

Nuevos Avances en el Estudio de Fosfolípidos Nutrimentales para Camarón

Hui Gong^{a,*}, Dong-Huo Jiang^a, Addison L. Lawrence^b, Mayra L. González-Félix^c, Martin Perez-Velazquez^c

^{a,*}Sygen International, 3033 Nashville Rd., Franklin, Kentucky 42135, USA.

^bShrimp Mariculture Project, Texas Agricultural Experiment Station, Texas A&M Phone: (270) 598-7455, Fax: (270) 586-0312, E-mail: hui.gong@sygeninternational.com
University System, 1300 Port Street, Port Aransas, Texas 78373, USA.

^cDepartamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad de Sonora, Rosales y Niños Héroe s/n, A.P. 1819 C.P. 83000, Hermosillo, Sonora, Mexico.

Resumen

La suplementación dietética (1.6-5%) de fosfolípidos es necesaria para el crecimiento de varias especies de camarón en los estadios larval y juvenil, así como para su incorporación a órganos reproductivos durante la maduración sexual.

Las investigaciones recientes señalan que: 1) hay una interacción significativa del efecto de los fosfolípidos y el colesterol dietético sobre el crecimiento de camarón; 2) una provisión suficiente de fosfolípidos aporta el requerimiento de colina para crecimiento y no viceversa; 3) no se ha detectado una interacción significativa del efecto de los fosfolípidos y los ácidos grasos altamente insaturados sobre el crecimiento de camarón, pero sí sobre el contenido de lípido en músculo de camarón y su sensibilidad a estrés osmótico.

Con base en avances recientes en la investigación científica de los fosfolípidos y las nuevas tendencias en el cultivo de camarón, se considera que los siguientes aspectos requieren de mayores estudios: 1) el papel de los fosfolípidos en sistemas de cultivo de camarón en agua de baja salinidad y sin intercambio de agua; 2) la relación entre los fosfolípidos y otros nutrientes de naturaleza lipídica tales como vitaminas liposolubles, carotenoides y ácidos grasos altamente insaturados; 3) los componentes activos de los fosfolípidos de la lecitina.

Running title: Phospholipid nutrition of shrimp

Introducción

Los fosfolípidos (FL) de membranas contienen glicerol 3-fosfato como esqueleto central, dos ácidos grasos y un grupo orgánico polar unido mediante enlaces fosfodiéster. Se reconocen cuatro clases principales de estos lípidos polares: fosfatidilcolina (FC), fosfatidiletanolamina (FE), fosfatidilinositol (FI) y fosfatidilserina (FS). Los FL no sólo juegan un papel esencial en el mantenimiento de la estructura y función normal de las células, sino que también dan origen a segundos mensajeros en la señalización celular, un

Gong, H., Jiang, D., Lawrence, A., González-Félix, M. y Perez-Velazquez, M. 2004. Nuevos Avances en el Estudio de Fosfolípidos Nutrimentales para Camarón. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D., Nieto López, M.G., Villarreal, D., Scholz, U. y González, M. Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19
Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México

mecanismo mediante el cual las hormonas y otras sustancias transmiten señales del exterior al interior de las células. La hidrólisis inducida de fosfatidilinositoles ha sido identificada como el principal mecanismo para la transmisión de mensajes al interior de las células mediante procesos en cascada de fosforilación de proteínas, lo cual regula la transcripción de genes (Zeisel, 1993). Además, la FC y sus metabolitos (diacilglicerol, lisofosfatidilcolina) y los ácidos grasos insaturados pueden estimular la actividad de la proteína cinasa C (Besterman et al., 1986; Exton, 1990; Nishizuka, 1992). Además, el microambiente que crean los FL y el colesterol es importante en el mantenimiento y la estabilidad y actividad de la enzima Na⁺, K⁺-ATPasa (Cornelius, 2001; Almansa et al., 2003, Cornelius, et al., 2003).

Los FL son considerados nutrientes esenciales para el camarón no porque éste sea incapaz de sintetizarlos, sino porque su biosíntesis generalmente es insuficiente para cubrir los requerimientos metabólicos, particularmente durante las fases tempranas de desarrollo. En las últimas dos décadas el carácter esencial de los FL dietéticos ha sido validado para varias especies de camarón, con una variación de los requerimientos de 1-6.5% de la dieta, dependiendo de factores tales como la especie, estadio de desarrollo, composición de la dieta, el origen y pureza de los FL empleados (Tabla 1). Aunque la investigación científica sobre FL nutrimentales para camarón es escasa y el conocimiento actual se ha basado en la información disponible para mamíferos y peces, gradualmente se han realizado algunos avances significativos en este campo en los últimos años.

II. Los fosfolípidos como constituyentes lipídicos en camarón

Los camarones son organismos con un contenido bajo en lípidos, representando menos del 2% de su peso corporal. En el músculo, los FL constituyen más del 50% de los lípidos totales y son principalmente constituyentes de membranas celulares. Siendo un marisco de gran demanda para consumo humano, generalmente se hace énfasis en el contenido de colesterol del músculo (cola) de camarón y no en su alto contenido de FL. Sin embargo se ha concluido que los camarones deben considerarse dentro de la categoría de alimentos

saludables para el corazón, en tanto su consumo sea moderado. El contenido de triglicéridos en músculo es, naturalmente, muy bajo. En el hepatopancreas, órgano donde ocurre la mayor parte de la digestión y absorción de nutrientes, los FL son, después de los triglicéridos, la clase de lípidos cuantitativamente más importante.

Los FL también forman parte de las lipoproteínas que son liberadas a la hemolinfa del camarón para el transporte de lípidos. En las lipoproteínas de alta densidad y de muy alta densidad (HDL y VHDL por sus siglas en inglés, respectivamente), así como en lipoproteínas femeninas como la vitelogenina, los FL han sido identificados como el componente lipídico dominante (Tabla 2).

La vitelogenina es el precursor de la vitelina, la cual es la principal proteína necesaria para el desarrollo embrionario y larval (Arcos et al., 2003). La vitelogenina ha sido identificada electroforéticamente e inmunológicamente solamente en hembras vitelogénicas. En cuanto a la vitelogénesis, los FL participan activamente a lo largo del proceso de desarrollo. En ovarios previtelogénicos, los FL son con certeza la clase dominante de lípidos. El contenido de FL en los ovocitos se incrementa en la medida en que éstos aumentan su tamaño y luego se estabiliza, en tanto que los triglicéridos se acumulan continuamente hasta el momento en que los huevos son liberados. En el momento en que los ovocitos han madurado por completo, los ovarios de *Penaeus semisulcatus* han acumulado cantidades casi equivalentes de FL y triglicéridos (Ravid et al., 1999).

El contenido de lípidos de los órganos reproductores de camarones machos también ha sido estimado para algunas especies tales como *Litopenaeus setiferus*, *Fenneropenaeus aztecus* y *P. monodon* (Perez-Velazquez, 2001). En el camarón *Pleoticus muelleri*, el contenido de lípido de los testículos y espermátóforos combinados fue de 1.3-2.0% del peso húmedo, del cual los FL representaron el 1.1-1.7%, mientras que los lípidos neutrales variaron de 0.2-0.5% (Jeckel et al., 1989).

En resumen, los FL son componentes lipídicos importantes del tejido de camarón.

III. Los efectos de fosfolípidos dietéticos y sus aplicaciones

a. Incremento de la disponibilidad del colesterol

De manera similar a los FL, el colesterol también es componente de membranas celulares y juega un papel dual importante en el mantenimiento de su fluidez. Además, es precursor de hormonas esteroideas involucradas en el proceso de muda, crecimiento y reproducción del camarón. Sin embargo, el camarón no es capaz de sintetizar *de novo* esta molécula a partir de los ácidos acético y mevalónico, aunque es capaz de dealquilar algunos esteroides de 28 y 29 átomos de carbón para producir colesterol. Por consiguiente, el colesterol es considerado un nutriente esencial para el camarón, lo cual ha sido confirmado para varias especies, con un requerimiento que varía de 0.12-2% de la dieta (Teshima, 1997).

La relación entre el colesterol y los FL dietéticos ha sido de gran interés para los investigadores. Los FL no sólo incrementan la digestión, emulsificación y absorción del colesterol, sino que facilitan su transporte y movilización. Aunque se ha sugerido que los FL dietéticos aumentan la disponibilidad del colesterol, esto pudo ser probado con éxito recientemente en un experimento con juveniles de *L. vannamei* donde se encontró una interacción altamente significativa ($P = 0.0001$) entre estos nutrientes (Gong et al., 2000a). Este estudio indicó que con el aumento de FL dietéticos de 0-5%, el requerimiento de colesterol se redujo de 0.35% a 0.05% (Fig. 1). Por otra parte, el requerimiento de FL se redujo de 0.5% (cuando el colesterol no se incluyó) hasta casi 0.0% cuando el nivel de colesterol dietético se incrementó a 0.5%. Estos resultados tienen una implicación importante en la formulación de alimentos balanceados, en la cual con un nivel de inclusión óptimo de FL de 0.3-0.5%, la inclusión de colesterol puede ser minimizada, con una consiguiente reducción de costos sin afectar el desempeño de los camarones. En cuanto a su implicación en investigación, dicha interacción debe ser tomada en cuenta en el diseño de experimentos, por ejemplo, un nivel de inclusión de colesterol de 0.5% podría enmascarar los posibles efectos de FL, colina y otros nutrientes.

Con respecto a machos adultos de *L. vannamei*, una deficiencia dietética de colesterol no afectó el crecimiento somático, pero redujo significativamente el conteo de esperma (Perez-

Velazquez, 2001). La importancia de los FL dietéticos durante la maduración sexual de otros camarones peneidos ha sido descrita en otros estudios (Alava et al., 1993; Cahu et al., 1994; Bray et al., 1989).

Aunque la interacción entre el colesterol y los FL dietéticos ha sido confirmada en cuanto a su efecto sobre el crecimiento del camarón, la elucidación de los mecanismos mediante los cuales estos nutrientes incrementan el crecimiento está pendiente aún. La evidencia reciente señala que tanto el colesterol como los FL modulan la estabilidad y actividad de la enzima Na^+ , K^+ -ATPasa (Cornelius, et al. 2003). El colesterol afecta significativamente la sensibilidad térmica de la reacción de desfosforilación espontánea y fosforilación del ATP. Los efectos del colesterol no son del todo equivalentes a aquellos inducidos por el incremento de la longitud de la cadena de acilos de los FL, lo que indica que los efectos del colesterol no son debidos únicamente al incremento del grosor de la bicapa hidrofóbica, lo que sugiere, a su vez, un mecanismo de acción adicional sobre la enzima Na^+ , K^+ -ATPasa (Cornelius, et al. 2003). En vista de estos hallazgos, podemos anticipar un mecanismo de acción más complejo que seguramente implicará mayores esfuerzos de investigación para estudiar la función de estos nutrientes.

b. Provisión de colina

La colina es una vitamina soluble en agua que interactúa con el ácido fólico, la vitamina B12 y la metionina en el metabolismo de grupos metilo, además de ser el precursor del neurotransmisor acetilcolina. La colina puede ser suministrada ya sea en forma de sales (cloruro de colina) o a partir del desdoblamiento de FC por acción de la fosfolipasa D. El requerimiento nutricional de colina para *L. vannamei* fue estimado en 871 mg/kg dieta en la ausencia de FL suplementarios. Sin embargo, no hubo evidencia de requerimiento alguno cuando la dieta fue suplementada con 1.5% o más de FL (Gong et al., 2003). Dicho estudio indicó que la suplementación de dietas con lecitina de soya provee suficiente colina para el crecimiento de camarón. Por el contrario, la síntesis de FL a partir de colina no fue suficiente para cubrir los requerimientos de FL. Estos resultados tienen una utilidad directa

para la formulación de alimentos balanceados, sugiriendo su suplementación con lecitina de soya, así como la exclusión de sales de colina.

c. Facilitación de la movilización de lípidos entre los tejidos

Uno de los efectos benéficos de la suplementación de dietas con FL ha sido postulado como el de facilitar la movilización de lípidos del hepatopancreas a la hemolinfa y tejidos periféricos. En camarones juveniles de *L. vannamei*, se incrementó el lípido total en el hepatopancreas, mientras que se redujo el lípido total en músculo, lo que indica que los FL facilitan la utilización de lípidos en músculo y su almacenamiento en hepatopancreas (Gong et al., 2003). El mantener una provisión suficiente de energía en el hepatopancreas es de suma importancia para camarones expuestos a condiciones extremas tales como hipoxia, estrés térmico, mudas frecuentes, etc., cuando la ingestión normal de alimento puede ser interrumpida. En un estudio con postlarvas de *L. vannamei*, los organismos crecieron más rápido cuando su dieta fue suplementada con FC de soya o de huevos de pez marino. Debido a que su pequeño tamaño impidió el aislamiento del hepatopancreas y músculo, se aplicó análisis de tejidos al cuerpo entero de estos organismos, indicando que el contenido de lípido total, triglicéridos y FC fueron más altos en organismos alimentados con FC, en comparación con organismos que no recibieron dicho suplemento (Coutteau et al., 2000).

Por otra parte, la composición lipídica de tejidos podría reflejar las relaciones entre diversos nutrientes. Se ha encontrado un efecto interactivo entre el colesterol y los FL dietéticos, así como entre los FL y los ácidos grasos altamente insaturados (HUFA por sus siglas en inglés), sobre la composición lipídica de tejidos de *L. vannamei* (Gong et al., 2000a; Gonzalez-Felix et al., 2002b). Sin embargo, esta información es insuficiente para elucidar los mecanismos del metabolismo de lípidos en camarones.

d. Reducción de la sensibilidad de los camarones al estrés osmótico

La lecitina dietética ha sido efectiva para incrementar la tolerancia de larvas de peces marinos a diversas condiciones de estrés tales como cambios en la temperatura y salinidad del agua, exposición a bajas concentraciones de oxígeno disuelto y exposición al aire (Kanazawa, 1997).

De forma similar, los FL en la dieta de postlarvas de *L. vannamei* redujeron su sensibilidad a estrés osmótico. Como se muestra en la Figura 2, la suplementación de la dieta con 1.5% de FC de soya (95% pura) o de huevos de pez marino (92% pura) incrementó significativamente la resistencia de los organismos a estrés osmótico, aunado a su efecto positivo sobre el crecimiento (Coutteau et al., 2000). Adicionalmente, se observó un efecto significativo de la interacción entre la FC de soya y los HUFA de la familia n-3 (n-3 HUFA), sobre la resistencia al estrés osmótico en *Marsupenaeus japonicus* (Fig. 3). Dicha resistencia se hizo evidente a un nivel de inclusión en la dieta de 1% de FC de soya y 0.5% de n-3 HUFA, así como a un nivel de inclusión de 0% de FC de soya y 1.0% de n-3 HUFA (Kontara et al., 1997).

Con el afán de mitigar el problema del síndrome de la muerte durante la muda, el cual se ha presentado recientemente en el cultivo de camarón tierra adentro en agua de baja salinidad en Arizona, EUA, donde se experimentan temperaturas extremadamente altas, se ha ensayado la suplementación de las dietas con lecitina de soya (Gong et al. 2004). Como resultado, la ocurrencia de dicho síndrome no solo se ha eliminado, sino que se han alcanzado mayores tallas en cosecha, lo cual se ha atribuído a un posible efecto benéfico de la lecitina de soya sobre el almacenamiento de lípidos en el hepatopancreas, contribuyendo a una mejora en la capacidad osmorregulatoria de los organismos.

Se ha especulado acerca del posible papel de los FL en la resistencia del camarón al estrés externo, especialmente el estrés osmótico, aunque el mecanismo no es claro aún: 1) el

mantener la concentración de los fluidos corporales a un nivel constante en contra de un gradiente osmótico requiere de un gasto adicional de energía. En este contexto, los FL dietéticos facilitan el metabolismo de lípidos y mejoran la utilización y reserva de energía de los camarones; 2) Los fosfolípidos son nutricionalmente superiores a los lípidos neutrales para cubrir dichos requerimientos adicionales de energía; 3) la enzima Na⁺, K⁺-ATPasa que se localiza en las membranas basolaterales de las células epiteliales es dependiente de la salinidad y temperatura y es crítica para el mantenimiento de la homeostasis de los animales. Los FL en este microambiente pueden jugar un papel preponderante en el mantenimiento de la actividad y estabilidad de la enzima Na⁺, K⁺-ATPasa. Incluso, es posible que la suplementación dietética con FL induca o se oponga a la transcripción de genes involucrados en la lipogénesis y el metabolismo del colesterol.

e. Otros

La relación entre los FL y los triglicéridos ha sido abordada en otros estudios con camarón. Lim et al. (1997) evaluaron el efecto de varias fuentes de triglicéridos sobre el crecimiento de *L. vannamei*. Se utilizaron dietas con un contenido de 1.0% de lecitina de soya, 0.5% de colesterol y 6.5% de alguno de los siguientes ingredientes: ácido esteárico, aceite de coco, aceite de cártamo, aceite de maíz, aceite de soya, aceite de linaza y aceite de pescado Menhaden. Los mejores resultados de crecimiento se obtuvieron con el aceite de pescado, seguidos, en orden descendente, por los aceites de linaza, soya, maíz, ácido esteárico, coco y cártamo. De forma similar, otro estudio indicó la superioridad nutricional del aceite de pescado sobre los aceites de cono, linaza, cacahuete y soya como ingredientes en la dieta de *L. vannamei* (González-Félix et al., 2002a). El aceite de pescado Menhaden representó una mayor provisión de ácidos grasos esenciales, particularmente de n-3 HUFA. Sin embargo, no se encontró una interacción significativa de los efectos de los FL y el ácido docosahexanoico (DHA por sus siglas en inglés) a un nivel de inclusión basal de colesterol de 0.5% de la dieta (González-Félix et al., 2002b).

IV. Fuente de fosfolípidos y componentes activos de la lecitina de soya

En la naturaleza, los FL pueden ser tanto de origen animal como vegetal. Buenas fuentes de FL vegetales incluyen la soya, linaza, semilla de naba, maiz y chufa, en tanto que la yema de huevo y los huevos de pescado son una fuente adecuada de FL de origen animal (Hertrampf, 1992). Las principales diferencias entre las diversas fuentes de FL radican en la pureza de los FL, su composición y provisión de ácidos grasos esenciales.

La lecitina de soya ha sido utilizada ampliamente en la formulación de alimentos balanceados para camarón, ya que constituye una fuente de FL tanto benéfica como económicamente atractiva. De manera general, la lecitina de soya es una mezcla de FC, FE, FI y FS, cuya composición puede variar ampliamente dependiendo de su pureza y composición (Gong et al., 2001). De acuerdo a Coutteau et al. (1997), las propiedades de los FL para aumentar el crecimiento de los organismos recaen en las fracciones de FC y FI. Sin embargo, aún no es clara la identificación de los componentes activos de la lecitina de soya.

En un estudio con juveniles de *L. vannamei*, no se observó un efecto significativo sobre su crecimiento y supervivencia al ser alimentados con un suplemento de PC en niveles de inclusión de 0.0% a 4.2% de la dieta (Gong et al., 2000b). Sin embargo, se observó que la FE y el FI produjeron un aumento significativo del crecimiento a cierto nivel de FC.

En otro estudio, se observó un mayor contenido de lípidos totales en hepatopancreas y menor en músculo de juveniles de *L. vannamei* alimentados con un suplemento de FL, en comparación con organismos que no recibieron dicho suplemento. Por el contrario, el incrementar los niveles de FC pura en estas dietas provocó un decremento en los contenidos de lípidos totales, ácidos grasos libres y otros FL en el hepatopancreas, pero no tuvo efecto alguno sobre el músculo (Gong et al., 2000b).

Conclusiones

En resumen, los FL son la clase de lípidos dominante en el cuerpo de los camarones y son esenciales para mejorar su desempeño en cultivo. El nivel de inclusión de los FL dietéticos puede afectar los requerimientos de otros nutrientes que incluyen no solo al colesterol y la colina, sino también a otros nutrientes liposolubles como las vitaminas A, D, E y los carotenoides, etc. La optimización de la suplementación de dietas con estos nutrientes puede ser influenciada por factores tales como la baja salinidad, alta temperatura, el cero intercambio de agua, etc. Con respecto a la lecitina de soya, la fuente de FL más ampliamente utilizada, la identificación de sus componentes activos, así como las posibles relaciones entre ellos, aún no es clara y requiere de mayores esfuerzos de investigación. Un mejor entendimiento del papel de los FL en el metabolismo de los camarones es importante para esclarecer diversos aspectos fundamentales en la acuicultura.

Tabla 1. Requerimientos de fosfolípidos (FL) dietéticos reportados para varias especies de camarón.

Especie	Estadio	Nivel	Fuente de FL	Referencia
<i>F. chinensis</i>	juvenil	2%	LS	Kanazawa, 1993
<i>F. merguensis</i>	Juvenil	1-2%	LS	Thongrod & Boonyaratpalin, 1998
<i>F. penicillatus</i>	Juvenil	1.25%	FC	Chen and Jenn, 1991
<i>L. vannamei</i>	Postlarva	6.5%	LS	Coutteau et al., 1996
		1.5%	FC	
<i>M. japonicus</i>	Juvenil	3-5%	LS	Gong et al., 2000a
	Larva	3.5-6%	LS	Kanazawa et al., 1985 Teshima et al., 1986 Camara et al., 1997
<i>P. monodon</i>	Juvenil	3%	LS	Teshima et al., 1986
	Postlarva	1.0%	LS	Piedad-Pascual, 1986
	Juvenil	1.25%	FC	Chen, 1993

LS: Lecitina de soya; FC: fosfatidilcolina

Tabla 2. Fosfolípidos (FL) en lipoproteínas de varias especies de camarón.

Especie	Tipo de lipoproteína	FL en lípido total	Referencia
<i>P. semisulcatus</i>	HDL(1.22g/ml)	74.1%	Lubzens et al., 1997
	VHDL I	85.4%	Ravid et al., 1999
	VHDL II	88.7%	Ravid et al., 1999
	Vitelogenina (1.21g/ml)	70.9%	Ravid et al., 1999
<i>Pac. Leniusculus</i>	HDL (1.15g/ml)	60.9%	Hall et al., 1995
<i>P. californiensis</i>	HDL(1.14g/ml)		Yepiz-Plascencia et al. 1998
<i>L. vannamei</i>	HDL(1.36g/ml)	75%	Ruiz-Verdugo et al., 1997
<i>M. japonicus</i>	HDL ₂ (1.18g/ml)	40-47%	Teshima&Kanazawa,1980
	HDL ₃ (1.18g/ml)	72-87%	
	VHDL (>1.21g/ml)		
<i>P. monodon</i>	Vitelogenina (1.10g/ml)		Chang et al., 1994
			Chen & Chen, 1993

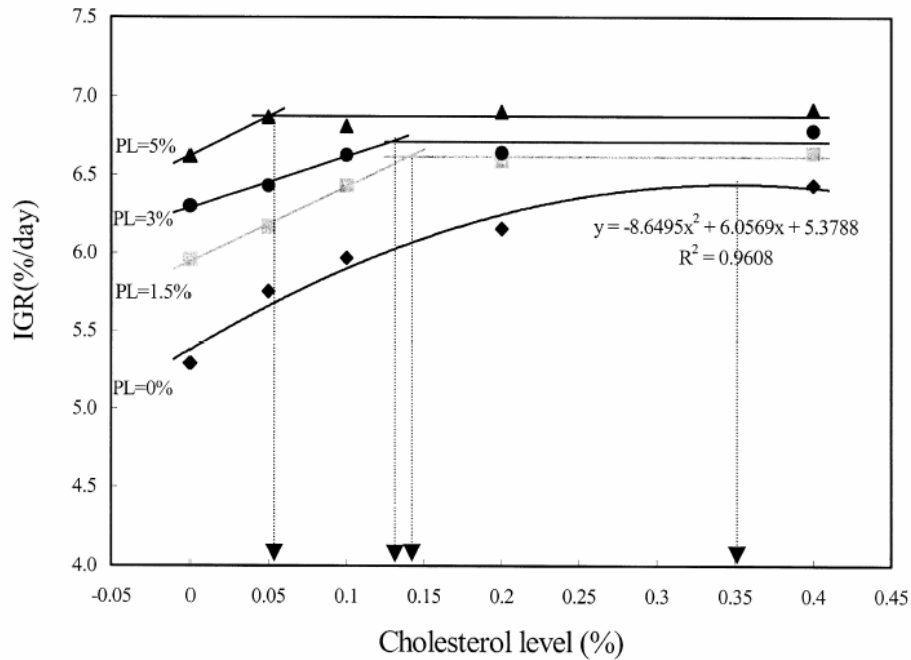


Figura 1. Efecto de FL dietéticos sobre el requerimiento de colesterol de juveniles de *L. vannamei* (Gong et al., 2000a)

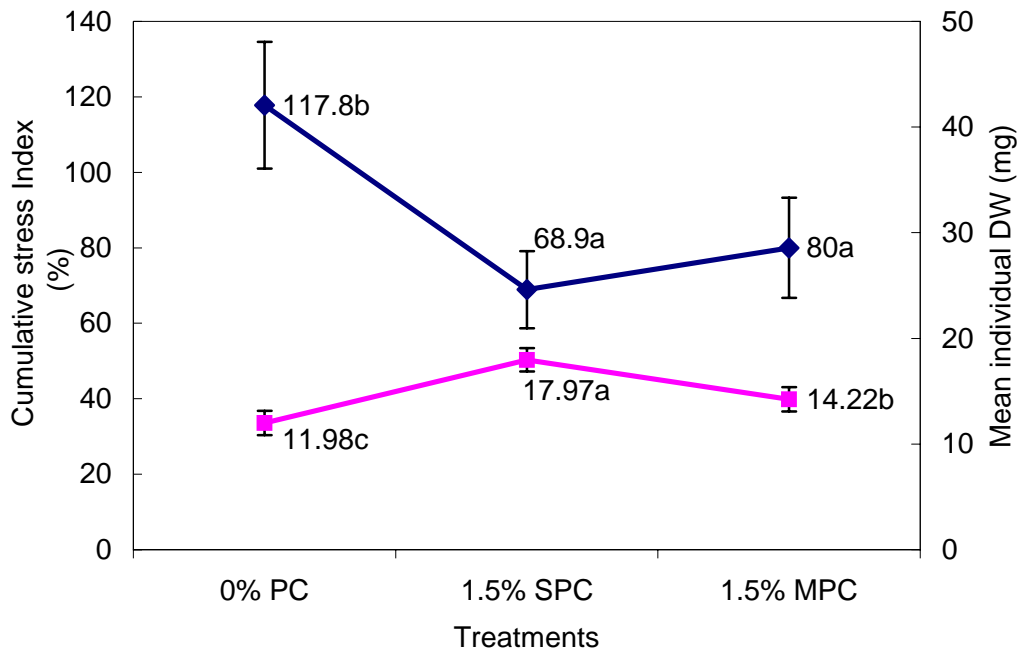


Figura 2. Efectos de FL de lecitina de soya y huevos de pez marino sobre la reducción de la sensibilidad al estrés osmótico en *L. vannamei* (Coutteau et al., 2000).

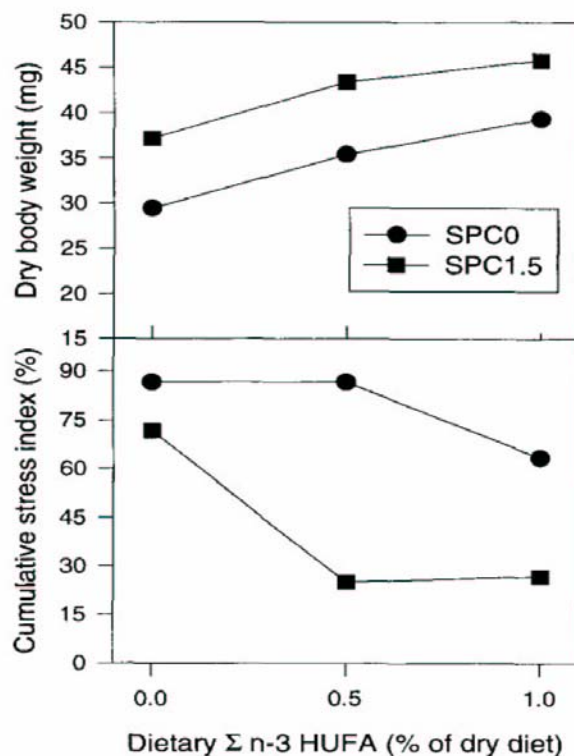


Figura 3. Interacción entre los FL y HUFA dietéticos sobre la reducción de la sensibilidad al estrés osmótico en postlarvas de *M. japonicus* (Kontara, et al., 1997)

Literatura citada

- Almansa, E., Sanchez, J. J., Cozzi, S., Rodriguez, C., Diaz, M., 2003. Temperature-activity relationship for the intestinal $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ of *Sparus aurata*. A role for the phospholipids microenvironment? *J. Comp. Physiol. B* 173, 231-237.
- Alava, V.R., Kanazawa, A., Teshima, S., Shunsuke, K., 1993. Effect of dietary phospholipids and ω -3 highly unsaturated fatty acids on ovarian development of kuruma prawn. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59(2), 345-351.
- Arcos, G.F., Ibarra, A.M., Vazquez-Boucard, C., Palacios, E., Racotta, I.S., 2003. Haemolymph metabolic variables in relation to eyestalk ablation and gonad development of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* Boone. *Aquacult. Res.* 34, 749-755.
- Besterman, J.M., Duronio, V., Cuatrecasas, P., 1986. Rapid formation of diacylglycerol from phosphatidylcholine: a pathway for generation of a second messenger. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 6785-6789.
- Bray, W.A., Lawrence, A.L., Leung-Trujillo, J.R., 1989. Reproductive performance of ablated *Penaeus stylirostris* fed a soy lecithin supplement, *J. World Aquacult. Soc.* 20, 19A.
- Cahu, C., Guillaume, J.C., Stephan, G., Chim, L., 1994. Influence of phospholipid and highly unsaturated fatty acids on spawning rate and egg and tissue composition in *Penaeus vannamei* fed semi-purified diets. *Aquaculture* 126, 159-170.
- Camara, M.R., Coutteau, P., Sorgeloos, P., 1997. Dietary phosphatidylcholine requirements in larval and postlarval *Penaeus japonicus* Bate. *Aquacult. Nutr.* 3, 39-47.

- Chang, C.F., Lee, F.Y., Huang, Y.S., Hong, T.H., 1994. Purification and characterization of the female-specific protein (vitellogenin) in mature female hemolymph of the prawn, *Penaeus monodon*. *Invertebr. Reprod. Dev.* 25, 185-191.
- Chen, H.Y., 1993. Requirements of marine shrimp *Penaeus monodon* juveniles for phosphatidylcholine and cholesterol. *Aquaculture* 109, 165-176.
- Chen, C.C., Chen, S.N., 1993. Isolation and partial characterization of vitellin from the egg of the giant tiger prawn *Penaeus monodon*. *Comp. Biochem. Physiol.* 106B, 141-146.
- Chen, H.Y., Jenn, J.S., 1991. Combined effects of dietary phosphatidylcholine and cholesterol on the growth, survival and body lipid composition of marine shrimp, *Penaeus penicillatus*. *Aquaculture* 96, 167-178.
- Cornelius, F., 2001. Modulation of Na, K-ATPase and Na-ATPase activity by phospholipids and cholesterol. I. Steady-state kinetics. *Biochem.* 40, 8842-8851.
- Cornelius, F., Turner, N., Christensen, H.R., 2003. Modulation of Na, K-ATPase by phospholipids and cholesterol. II. Steady-state and presteady-state kinetics. *Biochem.* 42, 8541-8549.
- Coutteau, P., Camara, M.R., Sorgeloos, P., 1996. The effect of different levels and sources of dietary phosphatidylcholine on the growth, survival, stress resistance, and fatty acid composition of postlarval *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 147, 261-273.
- Coutteau, P., Geurden, I., Camara, M.R., Bergot, P., Sorgeloos, P., 1997. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. *Aquaculture* 155, 149-164.
- Coutteau, P., Kontara, E.K.M., Sorgeloos, P., 2000. Comparison of phosphatidylcholine purified from soybean and marine fish roe in the diet of postlarval *Penaeus vannamei* Boone. *Aquaculture* 181, 331-345.
- Exton, J.H., 1990. Signaling through phosphatidylcholine breakdown. *J. Biol. Chem.* 265, 1-4.
- Gong, H., Jiang, D. H., Lightner, D. V., Collins, C., Brock, D., 2004. A Dietary Modification Approach to Improve the Osmoregulatory Capacity of *Litopenaeus vannamei* Cultured in Arizona Desert. *Aquacult. Nutr.* 10, 1-10.
- Gong, H., Lawrence, A.L., Jiang, D.H., Gatlin III., D.M., 2003. Effect of Dietary Phospholipids on the Choline Requirement of *Litopenaeus vannamei* Juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society.* 34 (3), 289-299.
- Gong, H., Lawrence, A. L., Gatlin III, D. M., Jiang, D. H., Zhang, F., 2001. Comparison of Different Types and Levels of Commercial Soybean Lecithin Supplemented in Semipurified Diets for Juvenile *Litopenaeus vannamei* Boone. *Aquacult. Nutr.* 7, 11-17.
- Gong, H., Lawrence, A. L., Jiang, D. H., Castille, F. L., Gatlin III., D. M., 2000a. Lipid Nutrition of Juvenile *Litopenaeus vannamei* I. Dietary Cholesterol and Phospholipid Requirements and Their Interaction. *Aquaculture* 180, 305-324.
- Gong, H., Lawrence, A. L., Jiang, D. H., Gatlin III., D. M., 2000b. Lipid Nutrition of *Litopenaeus vannamei*. II. Active Components of Soybean Lecithin. *Aquaculture* 180, 325-342.
- Gonzalez-Felix, M.L., Lawrence, A.L., Gatlin III, D.M., Perez-Velazquez, M., 2002a. Growth, survival and fatty acid composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* fed different oils in the presence and absence of phospholipids. *Aquaculture* 205, 325-343.
- Gonzalez-Felix, M.L., Gatlin III, D.M., Lawrence, A.L., Perez-Velazquez, M., 2002b. Effect of dietary phospholipid on essential fatty acid requirement and tissue lipid composition of *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 207, 151-167.
- Hall, M., Vanheusden, M.C., Soderhall, K., 1995. Identification of the major lipoproteins in crayfish hemolymph as proteins involved in immune recognition and clotting. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 216, 939-946.
- Hertrampf, W. J., 1992. Feeding Aquatic Animals with Phospholipids II. Fishes. Lucas Meyer Publication No. 11. Lucas Meyer GmbH & Co., Hamburg, Germany, 70 pp.
- Jeckel, W.H., Aizpun de Moreno, J.E., Moreno, V.J., 1989. Biochemical composition, lipid classes and fatty acids in the male reproductive system of the shrimp *Pleoticus muelleri* Bate. *Comp. Biochem. Physiol.*, 93B (4), 807-811.
- Kanazawa, A., Teshima, S., Sakamoto, M., 1985. Effects of dietary lipids, fatty acids, and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae. *Aquaculture* 50, 39-49.

- Kanazawa, A., 1993. Essential phospholipids of fish and crustaceans. In: Kausife, S.J., Luquet, P. (Eds.), *Fish Nutrition in Practice*. INRA Editions, Versailles Cedex, France, pp. 519-530.
- Kanazawa, A., 1997. Effects of docosahexaenoic acid and phospholipids on stress tolerance of fish larvae. *Aquaculture* 155, 129-134.
- Kontara, E.K.M., Coutteau, P., Sorgeloos, P., 1997. Effect of dietary phospholipids on requirements for and incorporation of n-3 highly unsaturated fatty acids in postlarval *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture* 158, 305-320.
- Lim, C., Ako, H., Brown, C. L., Hahn, K., 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. *Aquaculture* 151, 143-153.
- Lubzens, E., Ravid, T., Khayat, M., Daube, N., Tietz, A., 1997. Isolation and characterization of the high-density lipoproteins from the hemolymph and ovary of the penaeid shrimp *Penaeus semisulcatus* (de Haan): Apoproteins and lipids. *J. Exp. Zool.* 278, 339-348.
- Nishizuka, Y., 1992. Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science* 258, 607-614.
- Perez-Velazquez, M., 2001. Nutritional and environmental factors in maturation of male *Litopenaeus vannamei*. Doctoral thesis, Texas A&M University, College Station, TX, USA.
- Piedad-Pascual, F., 1986. Effect of supplemental lecithin and lipid sources on the growth and survival of *Penaeus monodon* juveniles. In: Asia Fisheries Society. Proceedings of the First Asian Fisheries Forum. Manila, Philippines, pp. 615-618.
- Ravid, T., Tietz, A., Khayat, M., Boehm, E., Michelis, R., Lubzens, E., 1999. Lipid accumulation in the ovaries of a marine shrimp *Penaeus semisulcatus* (de Haan). *J. Exp. Biol.* 202, 1819-1829.
- Ruiz-Verdugo, L.M., Garcia-Banuelos, M.L., Vargas-Albores, F., Higuera-Ciajara, I., Yepiz-Plascencia, G., 1997. Amino acids and lipids of the plasma HDL from the white shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Comp. Biochem. Physiol.* 118B, 91-96.
- Teshima, S., Kanazawa, A., 1980. Lipid constituents of serum lipoproteins in the prawn. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* 46, 57-62.
- Teshima, S., Kanazawa, A., Kakuta, Y., 1986. Effects of dietary phospholipids on growth and body composition of the juvenile prawn. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 52, 155-158.
- Teshima, S., 1997. Phospholipids and sterols. In: D'Abramo, L.R., Conklin, D.E., Akiyama, D.M. (Eds.), *Advances in World Aquaculture Volume 6. Crustacean Nutrition*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, pp. 85-107.
- Thongrod, S., Boonyaratpalin, M., 1998. Cholesterol and lecithin requirement of juvenile banana shrimp, *Penaeus merguensis*. *Aquaculture* 161, 315-321.
- Yepiz-Plascencia, G., Vargas-Albores, F., Jimenez-Vega, F., Ruiz-Verdugo, L.M., Romo-Figueroa, G., 1998. Shrimp plasma HDL and β -glucan binding protein (BGBP): comparison of biochemical characteristics. *Comp. Biochem. Physiol.* 121B, 309-314.
- Zeisel, S.H., 1993. Choline phospholipids: signal transduction and carcinogenesis. *FASEB J.* 7, 551-557.