chiang, Y.A., Chuang, Y.A., and Wang, H.Ch. 2013. Properties of *Litopenaeus vannamei* Dscam (LvDscam) isoforms related to specific pathogen recognition. *Fish and Shellfish Immunology*, 35: 1272-1281. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2013.07.045>.
22. Jiravanichpaisal, P., B. L. Lee and Soderhall, K. 2006. Cell-mediated immunity in arthropods: Hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonization. *Immunobiology* , 211:213-236.
23. Klannukarn, S.S., Wongprasert, K., Khanobdee, K., Meeratana, P., Taweepreda, P., Withyachumnarnkul, B., 2004. *Vibrio* Bacterin and carboxymethyl β -1,3-glucans protect *P. monodon* from *V. harveyi* infection. *J. Aquat. Anim. Health* 16, 238–245. <https://doi.org/10.1577/H04-022.1>.
24. Kumar, K.P., Kumar, D.R., Saikumar, B. and Kumar, B.G. 2024. TYPES OF DISEASE & MANAGEMENT IN “LITOPENAEUS VANNAMEI”. *International Journal of Current Science*, 14: 2250-1770. doi: 10.1007/978-1-4419-8059-5_13.
25. Kumar, M., Gupta, G., Vikas, Sharma, S., 2018. Feed based vaccine in aquaculture. *Farm Marine Biol*. 1 (2), 180013. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1397708>.
26. Kumar, V., Roy, S., Behera, B.K., Bossier, P., and Das, B.K. 2021. Acute hepatopancreatic necrosis disease (Ahpnd): Virulence, pathogenesis and mitigation strategies in Shrimp aquaculture. *Toxins*. 13(8):1–28. 13(8), 524; <https://doi.org/10.3390/toxins13080524>.
27. Kurtz, J., Franz, K., 2003. Innate defence: evidence for memory in invertebrate immunity. *Nature* 425, 37–38. <https://doi.org/10.1038/425037a>.

tdh + / trh + genotypes. BMC Genomics, 25:178. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10093-9>.

48. Vinay, T.N., Ray, A.K., Avunje, S., Thangaraj, S.K., Krishnappa, H., Viswanathan, B., Reddy, M.A., Vijayan, K.K., 2019. V. harveyi biofilm as immunostimulant candidate for high-health pacific white shrimp, P. vannamei farming. Fish Shellfish Immunol. 95, 498–505. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.004>.

49. Wan, Z.-C., Li, D., Li, X.-J., Zhua, Y.-T., Gao, T.-H., Li, W.-W., Wang, Q., 2019. B52 promotes alternative splicing of Dscam in Chinese mitten crab, Eriocheir sinensis. Fish Shellfish Immunol. 87, 460–469. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.01.027>.

50. Watson FL, Püttmann-Holgado R, Thomas F, Lamar DL, Hughes M, Kondo M, et al. 2005. Extensive diversity of Ig-superfamily proteins in the immune system of insects. Science, 309:1874e8.

51. Wongtavatchai, J., Lopez-Doriga, M.V., Francis, M.J., 2010. Effect of AquaVac™ Vibromax™ on size and health of post larva stage of pacific white shrimp L. vannamei and black tiger shrimp P. monodon. Aqua 308, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.08.017>.

52. Xin, F., and Zhang, X., 2023. Hallmarks of crustacean immune hemocytes at single-cell resolution. Frontiers Immunology, 24; 14:1121528. doi: 10.3389/fimmu.2023.1121528

53. Zhang, L., Zeng, Z., Hu, C., Bellis, S. L., and Yang, W. 2025. Effect of CMBG as an adjuvant on immune responses in shrimp vaccination. Journal of Fish Diseases, 48(1), 94-109. <https://doi.org/10.1111/jfd.14520>

vannamei). Aqua 519, 734907. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734907>.

38. Powell, A., Pope, E.C., Eddy, F.E., Roberts, E.C., Shields, R.J., Francis, M.J., Smith, P., Topps, S., et al., 2011. Enhanced immune defences in Pacific white shrimp (L. vannamei) post-exposure to a vibrio vaccine. J. Invertebr. Pathol. 107, 95–99. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2011.02.006>.

39. Radhakrishnan, A., Vaseeharan, B., Ramasamy, P., and Jeyachandran, S. 2023. Oral vaccination for sustainable disease prevention in aquaculture an encapsulation approach. Aquaculture International, 31(2), 867-891. <https://doi.org/10.1007/s10499-022-01004-4>

40. Ray, A.K., Gopal, C., Solanki, H.G., Ravisankar, T., Patil, P.K., 2017. Effect of orally administered vibrio bacterin on immunity, survival and growth in tiger shrimp (P. monodon) grow-out culture ponds. Lett. Appl. Microbiol. 65 (6), 475–481. <https://doi.org/10.1111/lam.12802>.

41. Sheikh Asadi, M., Naji, A., Sourinejad, I., Gharaei, A., Niroomand, M., 2024. Distinct effects of dietary chitosan, ZnO, and chitosan-ZnO nanocomposite on the performance and diet economic efficiency of Pacific white shrimp (Penaeus vannamei). Aquaculture International, <https://doi.org/10.1007/s10499-024-01586-1>.

42. Sheikh Asadi, M., Sourinejad, I., Mortazavi, M., Mohebbi Nozar, L., and vahedi sarrigani, M. 2024. A review of AHPND in Penaeus vannamei, The 11th Iranian National Conference on Ichthyology. University of Hormozgan. 1-5.

43. Sivasankar, P., John, K.R., George, M.R., Anushalini, S.V., Kaviarasu, D., Petchimuthu, M., 2017. Prophylactics in shrimp aquaculture health management: a review. J. Entomol. Zool. Stud. 5, 1049–1055.

44. Soto-Rodriguez, S.A., Lozano-Olvera, R., Montfort, G.R.C, Zenteno, E., Sánchez-Salgado, J.L, Vibanco-Pérez N, Aguilar Rendón, K.G. 2022. New Insights into the Mechanism of Action of PirAB from Vibrio Parahaemolyticus. Toxins. 14 (4): 243. <https://doi.org/10.3390/toxins14040243>

45. Traifalgar, R.F.M., Corre, V.L., Serrano, A.E., 2013. Effect of dietary immunostimulants to enhance the immunological responses and vibriosis resistance of juvenile P. monodon. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 8, 340–354. <https://doi.org/10.3923/jfas.2013.340.354>.

46. Vandeputte, M., Abul Kashem, M., Bossier, P. and Vanrompay, D. 2024. Vibrio pathogens and their toxins in aquaculture: A comprehensive review. Aquaculture. 16(4): 1858-1878. <https://doi.org/10.1111/raq.12926>.

47. Vandeputte, M., Coppens, S., Bossier, P., Vereecke, N. and Vanrompay, D. 2024. Genomic mining of Vibrio parahaemolyticus highlights prevalence of antimicrobial resistance genes and new genetic markers associated with AHPND and