

Dietas para Reproductores de Camarón y su Efecto en la Calidad Larvaria

Chantal Cahu

Unité Mixte INRA-IFREMER de Nutrition des Poissons, IFREMER, B.P. 70, 29280
Plouzané, France, Tel:33 0298 22 44 03, Chantal.Cahu@ifremer.fr

Introducción

Los requerimientos nutricionales de camarones juveniles han sido ampliamente estudiados, sin embargo, el conocimiento de los requerimientos nutricionales específicos de los reproductores es pobre. Consecuentemente, no se dispone actualmente de dietas compuestas eficientes para la maduración lo cual dificulta la producción de semilla. En una revisión reciente, Browdy (1998) confirmó que la mayoría de los nauplios de peneidos para crianza larvaria en laboratorio provienen generalmente de reproductores silvestres grávidos. Sin embargo, desde hace pocos años se han llevado a cabo estudios en algunos laboratorios para determinar los requerimientos nutricionales de los reproductores de camarón y el efecto de los componentes nutricios sobre los huevos y la calidad de las larvas. Este conocimiento es esencial para formular dietas adecuadas para maduración de camarón y para mejorar la productividad de la semilla.

I- Utilización de alimento fresco

Diversos alimentos frescos son utilizados para reproductores durante la producción de semilla tanto en granjas como en laboratorio, y muchos de ellos están constituidos por organismos marinos. El poliqueto *Glycera dibranchiata* es comúnmente usado para el desove de diferentes especies de hembras: *P. vannamei* (Chamberlain y Lawrence, 1981), *P. schmitti* (Nascimento *et al.*, 1991), *P. stylirostris* (Bray *et al.*, 1990). El positivo efecto global del poliqueto sobre el rendimiento reproductivo de camarones peneidos ha sido atribuido a su alto nivel de ácidos grasos polinsaturados (Lytle *et al.* 1990). Además, muchos de los organismos marinos provocan efectos positivos en la reproducción de camarón, como el calamar (Galgani *et al.*, 1989; Cavalli *et al.*, 1997), mejillón (Primavera *et al.*, 1979, Cahu *et al.*, 1994), camarón (Beard and Wickens, 1980) o *Artemia* (Naessens *et al.*, 1997). Generalmente, dos o tres tipos de organismos marinos son proporcionados juntos. Algunos de ellos son congelados para su almacenamiento. En este caso, el valor nutricional del alimento puede verse deteriorado, dado que la lixiviación en los tanques es mayor después de que el alimento es descongelado. Alvarez *et al.* (1989) mostraron que el número de huevos producidos por *P. indicus* alimentados con mejillón congelado fue significativamente más bajo que el obtenido con hembras alimentadas con mejillón fresco.

El alimento natural fresco o congelado es cada vez más usado junto con dietas formuladas. Estudios recientes concluyen que la mezcla de dietas llevan a los mejores resultados (Nascimento *et al.*, 1991). Sin embargo, es conveniente y esencial sustituir totalmente el alimento fresco por alimento balanceado en la producción de larvas en laboratorio, ya que la calidad del alimento fresco y su disponibilidad son muy variables, y no puede asegurar una producción de nauplios. En la década pasada, los experimentos hechos en diferentes laboratorios fueron dirigidos a determinar los componentes nutricios esenciales para una exitosa reproducción en camarón.

II- Métodos usados en nutrición-reproducción en camarón

Los métodos utilizados entre los laboratorios involucrados en este estudio fueron muy similares.

Parámetros de cultivo

De 10 a 20 hembras fueron criadas con machos en tanques de maduración. La medida de los tanques de maduración fue generalmente de 3 a 10 m³, dependiendo de las especies. El fotoperíodo se mantuvo generalmente entre 12 (Cahu *et al.*, 1995) a 14 horas (Nascimento *et al.*, 1991) por día y la intensidad de la luz alrededor de 20 $\mu\text{W cm}^2$ en la superficie del agua. La temperatura fue de 27 a 29 °C, salinidad de 30 a 35 ppmil, y el intercambio de agua del 100 al 400% por día.

Animales

El peso de los reproductores fue muy variable dependiendo de las especies. Los experimentos fueron llevados a cabo con hembras de 14g y machos de 10g *Penaeus indicus* (Cahu *et al.*, 1995). Palacios *et al.* (en prensa) han usado *Penaeus vannamei* de 35g, así como Nascimento *et al.* (1991) con hembras de *P. Schmitti*. Bray *et al.* (1990) utilizó hembras de 60g y machos de 52g de *Penaeus stylirostris*. Xu *et al.* (1994) han realizado estudios con hembras de *P. chinensis* de 90g. Mardsen *et al.* (1997) reportó experimentos con *P. monodon* de más de 100g. La ablación unilateral del pedúnculo ocular fue desarrollada en hembras al comienzo de los experimentos.

Dietas

Diferentes regímenes alimenticios han sido usados para estudiar el efecto de la nutrición en la reproducción sobre el rendimiento del desove: dietas compuestas más alimento fresco (Galgani *et al.*, 1989; Palacios *et al.*, en prensa), dietas compuestas semi-húmedas (Mardsen *et al.* 1997), dieta compuesta seca (Cahu *et al.*, 1993), o dieta semi-purificada (Xu *et al.* 1994, Cahu *et al.*, 1994). Los ingredientes utilizados por diferentes autores para los alimentos compuestos son similares, y la dieta básica generalmente incluye harina de pescado, harina de calamar, proteína de soya, aceite de pescado, lecitina de soya, mezcla de minerales y de vitaminas.

Rendimiento reproductivo

La evaluación del desarrollo del ovario fue efectuada diariamente por examinación externa. Una vez listas las hembras para desovar (maduración del ovario estadio: IV), fueron transferidas a tanques de desove (100 a 250 L) llenados con agua filtrada a 1 μm e irradiada con rayos ultravioleta. En especies con tético cerrado, tales como *P. monodon*, *P. japonicus*, *P. indicus*, el apareamiento ocurre en el tanque; lo que puede ser demostrado por la presencia

externa de espermatóforos entre el tercer par de periópodos de las hembras. En especies con tético abierto, tales como *P. vannamei* ó *P. stylirostris*, la inseminación artificial debe ser realizada a menudo colocando la masa de esperma en este lugar. El desove ocurre en pocas horas y la hembras desovadas son regresadas a su tanque de maduración original. Todos los huevos fueron colectados y algunas muestras fueron usadas para el conteo y determinación de la tasa de fertilización, según el método de Primavera y Posadas (1981). Los otros huevos fueron incubados y la tasa de eclosión fue determinada 24 horas después (% nauplios/huevos fertilizados). Durante la crianza larvaria, se realizaron mediciones de sobrevivencia y crecimiento a diferentes estadios de desarrollo.

Para caracterizar el rendimiento reproductivo inducido por las dietas experimentales, se usaron los siguientes parámetros: frecuencia de desoves, número de huevos por desove, tasa de fertilización, tasa de eclosión, porcentaje de nauplios anormales y longitud de las protozoa.

III- Efecto de la fracción de lípidos

Aunque la proteína constituye la mayor fracción en la dieta de reproductores (50 a 60% de la materia seca) el nivel óptimo no ha sido realmente estudiado. En cambio, el efecto de la concentración de lípidos y la composición en ácidos grasos de la dieta ha interesado a diferentes autores.

Lípidos totales

Bray *et al.* (1990) obtuvieron los mejores resultados en términos de número de huevos por desove, tasa de eclosión y longitud de protozoa, alimentando *P. stylirostris* con un 11 % de lípidos en la dieta. Las dietas que contenían 7.8 y 14% de lípidos dieron resultados pobres. Este estudio concluyó que el requerimiento lipídico de organismos reproductores es mayor que el de animales que no están en reproducción. Efectivamente, los lípidos representan del 22 al 26% de la materia seca en los huevos al momento de la eclosión y la deposición de lípidos en los ovarios ocurre en pocos días durante la vitelogénesis. Castille y Lawrence (1989) sugieren una rápida transferencia de lípidos desde la glándula digestiva hacia los ovarios durante la vitelogénesis y una gran dependencia de los lípidos recién ingeridos.

Fosfolípidos

Entre los lípidos, los fosfolípidos tienen un papel preponderante. Realmente, los fosfolípidos representan del 45 al 52% del total de lípidos en los huevos capaces de desarrollarse. Esta concentración en los huevos puede ser alcanzada por la alimentación de los reproductores con dietas que contengan más de 2% de fosfolípidos. Hemos demostrado (Cahu *et al.* 1994) que una dieta con el 1.2% de fosfolípidos, disminuyó fuertemente la frecuencia de desoves y el número de huevos por desove en *P. vannamei*. Muy escasos datos están disponibles en la literatura concerniente a los requerimientos en fosfolípidos y su función en los reproductores de peneidos. Sin embargo, Teshima *et al.* (1988) mostraron que la fosfatidilcolina es altamente transferida desde el hepatopáncreas al ovario durante la maduración y Alava *et al.* (1993a) observaron una disminución en el desarrollo del ovario en *P. japonicus* alimentado con una dieta libre de fosfolípidos. Además, los requerimientos en fosfolípidos de larvas y juveniles han sido extensamente estudiados desde que D'Abramo *et al.* (1991) y Kanazawa *et al.* (1985) pusieron en evidencia la baja tasa de biosíntesis de fosfolípidos en los crustáceos. En un reciente estudio, Coutteau *et al.* (1996) demostraron que el 1.5% de fosfatidilcolina es

requerida en la dieta de poslarvas de *P. vannamei* para maximizar el crecimiento. Los fosfolípidos parecen ser esenciales durante la vitelogénesis de peneidos, así como en el desarrollo de la larva y crecimiento de los juveniles. El efecto benéfico global de los fosfolípidos en camarón ha sido atribuido a que aumentan el transporte de lípidos por la formación de lipoproteínas, que inducen una mejor utilización de los lípidos (Teshima *et al.*, 1986) incluyendo a los ácidos grasos esenciales.

Acidos grasos altamente insaturados (Highly Unsaturated Fatty Acids; HUFA).

Se sabe que los crustáceos tienen baja capacidad para alargar y desaturar cadenas de ácidos grasos (Kanazawa *et al.*, 1979). Dado que los ácidos grasos altamente insaturados n-3 son componentes esenciales para las membranas biológicas en organismos marinos, estos componentes deben ser provistos por la dieta. Particularmente durante la eclosión, los huevos deben tener una concentración suficiente de n-3 HUFA para sostener las fases de desarrollo embrionario y lecitotrófica. El papel de los n-3 HUFA sobre la reproducción de camarón y la calidad de huevos ha sido estudiado por varios autores (Middleditch *et al.*, 1979; Cahu *et al.*, 1986), y estudios recientes han demostrado la esencialidad de estos componentes para organismos reproductores. Xu *et al.* (1994) formularon una dieta básica semi-purificada en la cual el 10% de lípidos fueron provistos exclusivamente con manteca de cerdo, aceite de maíz, aceite de linaza o aceite de anchoa. Solamente la dieta que incluía aceite de anchoa contenía n-3 HUFA (15% de total de ácidos grasos) y dio resultados de desove similares para la dieta control (almeja). La dieta que contenía manteca de cerdo, aceite de maíz o aceite de linaza obtuvo resultados pobres, en términos de número de huevos y tasa de eclosión. La concentración de n-3 HUFA (EPA + DHA) en los huevos de los tres grupos mencionados fue de 12 a 19% de ácidos grasos totales, y no fueron suficientes para sostener el desarrollo embrionario. La concentración de n-3 HUFA alcanzó el 28% en el grupo alimentado con la dieta que incluía aceite de anchoa y dio como resultado una tasa de eclosión de hasta 80%. Además, el presente estudio sugiere que el DHA (C22:6n-3) es particularmente determinante para la calidad del huevo: los autores encontraron una alta correlación entre los niveles de DHA en los huevos y la tasa de eclosión.

El estudio anterior fue realizado con hembras silvestres de *P. chinensis*. Otro estudio fue realizado con la 5a generación de *P. indicus* criada en laboratorio (Cahu *et al.* 1995). Tres diferentes fuentes de lípidos fueron incluidas en una dieta básica para obtener un amplio gradiente de HUFA. La dieta HH incluía aceite de hígado de bacalao y el nivel alcanzado de n-3 HUFA fue de 32% del total de ácidos grasos en la dieta. En la dieta MH, la fuente de lípidos fue aceite de hígado de bacalao y contenía 19% de n-3 HUFA, mientras que en la dieta de aceite de girasol LH, el nivel de n-3 HUFA fue de 7%. El número de huevos no fue diferente entre los tres grupos, pero la tasa de eclosión estuvo directamente relacionada con el nivel de n-3 HUFA en la dieta. Este estudio condujo a la determinación de la concentración mínima de n-3 HUFA necesaria para sostener un desarrollo embrionario normal en los huevos. Reproductores alimentados con una dieta que contenía 1.4 a 2.5% n-3 HUFA de materia seca desovaron huevos que contenían 4% n-3 HUFA de materia seca. Esta concentración es adecuada para sostener la intensa multiplicación celular que ocurre durante la embriogénesis. Durante los estadios lecitotróficos, por ejemplo, de Nauplio I a Nauplio IV, el nivel de lípidos totales disminuyó en las larvas, pero la concentración de HUFA se mantuvo en un nivel constante (Cahu *et al.*, 1988). Estos ácidos grasos no son usados como sustrato energético, sino que son preservados para la multiplicación de membranas. Los n-3 HUFA del alimento para reproductores son determinantes para la calidad de los huevos y las larvas.

IV- Efecto de vitaminas

Está bien establecido que las vitaminas juegan un papel en el proceso reproductivo. Particularmente, el efecto de estos componentes ha sido claramente puesto en evidencia en el desarrollo embrionario de diferentes organismos, tales como insectos (Draper, 1980) o peces (Luquet y Watanabe, 1986). Los efectos de una vitamina liposoluble, α -tocoferol o vitamina E, y una vitamina soluble en agua, ácido ascórbico o vitamina C, sobre la reproducción y calidad larvaria de camarón han sido estudiados. Efectivamente, el camarón no tiene la capacidad de sintetizar estos componentes, por lo que deben de estar presentes, al igual que los HUFA, en suficiente cantidad en los huevos para sostener los estadios de desarrollo lecitotróficos.

α -tocoferol

Algunos experimentos han sido dirigidos hacia la alimentación de reproductores con dietas compuestas que incluyen diferentes niveles de α -tocoferol. Contrariamente al ácido ascórbico, es prácticamente imposible obtener un alimento compuesto totalmente desprovisto de α -tocoferol ya que las harinas usadas contienen pequeñas cantidades de tocoferol. La suplementación se hace adicionando acetato de α -tocoferol (50%). En un experimento reciente (Cahu *et al.*, 1995), no obtuvieron una diferencia significativa en el número de huevos producidos por reproductores de *P. indicus* alimentados con altos niveles de α -tocoferol (355 mg/Kg de materia seca) y bajo nivel de α -tocoferol (82 mg/Kg, sin adición de α -tocoferol). No obstante, la tasa de eclosión alcanzó el 55% en el primer grupo, mientras que solamente fue de 28% en el segundo grupo. Estas tasas de eclosión estuvieron relacionadas con las concentraciones de α -tocoferol en los huevos: 587 μ g/g materia seca en el primer grupo y 177 μ g/g en el segundo, mostrando que la dieta con α -tocoferol afecta la calidad del huevo. Dependiendo de la dieta y el rango del desove, las concentraciones de α -tocoferol medidas en huevos de *P. indicus* son muy diferentes (Cahu *et al.*, 1991): el primer desove de hembras alimentadas con una dieta compuesta conteniendo un nivel alto de α -tocoferol produjo huevos con más de 800 μ g α -tocoferol /g materia seca, mientras que un valor menor a 100 μ g fue encontrado en el noveno desove de hembras alimentadas con un bajo nivel de α -tocoferol. La tasa de eclosión fue de alrededor de 60% en el primer caso, y 5% en el segundo. En otro experimento, Alava *et al.* (1993b) observaron una disminución en el índice gonadosomático de *P. japonicus* alimentado sin α -tocoferol. El mismo resultado fue reportado para otra vitamina liposoluble, la vitamina A.

El efecto benéfico del α -tocoferol sobre el desarrollo del huevo puede ser producido por las propiedades antioxidantes de esta vitamina, protegiendo a las membranas biológicas de la oxidación y la degradación por radicales libres. Sin embargo, el requerimiento en α -tocoferol de los huevos en desarrollo no debe ser estudiado de manera aislada. Un incremento de HUFA en huevos, producido por una dieta para reproductores rica en HUFA, produce bajas concentraciones de α -tocoferol en huevos de *P. indicus* (Cahu *et al.*, 1993). Cowey *et al.* (1981) han propuesto que debe mantenerse una proporción, específica para el órgano y la especie, entre la concentración de HUFA y α -tocoferol en las membranas celulares. Reproductores alimentados con una alta concentración de HUFA deben ser provistos con una alta concentración de α -tocoferol.

Acido ascórbico

La esencialidad del ácido ascórbico para la vitelogénesis en el camarón fue sugerida desde 1975 por Guary *et al.* Estos autores encontraron acumulación de ácido ascórbico en el ovario. En un experimento reciente, mostramos que la concentración de ácido ascórbico en huevos de peneidos está relacionada con la concentración de este ácido en la dieta de los reproductores. Se obtuvieron diferentes valores de ácido ascórbico, entre 80 y 750 µg/g de la materia seca, y una baja eclosión de huevos fue asociada a la baja concentración de vitamina C. Futuras evaluaciones del requerimiento en ácido ascórbico de reproductores será realizada utilizando ascorbyl-2-monofosfato como fuente de vitamina C.

El efecto benéfico del ácido ascórbico puede ser atribuido a su acción antioxidante sobre los HUFAs en el citosol. Cowey *et al.* (1985) estudiaron los diferentes sistemas involucrados en la prevención de la peroxidación de lípidos durante el desarrollo embrionario en *Salmo salar*. La actividad de enzimas antioxidantes, tales como la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa, fueron bajas, pero la utilización de α -tocoferol y de ácido ascórbico fueron significativas. El mejoramiento en la calidad del huevo con el incremento de los niveles de ácido ascórbico puede también ser explicado por la acción de esta vitamina en la hidroxilación de la prolina para la síntesis de colágeno triple helicoidal estable, como fue sugerido para embriones de peces (Waagbo *et al.*, 1989).

Kontara *et al.* (1995) estimaron que 40 mg de ácido ascórbico/Kg de dieta es un nivel suficiente para cubrir los requerimientos de las poslarvas de *P. vannamei*. Nuestro experimento sugiere que la concentración en la dieta para maduración debe ser superior a 450 mg/Kg para asegurar el éxito de la reproducción. Resultados similares han sido obtenidos en peces. Blom y Dabrowski (1995) mostraron que la concentración de vitamina C necesaria en la dieta para una exitosa reproducción en la trucha arcoiris es 8 veces mayor que la concentración necesaria para el crecimiento. Altos niveles de vitaminas son un requerimiento específico de organismos reproductores.

Conclusión

Los requerimientos específicos de algunos nutrientes para reproductores de camarón, tales como lípidos y vitaminas, han sido evaluados. Sin embargo, otros nutrientes principales y básicos como las proteínas, no han sido estudiados por el momento. De la misma manera, valdría la pena que fuera investigado el efecto de los pigmentos carotenoides y los minerales sobre la reproducción. La composición bioquímica de los huevos está altamente relacionada con la dieta de los reproductores y la calidad de los huevos, por ejemplo, la capacidad de desarrollo del huevo, está determinada por su composición. Aún más, esta composición debe soportar los estadios tempranos del desarrollo de las larvas, hasta que el organismo pueda adquirir un modo de nutrición exotrófico.

Referencias

- Alava V.R., Kanazawa A., Teshima S. and Koshio S.**, 1993a. Effect of dietary phospholipids and n-3 highly unsaturated fatty acids on ovarian development of kuruma prawn. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59 (2), 345-351.
- Alava V.R., Kanazawa A., Teshima S. and Koshio S.**, 1993b. Effects of dietary vitamins A, E and C on the ovarian development *Penaeus japonicus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59 (7), 1235-1241.
- Alvarez M., Cahu C. and Stéphan G.**, 1989. Teneur en alpha-tocophérol des oeufs et des organes des reproducteurs de *Penaeus indicus*. *Océanis*, 15(4), 553-560.
- Beard T.W. and Wickins J.F.**, 1980. Breeding of *P. monodon* Fabricius in laboratory recirculating systems. *Aquaculture*, 20: 79-89.
- Blom J.H. and Dabrowski K.**, 1995. Reproductive success of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to graded dietary ascorbyl monophosphate levels. *Biology of Reproduction*, 52: 1073-1080.
- Bray W.A., and Lawrence A.L.**, 1990. Reproduction of eyestalk-ablated *Penaeus stylirostris* fed various levels of total dietary lipid. *Journal of the World Aquaculture Society*, 21(1), 41-52.
- Browdy C.L.**, 1998. Recent developments in penaeid broodstock and seed production technologies : improving the outlook for superior captive stocks. *Aquaculture*, 164, 3-21.
- Cahu C., Sévère A. and Quazuguel P.**, 1988. Variation in lipid content in *Penaeus indicus* during larval development. ICES, Mariculture Committee /F22, 16pp.
- Cahu C., Fakhfakh M. and Quazuguel P.**, 1991. Effect of dietary α -tocopherol level on reproduction of *Penaeus indicus*. In: Larvi'95- Fish and Shellfish Larviculture Symposium (P.Lavens, E. Jaspers and I. Roelants editors), EAS Special Publication N°15, 242-244, Gent, Belgium.
- Cahu C., Villette M., Quazuguel P. and Guillaume J.**, 1993. The effect of n-3 highly unsaturated fatty acid and vitamin E supplementation in broodstock feed on reproduction of *Penaeus indicus*. In: Fish Nutrition in Practice, (S. Kaushik Editor), Ed. INRA, Les colloques, Paris , France, Vol. 61, 589-598.
- Cahu C., Guillaume J.C., Stéphan G. and 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.
- Cahu C., Cuzon G. and Quazuguel P.**, 1995. Effect of highly unsaturated fatty acids, α -tocopherol and ascorbic acid in broodstock diet on egg composition and development of *Penaeus indicus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 112A(3/4), 417-424.
- Castille F.L. and Lawrence A.L.**, 1989. Relationship between maturation and chemical composition of the gonads and digestive glands of the shrimps *Penaeus aztecus* and *Penaeus setiferus*. *Journal of Crustacean Biology*, 9: 202-211.
- Cavalli R.O., Scardua M.P. and Wasielesky W. Jr.**, 1997. Reproductive performance of different sized wild and pond-reared *Penaeus paulensis* females. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28(3), 260-267.
- Chamberlain G.W. and Lawrence A.L.**, 1981. Maturation, reproduction and growth of *P. vannamei* and *P. stylirostris* fed natural diets. *Journal of the World Aquaculture Society*, 12:209-224.
- Coutteau P., Camara M.R. and 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.
- Cowey C., Adron J., Walton J., Murray J., Yougson A. and Knox D.**, 1981. Tissue distribution, uptake and requirement for α -tocopherol of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed diets with a minimal content of unsaturated fatty acids. *J. Nutr.*, 111: 1556-1567.
- Cowey C., Bell J., Knox D., Fraser A. and Yougson A.**, 1985. Lipids and antioydan systems in developing eggs of salmon (*Salmo salar*). *Lipids*, 20: 567-572.
- D'Abramo L.R., Bordner C.E., Baum N.A. and Conklin D.E.**, 1981. Essentiality of dietary phosphatidylcholine for the survival of juvenile lobster. *J. Nutr.*, 111: 111.
- Draper H.**, 1980. Role of vitamin E in plant, microbes, invertebrates and fish. In *Vitamin E: a comprehensive treatise*, (L.Machlin Editor), Marcel Dekker, Inc., New York, 392-395.
- Galgani M.-L., Cuzon G., Galgani F. et Goguenheim J.**, 1989. Influence du régime alimentaire sur la reproduction en captivité de *Penaeus indicus*. *Aquaculture*, 81, 337-350.

- Guary M., Ceccaldi H. and Kanazawa A.**, 1975. Variation du taux d'acide ascorbique au cours du développement de l'ovaire et du cycle d'intermue chez *Palaemon serratus*. Marine Biology, 32: 349-355.
- Harrison K.E.**, 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans : a review. Journal of Shellfish Research, 9(1), 1-28.
- Kanazawa A., Teshima S. and Ono K.**, 1979. Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity of bioconversion of linolenic acid in highly unsaturated fatty acid. Comp. Biochem. Physiol., 63: 295-298.
- Kanazawa A., Teshima S. and Sakamoto M.**, 1985. Effect of dietary lipids, fatty acids and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae. Aquaculture, 50: 39-49.
- Kontara E.K., Merchie G. Lavens P., Nelis H., De Leenheer A. and P; Sorgeloos**, 1995. Improved larviculture outputs of postlarval shrimp *Penaeus vannamei* through supplementation of L-ascorbyl-2-polyphosphate in the diet. Larvi'95- Fish and Shellfish Larviculture Symposium (P.Lavens, E. Jaspers and I. Roelants editors), EAS Special Publication N°24, 230-234, Gent, Belgium.
- Luquet P. and Watanabe T.**, 1986. Interaction « nutrition-reproduction » in fish. Fish Physiology and Biochemistry, 2: 121-129.
- Lytle J.S., Lytle T.F. and Ogle J.T.**, 1990. Polyunsaturated fatty acid profiles as a comparative tool in assessing maturation diets of *Penaeus vannamei*. Aquaculture, 89, 287-299.
- Marsden G.E., McGuren J.J., Hansford S.W. and Burke M.J.**, 1997. A moist artificial diet for prawn broodstock : its effect on the variable reproductive performance of wild caught *Penaeus monodon*. Aquaculture, 149, 145-156.
- Middledich B.S., Missler S.R., Hines H.B., Mcvey J.P., Brown A., Ward D.G. and Lawrence A.L.**, 1980. Metabolic profiles of penaeid shrimp: dietary lipids and ovarian maturation. Journal of Chromatography, 195: 359-368.
- Nascimento I.A., Bray W.A., Leung Trujillo J.R. and Lawrence A.**, 1991. Reproduction of ablated and unablated *Penaeus schmitti* in captivity using diets consisting of fresh-frozen natural and dried formulated feeds. Aquaculture, 99, 387-398.
- Naessens E., Lavens P., Gomez L., Browdy C.L., McGovern-Hopkins K., Spencer A.W., Kawahigashi D. and Sorgeloos P.**, 1997. Maturation performance of *Penaeus vannamei* co-fed *Artemia* biomass preparations. Aquaculture, 155: 87-101.
- Palacios E., Perez-Rostro C.I., Ramirez J.L., Ibarra A.M. and Racotta I.S.**, *in press*. Reproductive exhaustion in shrimp (*Penaeus vannamei*) reflected in larval biochemical composition, survival and growth. Aquaculture.
- Primavera J.H., Lim C. and Borlongan E.**, 1979. Effect of different feeding regimes on reproduction and survival of ablated *Penaeus monodon* Fabricius. Quarterly Research Report III (1), 12-15.
- Primavera J.H. and Posadas R.A.**, 1981. Studies on the egg quality of *Penaeus monodon* fabricius, based on morphology and hatching rates. Aquaculture, 22: 269-277.
- Teshima S., Kanazawa A. and Kakuta Y.**, 1986. Role of dietary phospholipids in the transport of ¹⁴C tripalmitin in the prawn. Nippon Suisan Gakkaishi, 52: 519-524.
- Teshima S., Kanazawa A. and Horinouchi K.**, 1988a. Lipid metabolism in destalked prawn *Penaeus japonicus*: induced maturation and transfer of lipid reserves to the ovaries. Nippon Suisan Gakkaishi, 54(7), 1123-1129.
- Waagbo R., Thorsen T. and Sandnes K.**, 1989. Role of dietary ascorbic acid in vitellogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture, 80: 301-314.
- Xu X.L., Ji W.J., Castell J.D. and O'Dor R.K.**, 1994. Influence of dietary lipid sources on fecundity, egg hatchability and fatty acid composition of Chinese prawn (*Penaeus chinensis*) broodstock. Aquaculture, 119, 359-370.