한국어병학회지 제33권 제2호 (2020)
J. Fish Pathol., 33(2) : 145~151

www.ksfp.org
pISSN 1226-0819, eISSN 2233-5412
http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2020.33.2.145

저염도에서 생육가능한 미생물 probiotics가 저염분 양식의 흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*)의 성장 및 면역능에 미치는 영향

배준성 · 이채원 · 양찬영 · 정은하 · 김은진 · 박관하†

군산대학교 해양과학대학 수산생명의학과

Effect of low salinity probiotics on the growth and non-specific immunity of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured under low salinity conditions

Jun Sung Bae, Chae Won Lee, Chan Yeong Yang, Eun Ha Jeong, Eun-Jin Kim and Kwan Ha Park†

Departments of Aquatic Life Medicine, College of Ocean Science and Technology, Kunsan National University, Gunsan City, Jeonbuk, Korea 54150

The whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* can survive in a wide range of salinity (1-40 psu). However, such variation, particularly at low salinity (1-5 psu), can affect various physiological changes such as survival rates, non-specific immunity and disease resistance. In this study, growth, non-specific immunity and disease resistance were measured following simultaneous oral feeding and addition of probiotic microbes into culture water for 73 day period. The salinity of the culture water was maintained at 3 psu by periodical salt additions. The result shows that survival rate increased significantly (5.6 vs. 15.4%) after 73 day rearing. Significant increases were identified in reactive oxygen species (ROS) production and phenol oxidase (PO) activity. However, superoxide dismutase (SOD) activity was not influenced. When the shrimp was artificially challenged with *Vibrio alginolyticus*, slight mortality reduction was observed in the probiotics-treated group (100 vs. 79%). In conclusion, the production of cultured whiteleg shrimp at low salinity might be increased by probiotics survivable at low salinity levels.

Key words: Whiteleg shrimp, Probiotics, Low salinity, Non-specific immunity

서 론

과거 우리나라 새우 양식 산업은 보리새우(*Marsupenaeus japonicus*)와 대하(*Fenneropenaeus chinensis*)를 중심으로 이루어졌으나 흰반점바이러스(WSSV)에 의해 산업적으로 큰 피해를 입어왔다(Heo *et al*., 2000; Jang *et al*., 2009). 따라서 상대적으로 WSSV에 강하며 무병종묘(specific pathogen free) 계열이 산업화되어 있는 흰다리새우(*Litope-*

†Corresponding author: Kwan Ha Park
Tel: +82-63-469-1885, Fax: +82-63-463-9493
E-mail: khpark@kunsan.ac.kr

naeus vannamei)가 도입된 후 새우 양식산업이 급격히 성장하였다. 흰다리새우 생산량이 도입 초기인 2006년 661톤에서 2019년 7,542톤으로 급격히 증가하였으며 국내 새우양식 생산량 중 99% 이상을 차지하여 새우 양식에서 가장 중요한 종으로 자리잡았다(KOSIS, 2020). 흰다리새우는 광범위한 염분 조건에서 생존이 가능하기 때문에(Ponce-Palafox *et al*., 1997; Davis *et al*., 2004) 전 세계적으로 선호되는 양식어종이다. 국내에서의 상당수 양식장은 저염분 양식을 택하고 있다. 하지만 저염분 양식은 다양한 생리적 변화를 초래하는데, 개체가 어릴수록 염분변화에 적응하는 능력이 떨어지며(Ogle *et al*., 1992; McGraw *et al*., 2002), 항산화능이 감소하고(Liu *et al*., 2007), 산소 소비량이 증가되며 생존율이 감소된다(Li *et al*., 2007; Lin *et al*., 2012). 또한 암모니아와 아질산의 급성독성이 증가하고(Lin and Chen, 2001; Lin and Chen, 2003) 다양한 비특이적 면역능이 감소하며 *Vibrio alginolyticus*나 WSSV 등에 의한 폐사가 증가한다(Wang and Chen, 2005; Santiago *et al*., 2014).

Probiotics는 어류양식에서 수질 개선, 성장 촉진 및 면역증강을 목적으로 광범위한 양식어종에 사용되고 있다(Kennedy *et al*., 1998; Martínez Cruz *et al.,* 2012; Nayak, 2010). 또한 새우양식에서도 수질이 개선되며 성장이 증가하고 비특이적 면역능을 증가시키며 수중 병원성 미생물을 억제하는 등의 이점이 알려져 있다(Kim *et al*., 2017; Lim *et al*., 2004; Nimrat *et al*., 2012). 따라서 본 연구는 수질관리, 면역증강이 요구되는 저염분 조건 (3 psu)에서 사육 중인 흰다리새우에 수질개선 및 사료첨가용 probiotics를 투여 한 후 수질, 성장, 생존율 및 비특이적 면역능을 평가하였다.

재료 및 방법

이 시험은 2018년 6월 1일부터 2018년 8월 13일 사이에 수행하였다. 사육수조(약 100 m^3)는 수차를 이용하여 충분한 산소공급을 하였고 인위적인 수온조절은 하지 않았으며 염분은 식염을 일정량씩 정기적으로 투입하여 3.0±1.0 psu 범위를 유지하였다. 30 psu에서 사육된 흰다리새우(방양시 체중 0.017-0.018 g)를 5일간 순치 과정을 거쳐 3.0 psu로 순치시킨 후 m^3당 51마리로 73일간 사육하였다. 시험기간 중 사육수의 교환은 최소로 하여 총 3회 각각 사육수의 20%에 해당하는 양을 환수하였다.

시험에 사용된 probiotics는 수질개선제(수중 살포)와 사료첨가제(사료 흡착)의 형태로 동시에 투입되었다(Table 1). 수질개선제는 사육수 1 톤당 1 g의 비율로 매주 1회 사육수에 직접 가하였고, 사료첨가제는 배합사료(명품S, Purina, Korea) kg당 0.1 g을 흡착하였으며 체중의 3%를 급이하였다. 총 73일간의 시험기간 중 연속적으로 probiotics를 공급하였고 급이량은 14일 마다 무작위로 20마리를 채취하여 체중을 측정하여 생산량을 측산하면서 조절하였다.

성장은 종료시점에 무작위로 일부 채취한 흰다리새우로 최종무게(final weight, g)와 단위면적당 생산량(harvest weight, g/m^3)을 측정한 뒤 시험 개

Table 1. Composition of probiotics used for water addition (A) and oral feeding (B)

	Probiotics composition/kg	Administration Method
Water additive	*Bacillus subtilis* BA-1 10^{10}CFU *Bacillus licheniformis* BA-2 10^{10}CFU *Rhodobacter sphaeroides* 10^{9}CFU *Methylobacterium extroquence* CME 10^{8}CFU *Lactobacillus plantarum* Fl-1 culture medium 5 g	Water additives Probiotics A 1 g / Water 1 ton
Feed additive	*Lactobacillus salivarius* B4 10^{9}CFU *Lactobacillus plantarum* Fl-1 10^{9}CFU *Bacillus subtilis* CBS 10^{9}CFU *Lactobacillus salivarius* B4 culture medium 5 g *Lactobacillus plantarum* Fl-1 culture medium 5 g	Feed additives, probiotics B 0.1 g / Feed 1 kg

시시점과 종료시점의 체중 차이로부터 증체량(weight gain, g/shrimp)과 일일성장률(SGR; specific growth rate, %/day = $\log_e$(final weight) - $\log_e$(initial weight)/days × 100)를 계산하여 평가하였다.

수질 측정에서 용존산소와 수온은 다목적수질측정기(556MPS, YSI, Ohio, USA)로 측정하였으며, 암모니아(NH_3), 아질산(NO_2^-) 및 질산이온(NO_3^-)은 각각 Hanna Instruments (Woonsocket, USA)의 ammonia low range portable photometer (HI96700), nitrite photometer (HI96707) 및 nitrate photometer (HI96786)로 측정하였다.

시험 종료 후 total hemocyte (THC), respiratory burst activity (ROS) 및 phenol oxidase (PO)를 측정하기위해 Chen *et al*. (2011) 방법을 일부 변형하여 혈림프를 채취하였다. 즉, 살아있는 흰다리새우를 얼음으로 마취한 뒤 항응고제(10 mM EDTA Na_2, 450 mM NaCl, 10 mM KCl, 10 mM HEPES, 850 nM Glucose, pH 7.3, Gollas-Galván *et al*., 1997)를 사용하여 혈림프를 채취하고, 혈림프 채취 후 superoxide dismutase (SOD) 측정을 위해 간췌장을 채취하였다.

THC는 일회용 혈구계수기(Incyto, GA, USA)를 사용하여 측정하였다. PO 활성능은 Hernández-López *et al*. (1996)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉 96 well microplate에 혈림프 50 µl와 5% trypsin-EDTA 50 µl (2 mg/mL in CAC buffer, Thermo Fisher Scientific Waltham, MA, USA)(CAC buffer: 10mM sodium cacodylate, 10mM $CaCl_2$, pH 7.0)를 25℃에서 10분간 반응시켰다. L-dihydroxyphenylalanine을 (3 mg/mL CAC buffer) 50 µl 첨가한 뒤 25℃에서 10분간 반응시켜 microplate reader (Tecan Sunrise, Salzburg, Austria)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. ROS는 Song and Hsieh (1994)의 방법에 따라 nitoblue tetrazolium (NBT) 환원능으로 측정하였다. 96-well의 평바닥 plate에 혈림프 100 µl와 poly-L-lysine (2 mg/mL) 50 µl를 분주하였다. 이후 300×*g* 4℃에서 10분간 원심분리한 뒤 상층액을 제거하였다. Phorbol myristate acetate (1 µg/mL) 100 µl 첨가 후 25℃에서 30분간 반응시킨 뒤 NBT (3 mg/mL) 100 µl 첨가 후 25℃에서 30분간 반응시켰다. 이후 absolute methanol 200 µl 첨가 후 300×*g* 4℃에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 제거한 뒤 70% methanol 200 µl 첨가 후 300×*g* 4℃에서 10분간 원심분리하여 상층액을 제거하는 과정을 2회 수행한 뒤 공기중에서 건조하였다. 2 M KOH 120 µl, dimethylsulfoxide 140 µl를 분주한 뒤 microplate reader로 630 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD를 측정하기 위하여 차가운 phosphate-buffered saline (Corning, NY, USA)에 세척한 간췌장 200 mg에 0.25 M sucrose buffer [10 mM tris(hydroxymethyl) aminomethane, 1 mM EDTA Na_2, pH 7.4] 800 µl 첨가 후 얼음 속에서 teflon homogenizer로 마쇄하였다. 마쇄액은 10,000×*g* 4℃에서 60분간 원심분리 한 뒤 상층액을 상업용 kit (SOD assay kit-WST, Dojindo, Kumamoto, Japan)로 분석하였다.

항병력의 측정을 위하여 동결 보존(-70℃)되어 있는 *Vibrio alginolyticus* ATCC 17749 균주를 BHIA에 도말한 뒤 25℃에서 24시간 동안 배양하여 단일 집락을 획득하였다. 획득한 세균 집락을 BHI에 접종하여 shaking incubator (Vision, Korea)에서 48시간(100 rpm, 25℃)동안 배양하였다. 4℃에서 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 집균하고 0.83% (w/v) 멸균 생리식염수를 이용하여 4.3×10^6 CFU/mL으로 조제하여 0.1 mL씩 등 2번째 마디에 투여(4.3×10^5 CFU/shrimp)하였다. 항병력 측정기간 동안 새우는 FRP수조(수량 300 L, 수온 28℃)에 유지한 후 14일간 누적폐사율을 측정하였다. 시험은 단회 수행되었으며 대조군과 시험군 각각 29마리로 수행하였다.

본 연구에 사용된 시약 중 구입처가 따로 기술된 것들 이외의 것은 모두 Sigma (Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

통계처리를 위해 GraphPad Prism program ver 5.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA)을 사용하였으며 Student's t-test 검정을 하여 *P* 값이 0.05 이하 일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

사료첨가제 및 수질개선제에 의한 성장지표는 각각 Table 2에 나타내었다. 대조군과 시험군의 증체량은 각각 19.86과 17.25 g/shrimp으로 측정되었

Table 2. Effects of probiotics at growth parameters

Parameters	Control	Probiotics group
Initial number of total shrimp	5,100	5,100
Stocking weight (g/m^3)	0.9	0.9
Havest weight (g/m^3)	55.64	132.98
Suvival rate (%)	5.6	15.4
Initial weight (g)	0.017	0.018
Final weight (g)	19.87±4.17	17.27±2.90*
Weight gain (g/shrimp)	19.86±4.17	17.25±2.90*
Specific growth rate (%/day)	9.6±0.3	9.4±0.3

Data were expressed as mean±S.D. *Statistical significant (P<0.05) between control and probiotics groups. (n=30).

으며 일일성장률은 각각 9.6과 9.4 %/day로 대조군에서 더 높은 성장을 나타냈다. 그러나 생존율은 각각 5.6 및 15.4%로 시험군에서 약 3배 가까이 증가하여 수확량 또한 현저히 증가하였다(55.64 vs. 132.98 g/m^3).

수질측정 결과는 Fig. 1에서 보여주고 있다. 즉, 암모니아, 아질산 및 질산이온 모두 대조군이 시험군보다 높은 경향을 나타났으며 시험기간 동안 3번의 증감 패턴을 보였다. 특히 장마기간이였던 2018년의 7월, 시험 30-40일에서 급격한 수온 변화와 함께 큰 수질의 변화가 나타났다.

비특이적 면역능 측정 결과 THC, ROS 및 PO는 유의미하게 증가하였으나 SOD에는 영향이 나타나지 않았다(Fig. 2). 시험 종료 후 수행된 *V. alginolyticus*에 대한 항병원성 효과에서 *V. alginolyticus* 투여 후 7일 이내 대량 폐사가 관찰되었다(Fig. 3). 대조군은 6일 이후 전량 폐사하였지만 시험군은 시험종료 14일 경과 후 약 21%가 생존하여 미약하지만 폐사 저감 효과가 확인되었다(100 vs. 79%).

고 찰

흰다리새우는 광염성 종으로서 육상에서도 저염분으로 양식이 가능하다. 하지만 5 psu 이하의 저염분 사육은 생존율, 성장, 면역 및 항병력 등이 저감됨이 알려져있다. 특히 5 psu 보다 높은 염분에선 생존율에 차이가 없지만 5 psu 이하에선 크기가 작을수록, 염분이 적을수록 생존율이 낮아진다(Bray *et al*., 1994; Lin *et al*., 2012; McGraw *et al*., 2002). 예를 들면, 0.35g 이하의 크기에선 4 psu 이하에서 30 psu 보다 낮은 성장을 나타냈으나 0.05 g 의 크기에선 4, 30 psu 에서 차이가 나타나지 않았고 2 psu에선 4, 30 psu보다 더 낮은 성장을 나타

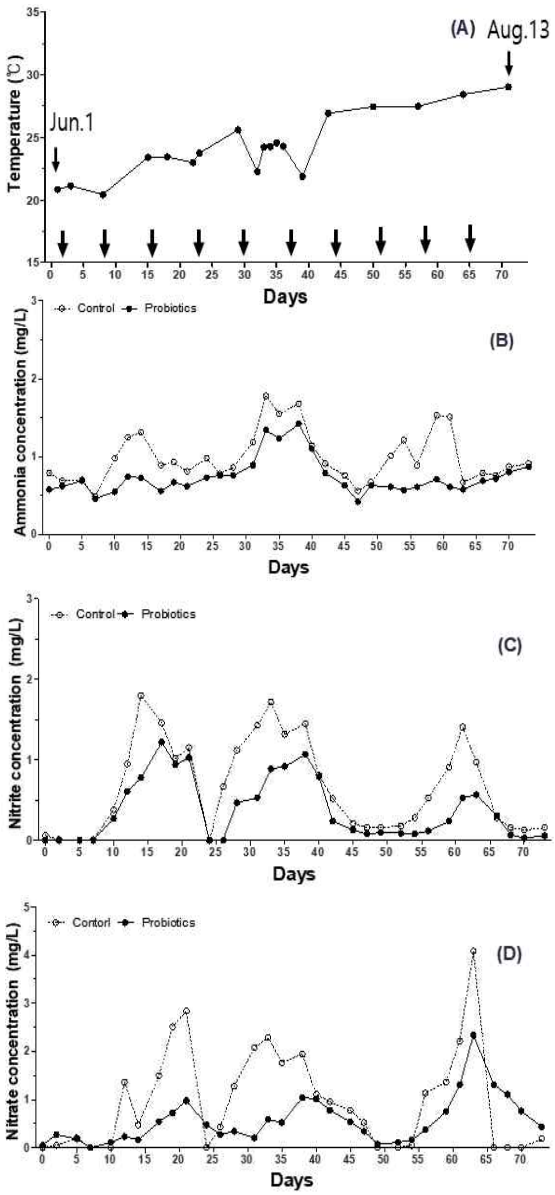

Fig. 1. Effects of probiotics on culture water quality (A) temperature; (B) Ammonia; (C) Nitrite; (D) Nitrate; ⬇ water additives of probiotics.

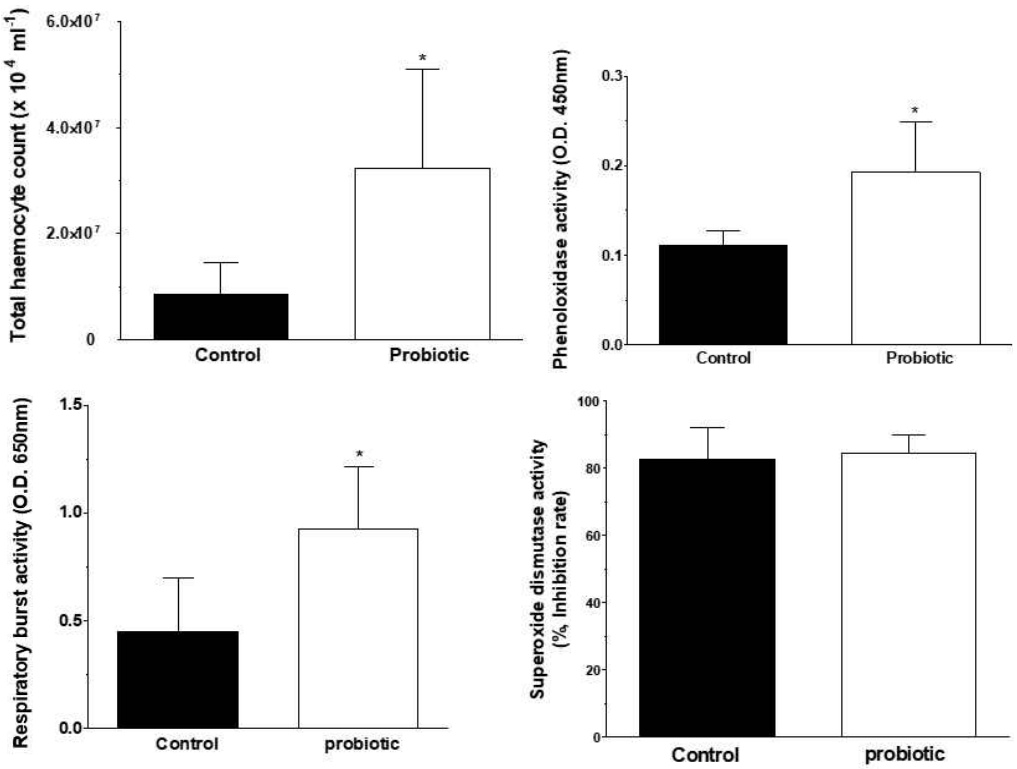

Fig. 2. *Litopenaeus vannamei* non-specific immune response (n=8). Data were expressed as mean±S.D. *Statistical significant (P<0.05).

냈다고 보고되었다(Laramore *et al*., 2001). 또한 저염분 사육은 THC, ROS, PO 및 SOD의 비특이적 면역능을 저감시키며 흰다리새우에서의 주요 병원체인 *V. alginolyticus*와 white spot syndrome virus에 대한 저항성이 감소할 뿐 아니라(Wang and Chen, 2005; Lin *et al*., 2012) 질소 노폐물인 암모니아와 아질산에 대한 내성도 감소된다고 보고되었다(Lin and Chen, 2001; Lin and Chen, 2003; Li *et al.,* 2007).

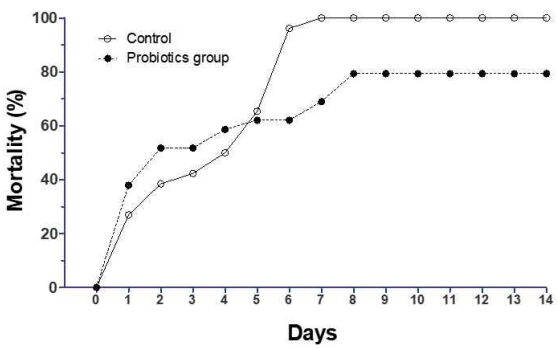

Fig. 3. Cumulative mortality in *Litopenaeus vannamei* infected with *Vibrio alginolyticus* (n=29 in each group).

집약적 양식은 황화수소, 질소 노폐물의 농도를 증가시키기 때문에 사육시설 구조, 수질개선제, 사육수 교환 및 바이오플락 등의 인위적인 조절을 통해 생산량을 증가시킬 수 있다. Kim and Lee (2004)은 사육시설 구조개선을 통한 수질관리로 생존율을 증가시켰으며, Kang *et al*. (2000)은 사육수의 교환이 다른 두 새우 양식장을 비교하여 수질관리에서 사육수 교환의 중요성을 보고하였다. 본 연구에서 시험기간 내 대조군과 시험군 모두 질소 노폐물의 변화가 심하였는데 특히 여름 장마기간에 온도 변화와 함께 심한 변동이 나타났다. 하지만 probiotics 제제를 사용한 시험군에서 대조군과 비교하여 질소 노폐물들의 값이 상대적으로 낮고 변화의 폭이 적어 다소 조절이 가능함을 시사하고 있다. 생존율 측정시 지수식 양식의 특성상 일별

폐사율은 측정하지 못하였으나 시험 종료시에 사육수를 전부 제거하여 최종적인 생존율을 측정하였다. 대조군과 시험군 모두 낮은 생존율을 나타내었으며 특히 대조군에서 생존율이 현저히 낮았다(대조군 5.6%, 시험군 15.4%). 반면 증체량은 probiotics를 투여하지 않은 대조군에서 더 높이 나타났는데 이는 시험군에 비교하여 대조군에서 현저히 낮은 생존율을 나타냈고 적응하여 살아남은 소수의 개체들이 빠르게 성장한 것으로 추정된다. 비특이적 면역력 측정 결과 SOD를 제외하고 THC, ROS, PO 모두 probiotics 첨가로 인해 증가하였다. *V. alginolyticus* 항병력 측정시 14일 이내 폐사가 나타났기 때문에 이 결과는 *V. alginolyticus*의 감염에 따른 의한 폐사로 판단하였으며 시험군에서 약 20%의 폐사 저감효과를 나타내었다. 그러나 초기에는 시험군에서 폐사하는 새우가 대조군 보다 더 많아 2일 만에 50%의 폐사가 발생하였고 대조군에서는 4일 만에 50% 폐사가 발생하였다. 이에 대한 이유가 무엇인지는 현재의 결과로는 설명되지 못하여 추가적인 연구가 필요한 것으로 판단된다.

결론적으로 흰다리새우는 광염성으로 내륙에서 저염분으로 양식이 가능하지만 저염분의 사육은 수질관리와 면역관리등의 유지가 요구되며 이는 probiotics 제제를 통하여 보완이 가능할 것으로 사료된다. 특히 수질관리가 어려운 양식장에서는 probiotics를 수질개선제와 경구투여제의 복합 적용이 필요할 것으로 판단되며 이로 인해 생산량이 향상될 수 있을 것이다.

요 약

흰다리새우는 광범위한 염도(1-40 psu)에서 생존 가능하다. 하지만 염도의 변화, 특히 낮은 염도(1-5 psu)는 생존율, 비특이적 면역능 및 항병능과 같은 다양한 생리적 변화에 영향을 미칠 수 있다. 본 연구에서는 73일 동안 경구 투여 및 사육수 첨가를 동시에 수행한 뒤 성장, 비특이적 면역 및 질병 저항성을 측정하였다. 사육수의 염도는 주기적으로 소금을 첨가하여 3 psu를 유지하였다. 그 결과 73일간 사육 후 생존율이 크게 증가하였으며(5.6 vs. 15.4%), reactive oxygen species (ROS) 생산과 phenol oxidase (PO) 활성의 유의성있는 증가가 확인되었다. 대조적으로 superoxide dismutase (SOD) 활성은 영향을 받지 않았다. 새우에서 *Vibrio alginolyticus*의 인위 감염 시험의 결과, 프로바이오틱스 처치구에서 약간의 폐사 감소가 관찰되었다(100 vs. 79%). 결과적으로 저염도(3 psu)에서 양식된 흰다리새우의 생산은 저염도에서 생존가능한 프로바이오틱스에 의해 증가 될 수 있을 것이다.

References

Bray, W.A., Lawrence, A.L. and Leung-Trujillo, J.R.: The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei,* with observations on the interaction of IHHN virus and salinity. Aquaculute, 112: 133-146, 1994.

Chen, X.R., Tan, B.P., Mai, K.S., Zhang, W.B., Wang, X.J., Ai, Q.H., Xu, W., Liufu, Z.G. and Ma, H.M.: Dietary administration of soybean isoflavones enhances the immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. Aquacuture Nutrition, 17:24-32, 2011.

Cruz, P.M., Ibáñez, A.L., Monroy Hermosillo, O.A., and Ramírez Saad, H.C.,: Use of probiotics in aquaculture. International Scholarly Research Network Microbiology, 916845, 2012.

Davis, D.A., Samocha, T.M. and Boyd, C.E.: Acclimating pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, to inland, low-salinity waters. Southern Regional Aquaculture Center, Publication No. 2601, 2004.

Gollas-Galván, T., Hernández-López, J. and Vargas-Albores, F.: Effect of calcium on the prophenoloxidase system activation of the brown shrimp (*Penaeus californiensis*, Holmes). Comparative Biochemistry and Physiology, 117A:419–425, 1997.

Heo, M.S., Sohn, S.G., Sim, D.S., Kim, J.W., Park, M. A., Jung, S.H., Lee, J.S., Choi, D.L., Kim, Y.J. and Oh, M.J.: Isolation and characterization of white spot syndrome baculovirus in cultured penaeid shrimp (*Penaeus chinensis*). Journal of fish pathology, 13:7-13, 2000.

Hernández-López, J., Gollas-Galván, T. and Vargas-Albores, F.: Activation of the prophenoloxidase system of the brown shrimp (*Penaeus californiensis* Holmes). Comparative Biochemistry and Physiology, 113C:61-66, 1996.

Jang, I.K., Meng, X.H., Seo, H.C., Cho, Y.R., Kim, B.R., Ayyaru, G. and Kim, J.S.: A TaqMan real-time PCR

assay for quantifying white spot syndrome virus (WSSV) infections in wild broodstock and hatchery-reared postlarvae of fleshy shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. Aquaculture, 287:40-45, 2009.

Kang, J.C., Koo, J.K. and Lee, J.S.: Environmental survey for productivity enhancement of cultured fleshy prawn *Penaeus chinensis*. Journal of Aquaculture, 13:39-46, 2000.

Kennedy, S.B., Tucker, J.W., Neidig, C.L., Vermeer, G. K., Cooper, V.R., Jarrell, J.L. and Sennett, D.G.: Bacterial management strategies for stock enhancement of warm water marine fish: a case study with common snook (*Centropomus undecimalis*). Bulletin of Marine Science, 62:573-588, 1998

Kim, D.H. and Lee, H.J.: Improvement of water quality in shrimp aquaculture farms of southwestern coastal area of Korea. Journal of The Korean Society for Marine Environment and Energy 7:159-163, 2004.

Kim, S.H., Lee, C.R., Chang, K.H., Bae, J.Y., Cho, S.J., Lim, S.J. and Lee, K.J.: Effect of fermented soybean meal by *Bacillus subtilis* in pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* diets on growth performance, innate immunity and disease resistance. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 50:008-014, 2017.

KOSIS (Korean Statistical Information Service): http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=101&tblId=DT_1EW0005&vw_cd=MT_ZTITLE&list_id=K2_7&seqNo=&lang_mode=ko&language=kor&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=MT_ZTITLE. 2020.

Laramore, S., Laramore, C.R. and Scarpa, J.: Effect of low salinity on growth and survival of postlarvae and juvenile *Litopenaeus vannamei*. Journal of the World Aquaculture Society, 32:385-392, 2001.

Li, E., Chen, L.Q., Zeng, C., Chen, X.M., Yu, N., Lai, Q.M. and Qin, J.G.: Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. Aquaculture, 265:385–390, 2007.

Lim, H.J., Park, J.H. and Jang, I.K.: Effect of probiotics on water quality in the shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) ponds. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37:91-97, 2004.

Lin, Y.C. and Chen, J.C.: Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 259:109-119, 2001.

Lin, Y.C. and Chen, J.C.: Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. Aquaculture, 224:193-201, 2003.

Lin, Y.C., Chen, J.C., Li, C.C., Morni, W.Z.W., Suhaili, A.S.N.A., Kuo, Y.H., Chang, Y.H., Chen, L.L., Tsui, W.C., Chen, Y.Y. and Huang, C.L.: Modulation of the innate immune system in white shrimp *Litopenaeus vannamei* following long-term low salinity exposure. Fish Shellfish Immunology, 33:324-331, 2012.

Liu, Y., Wang, W.N., Wang, A.L., Wang, J.M. and Sun, R.Y.: Effects of dietary vitamin E supplementation on antioxidant enzyme activities *inLitopenaeus vannamei* (Boone, 1931) exposed to acute salinity changes. Aquaculture, 265:351-358, 2007.

McGraw, W.J., Davis, D.A., Teichert-Coddington, D. and Rouse, D.B.: Acclimation of *Litopenaeus vannamei* postlarvae to low salinity: influence of age, salinity endpoint, and rate of salinity reduction. Journal of the World Aquaculture Society, 33:78-84, 2002.

Nayak, S.K.: Probiotics and immunity: A fish perspective. Fish Shellfish Immunology, 29:2-14, 2010

Nimrat, S., Suksawat, S., Boonthai, T. and Vuthiphandchai, V.: Potential *Bacillus* probiotics enhance bacterial numbers, water quality and growth during early development of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Veterinary Microbiology, 159:443-450, 2012.

Ogle, J.T., Beaugez, K. and Lotz, J.M.: Effects of salinity on survival and growth of postlarval *Penaeus vannamei*. Gulf Research Reports, 8:415-421, 1992.

Ponce-Palafox, J., Martinez-Palacios, C.A. and Ross, L.G.: The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. Aquaculture, 157: 107-115, 1997.

Ramos-Carreño, S., Valencia-Yáñez, R., Correa-Sandoval, F., Ruíz-García, N., Díaz-Herrera, F. and Giffard-mena, I.: White spot syndrome virus (WSSV) infection in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) exposed to low and high salinity. Archives of Virology, 159: 2213-2222, 2014.

Song, Y.L. and Hsieh, Y.T.: Immunostimulation of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) hemocytes for generation of microbicidal substances: analysis of reactive oxygen species. Developmental and Comparative Immunology, 18:201-209, 1994.

Wang, L.U. and Chen, J.C.: The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* at different salinity levels. Fish and Shellfish Immunology, 18:269-278, 2005.

Manuscript Received : Oct 28, 2020
Revised : Nov 27, 2020
Accepted : Nov 29, 2020