

Pengaruh Perbedaan Sistem Budidaya terhadap Pola Pita Protein Daging Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Ni Nyoman Dian Martini^{1*}, Happy Nursyam², Mohamad Fadjar²

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja^{1}
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang²*

E-mail penulis^{1}: dianmartini13@gmail.com*

Abstrak

Penerapan teknologi bioflok, sistem budidaya heterotrofik dengan pertukaran air minimal, saat ini sedang dikembangkan dalam kegiatan budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) karena dapat memberikan produktivitas yang lebih tinggi, konversi pakan yang lebih rendah, dan kualitas air yang lebih stabil. Pada teknologi bioflok, bakteri heterotrofik di dalam sistem budidaya cenderung membentuk agregat (bioflok) yang dapat dikonsumsi oleh udang sebagai sumber protein alami. Dalam penelitian ini, studi SDS-PAGE dilakukan pada daging *L. vannamei* sepanjang siklus produksi tambak intensif dengan sistem budidaya yang berbeda (Fitoplankton, Semi-Bioflok, dan Bioflok) untuk menyelidiki pengaruh sistem budidaya yang berbeda tersebut terhadap pola pita protein daging *L. vannamei*. Penelitian ini berlangsung pada beberapa lokasi di Kabupaten Tuban, Jawa Timur. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh karakteristik pita protein daging *L. vannamei* yang berasal dari sistem pemeliharaan yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sistem bioflok menghasilkan pola pita protein dengan variabilitas yang lebih tinggi karena sistem ini dapat mempertahankan kualitas air yang baik selama pemeliharaan dan menyediakan sumber protein alternatif berupa bioflok bagi *L. vannamei* selain pakan pelet.

Kata kunci: udang vaname (*L. vannamei*), sistem bioflok, daging, pita protein, SDS-PAGE

Abstract

Application of biofloc system, a heterotrophic culture with minimal water exchange, has gained interest particularly in relation to providing high productivity, low feed-conversion ratios, and a stable culture environment, especially in shrimp. In biofloc system, heterotrophic bacterial tends to form noticeable aggregates (biofloc), which can be consumed by shrimp as a natural protein source. In relation to this, the impact of different culture systems on white shrimp (*L. vannamei*) muscle protein patterns was investigated. In this research, an SDS-PAGE study was performed on white shrimp muscle tissue along the production cycle in intensive shrimp culture ponds with different culture systems (Phytoplankton, Semi-Biofloc, and Biofloc). The study was located in different areas of the District of Tuban, East Java. The aim of this study was to accomplish systematic characterization of the white shrimp muscle protein pattern, which derives from each of the ponds with different rearing systems. The result of the study showed that the biofloc system yields variability of protein pattern as it maintains good water quality throughout the culture and provides an alternative protein source (as biofloc) for the shrimp besides the pellet.

Key words: white shrimp (*L. vannamei*), biofloc system, muscle, protein pattern, SDS-PAGE

1. Pendahuluan

Udang adalah salah satu makanan laut yang paling populer dan sehat karena kaya akan protein dan mineral serta merupakan produk laut yang bernilai ekonomis tinggi di dunia. Udang vaname (*L. vannamei*) adalah spesies krustase yang dapat dipelihara di tambak intensif. Sejumlah teknik yang umumnya digunakan dalam budidaya udang intensif antara lain sistem budidaya fitoplankton, semi-

bioflok, dan bioflok. Sistem budidaya tertutup dengan teknologi bioflok saat ini mendapat perhatian lebih khusus dibandingkan teknologi lainnya karena sistem ini mendukung pengelolaan limbah dan daur ulang protein pakan secara simultan sehingga berpotensi menawarkan sustainabilitas dan kompatibilitas lingkungan yang lebih baik bagi komunitas

budidaya udang (Tacon, 2002) serta pertumbuhan yang lebih baik dengan adanya ketersediaan sumber protein alami tambahan bagi udang (Kim *et al.*, 2014).

Berbeda dengan sistem budidaya konvensional, sistem budidaya bioflok menerapkan pergantian air minimal serta menggunakan dua sumber makanan bagi udang yang dipelihara, yaitu, pelet dan bioflok. Perubahan makanan dapat mempengaruhi metabolisme dan respon fisiologis udang pada tingkat molekuler. Hal ini menjelaskan tentang bagaimana nutrisi dan senyawa spesifik menghasilkan perubahan spesifik pada tingkat molekuler, yang pada gilirannya menyebabkan perubahan metabolisme dan fisiologis udang (Chávez-Calvillo *et al.*, 2010). Pada bidang keilmuan nutrigenomik, peneliti akan dapat memahami bagaimana komponen yang berbeda dari pakan mempengaruhi mekanisme molekuler dan fisiologi hewan kultur, sehingga dengan cara ini dapat ditemukan strategi untuk mengoptimalkan penggunaan nutrisi dan meningkatkan kualitas produk akhir (Paoloni-Giacobino *et al.*, 2003).

Eksresi protein dipengaruhi oleh sumber protein (Chávez-Calvillo *et al.*, 2010), namun saat ini masih sedikit yang diketahui tentang pola pita protein daging udang yang dipelihara pada kondisi budidaya dengan input pakan yang berbeda. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh sistem budidaya yang berbeda dalam hal ini adalah input diet terhadap diferensiasi pola pita protein daging *L. vannamei*.

2. Metode

2.1 Persiapan sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada tambak budidaya udang vaname intensif dengan sistem budidaya yang berbeda yaitu sistem fitoplankton, semi bioflok, dan bioflok di Kabupaten Tuban Jatim. Sampel udang vaname diambil pada Tambak A (fitoplankton), B (semi bioflok), dan C (bioflok) yang masing-masing terdiri dari tiga petakan pada saat udang vaname berusia 0, 40, dan 70 hari. Selanjutnya udang vaname dimasukkan ke dalam plastik satu persatu, lalu dimasukkan ke dalam *cool box* untuk selanjutnya dipindahkan ke dalam lemari pendingin bersuhu -20°C .

2.2 Ekstraksi Protein

Ekstraksi protein dilakukan berdasarkan Bollag & Edelstein (1991) yaitu sebanyak 0.5 gram jaringan otot udang vaname dihomogenasi dengan 400 μl buffer ekstrak (50 mM Tris-Cl pH 7.5, 0.1 mM EDTA, 1 mM merkaptoethanol atau 1 mM Dithiothreitol, dan 1 mM PMSF dalam DMSO). Homogenat dimasukkan ke dalam tabung 1.5 ml kemudian disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C . Supernatan yang diperoleh dipindah ke tabung 1.5 ml dan disimpan pada suhu -20°C .

2.3 Pengukuran Konsentrasi Protein

Konsentrasi protein diukur dengan menggunakan UV-Vis Quantification (Robyt & White, 1987). Sebanyak 10 μl sampel protein ditambah 990 μl PBS pH 7.4 dan diukur pada panjang gelombang 280 nm dan 260 nm. Konsentrasi protein (mg/ml) diukur dengan menggunakan rumus:

$$\text{Konsentrasi (mg/ml)} = (1.55 \times A_{280}) - (0.76 \times A_{260})$$

2.4 Preparasi Sampel Protein

Sebanyak 50 μl sampel ditambah 100 μl reducing sample buffer (0.1 M Tris-Cl pH 6.8, 20% gliserol, 4% SDS, 2 ml Merkaptoethanol, 0.001% bromophenol blue). Sampel dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit dan digunakan untuk elektroforesis atau disimpan pada suhu -20°C (Bollag & Edelstein, 1991).

2.5 Elektroforesis dan Pengukuran Berat Molekul

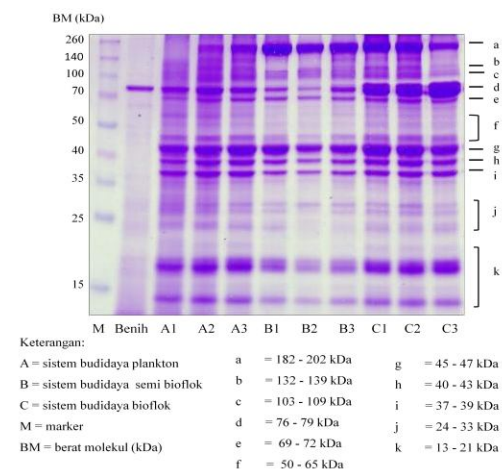
Analisis pita protein udang vaname menggunakan SDS PAGE metode Laemmli (1970) dalam Ausubel *et al.*, (1995) yang disebut dengan “Denaturing (SDS) Discontinuous Gel Electrophoresis”. Pembuatan separating gel 12.5% dibuat dengan komposisi 2480 μl poliakrilamid 30%, 1500 μl Tris-Cl pH 8.8, 1818 μl akuades, 75 μl SDS 10%, 75 μl asam persulfat (APS) 10 %, dan 5 μl TEMED. Larutan stacking gel 5% dengan komposisi 450 μl poliakrilamid 30%, akuades 2100 μl , 380 μl Tris-Cl pH 6.8, 30 μl SDS 10%, 30 μl APS 10% dan 5 μl TEMED. Sebanyak 5 μl sampel dimasukkan ke dalam sumuran gel. Marker protein yang digunakan mempunyai berat molekul sekitar 15 kDa

hingga 260 kDa. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 100 volt selama 2 jam. Finally, the gel was stained overnight with Coomassie blue R-250. Pengukuran berat molekul protein dilakukan dengan cara mengukur jarak migrasi pita protein.

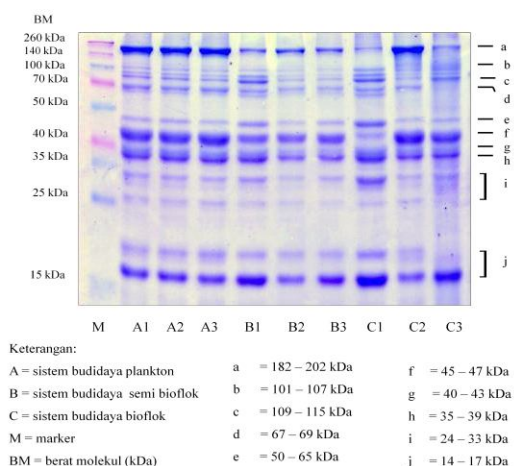
3. Pembahasan Hasil

3.1 Komposisi Protein Daging *L. vannamei*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa komposisi protein myofibril dominan pada jaringan otot *L. vannamei* dengan sistem budidaya yang berbeda menggunakan SDS-PAGE terdiri dari myosin dan actin (Gambar 1 dan Gambar 2). Myosin meliputi myosin high chain (MHC) dengan BM sekitar 200 kDa (Sriket *et al.*, 2007; Koyama *et al.*, 2012), subfragment-2 heavy chain (S2) (sekitar 66.3 kDa) (Koyama *et al.*, 2012), dan myosin light chain (MLC) dengan BM sekitar 20 kDa (Koyama *et al.*, 2012) atau sekitar 12–22 kDa (Ball & Johnston, 1996). Actin meliputi alpha actinin (α A) (sekitar 97 kDa) (Neil *et al.*, 1993) atau sekitar 94–103 kDa (Blanchard *et al.*, 1989), actin (sekitar 45 kDa) (Sriket *et al.*, 2007), dan beta actin (β A) (sekitar 42 kDa) (Yao *et al.*, 2006). Selain itu juga terdeteksi protein myofibril paramyosin dan isoform paramyosin dengan BM sekitar 105–110 kDa (Mykles, 1985) atau sekitar 100–140 kDa (Cooper *et al.*, 1998), troponin T (TnT) (sekitar 50–55 kDa) (Griffis *et al.* 2001; Medler & Mykles, 2003), tropomyosin (sekitar 37 kDa) (Medler & Mykles, 2003), dan troponin I (TnI) (sekitar 24–32 kDa) (Medler & Mykles, 2003).



Gambar 1. Analisis SDS-PAGE/*Coomassie Blue-Staining* Protein Daging *L. vannamei* Usia Benih (PL15) dan DOC 40



Gambar 2. Analisis SDS-PAGE/*Coomassie Blue-Staining* Protein Daging *L. vannamei* DOC 70

3.2 Pengaruh Usia Pemeliharaan terhadap Pola Pita Protein Daging *L. vannamei*

Terdapat perbedaan pola pita protein antara jaringan otot *L. vannamei* pada saat usia 40 hari dengan usia 70, dimana pada usia 40 hari dan 70 hari terdapat total rata-rata berturut-turut 22 dan 15 pita protein yang terdeteksi menggunakan SDS-PAGE. Pada usia 70 hari terdapat beberapa protein myofibril *L. vannamei* dengan massa molekul yang lebih rendah bila dibandingkan dengan usia 40 hari, yaitu tampak pada paramyosin dan isoform paramyosin *L. vannamei* pada usia 40 hari dan 70 hari pada penelitian ini masing-masing sekitar 123–139 kDa dan 97–107 kDa, selanjutnya alpha actinin masing-masing sekitar 109–115 kDa dan 92–96 kDa, troponin T sekitar 50–59 kDa dan 50–52 kDa, dan MLC sekitar 13-21 kDa dan 13-17 kDa. Perbedaan ini disebabkan oleh terjadinya transisi atau penyesuaian terhadap tahap perkembangan jaringan otot udang antara usia 40 dan 70 hri. Pembangunan transisi protein yang muncul mungkin berkorelasi dengan peningkatan kecepatan pemendekan maksimum serat otot cepat selama periode kehidupan. Sukses isoform protein yang berbeda menunjukkan regulasi independen dari sintesis subunit myosin yang berbeda. Perubahan molekuler pada sifat kontraktile otot atau fenotip jaringan otot menyebabkan perubahan pola ekspresi gen protein otot *L. vannamei*. Fungsi utama dari sistem otot adalah untuk makan dan pergerakan. Struktur molekul otot akan terus berkembang sesuai dengan peran fungsional dari protein tertentu

pada otot sebagai efek dari variasi ekspresi isoform protein myofibril pada otot tersebut (Schiaffino & Reggiani, 1996). Variasi perkembangan otot *L. vannamei* antara DOC 40 dan DOC 70 pada penelitian ini mungkin terkait dengan perubahan ekspresi pada protein otot dimana ada korelasi molekuler terhadap perubahan kinetika dan perilaku. Selanjutnya Schiaffino & Reggiani (1996) menyatakan bahwa protein myofibrillar terdapat dalam beberapa isoform yang berasal dari famili multigen (isogen). Isoform tambahan, termasuk produk dari tropomyosin, MLC, troponin, dapat dihasilkan dari gen yang sama melalui promotor alternatif. Pola ekspresi isogen bervariasi selama perkembangan otot dalam kaitannya dengan asal-usul sel myogenik dan generasi serat primer/ sekunder yang berbeda dan dipengaruhi oleh kondisi saraf dan hormonal.

3.3 Pengaruh Sistem Pemeliharaan terhadap Pola Pita Protein Daging *L. vannamei*

Pola pita protein jaringan otot *L. vannamei* pada saat usia 40 hari (DOC 40 /day of culture 40) (Gambar 1) tidak menunjukkan perbedaan diantara ketiga sistem budidaya baik sistem budidaya fitoplankton, semi bioflok, dan bioflok. Pada pita protein dengan BM sekitar 76 kDa terlihat bahwa jaringan otot *L. vannamei* yang berasal dari sistem budidaya bioflok mempunyai intensitas ketebalan yang tertinggi dibandingkan dengan sistem lainnya, seperti juga yang terlihat pada saat usia benih (PL 15). Menurut Albert *et al.* (2002), ketebalan pita protein menunjukkan konsentrasi protein tersebut, dimana protein dengan intensitas yang lebih tebal juga mempunyai konsentrasi yang lebih tinggi. Protein dengan BM sekitar 76 kDa merupakan jenis glycoprotein yang terdapat pada krustase yang disebut dengan *prophenoloxidase*. Sritunyalucksana *et al.*, (1999) menemukan protein dari jenis glycoprotein berupa enzim yang disebut dengan *prophenoloxidase* (proPO) pada *Penaeus monodon* dengan cara kloning pada BM 78.7 kDa. Selanjutnya Kim *et al.* (2000) menyatakan bahwa proPO merupakan komponen pertahanan penting hewan invertebrata termasuk krustase dalam melawan keberadaan mikroba patogen dengan juga menemukan protein proPO ini pada BM 76 kDa melalui pemurnian sel darah lobster air tawar (*Pacifastacus leniusculus*).

Selanjutnya pola pita protein jaringan otot *L. vannamei* pada saat usia 70 hari (Gambar 2) tidak menunjukkan perbedaan diantara sistem budidaya fitoplankton, dan semi bioflok, namun terdapat perbedaan pada sistem budidaya bioflok. Pada sumur C1, C2, dan C3 yang merupakan daging *L. vannamei* yang berasal dari petakan tambak 1, 2, dan 3 dengan sistem budidaya bioflok terdapat adisi pita protein pada BM sekitar 35 kDa. Kemudian pada sumur C2 terdapat adisi pita protein pada BM sekitar 18 kDa dan 110 kDa serta delesi pita protein pada BM 63 kDa. Pada sumur C3 juga terdapat adisi pita protein dengan BM sekitar 57 kDa dan 110 kDa serta delesi pita protein pada BM 63 kDa dan 66 kDa. Pada sumur C1 juga menunjukkan densitas pita protein yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan sumur C2 dan C3 yaitu pada pita protein alpha actinin, troponin T, beta actinin, tropomyosin, troponin I, dan MLC. Perbedaan pola pita protein ini mungkin disebabkan oleh terjadinya diferensiasi ekspresi gen protein daging *L. vannamei* dalam menanggapi perubahan nutrisi yang diperoleh selama pemeliharaan.

Berbeda dengan sistem fitoplankton maupun sistem semi-bioflok, sistem budidaya bioflok menggunakan dua sumber pakan bagi biota yang dibudidayakan yaitu pelet dan bioflok. Perbedaan sumber protein pakan selama kegiatan budidaya dapat mempengaruhi nilai nutrisi protein dalam hal ini kandungan asam amino di dalamnya dan kemudian mempengaruhi kualitas atau profil protein daging (Anderson & Lall, 2005). Kebiasaan makan udang adalah dengan cara makan sedikit demi sedikit tetapi sering (Bordner & Conklin, 1981), *L. vannamei* yang dipelihara di tambak dengan sistem budidaya bioflok tidak harus menunggu pemberian pakan pelet karena di dalam tambak itu sendiri telah terdapat makanan yang tersedia 24 jam dalam sehari (Avnimelech, 2007). *L. vannamei* terbukti dapat memanfaatkan dan mempertahankan nitrogen yang terdapat pada bioflok dan kemungkinan 29% pakan harian berasal dari flok tersebut (Burford *et al.*, 2004). Pada studi ini, diferensiasi ekspresi gen (pada DOC 70) tidak teramati pada spesimen yang tidak mengalami perubahan atau pergantian diet selama penelitian, yaitu daging udang yang berasal dari pemeliharaan tambak plankton dan semibioflok. Hasil ini sejalan dengan pernyataan Muller & Kersten (2003)

bahwa interaksi nutrisi dengan sistem sensorik di dalam sel menyebabkan perubahan gen, ekspresi protein, dan produksi metabolit sesuai dengan tingkat sinyal nutrisi yang tertangkap sehingga pakan yang berbeda akan menimbulkan pola gen, ekspresi protein, dan produksi metabolit yang berbeda.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sistem bioflok menghasilkan variabilitas pola pita protein karena sistem ini dapat mempertahankan kualitas air yang baik selama pemeliharaan dan menyediakan sumber protein alternatif berupa bioflok bagi *L. vannamei* selain pakan pelet. Dengan adanya tambahan nutrisi alami berupa bioflok dalam pakan, peningkatan diferensiasi ekspresi gen spesifik daging *L. vannamei* dapat diperoleh.

5. Daftar Pustaka

- Alberts, B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. & Walter P. (2002). *Molecular Biology of the Cell* (4th Ed.). Garland Science, New York, 1462pp.
- Anderson, S. & Lall S.P. (2005). Amino Acid Nutrition of Salmonids: Dietary Requirements and Bioavailability. In: Montero D. (ed.), Basurco B. (ed.), Nengas I. (ed.), Alexis M. (ed.), Izquierdo M. (ed.). *Mediterranean Fish Nutrition*. Zaragoza: CIHEAM, 73-90.
- Ausubel, F. M., Brent R., Kingston R.E., Moore D.D., Seidman J.G., Smith J.A. & Struhl K. (1995). *Short Protocols in Molecular Biology* 3rd Edition. John Wiley & Sons. USA.
- Avnimelech, Y. (2007). Feeding with Microbial Floes by Tilapia in Minimal Discharge Bioflocs Technology Ponds. *Aquaculture* 264: 140–147.
- Ball, D. & Johnston I.A. (1996). Molecular Mechanisms underlying the Plasticity of Muscle Contractile Properties with Temperature Acclimation in the Marine Fish *Myoxocephalus scorpius*. *The Journal of Experimental Biology* 199, 1363–1373.
- Blanchard, A., Ohanian V. & Critchley D. (1989). The Structure and Function of Alpha-Actinin. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 10, 280-289.
- Bollag, D. M. & Edelman S.J. (1991). *Protein Methods*. Wiley-Liss. New York.
- Bordner, C. E. & Conklin D. E. (1981). Food Consumption and Growth of Juvenile Lobsters. *Aquaculture* 24,185-300.
- Burford, M.A., Thompson P.J., McIntosh R.P., Bauman R.H. & Pearson D.C. (2004). The Contribution of Flocculated Material to Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Nutrition in a High-intensity, Zero-exchange System. *Aquaculture* 232:525–537.
- Chávez-Calvillo, G.C., Perez-Rueda E., Lizama G., Zúñiga Aguilar J.J., Gaxiola G., Cuzon G. & Arena-Ortiz L. (2010). Differential Gene Expression in *Litopenaeus vannamei* Shrimp in Response to Diet Changes, Volume 300, Issues 1-4,137-141.
- Cooper, R. L., Warren W. M. & Ashby H. E. (1998). Activity of Phasic Motor Neurons Partially Transforms the Neuronal and Muscle Phenotype to a Tonic-like State. *Muscle Nerve* 21:921–931.
- Kim, S.K., Pang Z., Seo H.C., Cho T.R., Samocha T. & Jang I.K. (2014). Effect of Bioflocs on Growth and Immune Activity of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* Postlarvae. *Aquacult. Res.*, 45: 362-371.
- Kim, Jeongmok, Marshall, Maurice R., Wei. & Cheng I. (2000). Polyphenoloxidase. In: *Seafood Enzymes: Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality*. Editor: Haard, Norman F., Simpson, Benjamin K., Marcel Dekker, Inc., 271-315.
- Koyama, H., Akolkar D.B., Shiokai T., Nakaya M., Piyapattanakorn S. & Watabe S. (2012). The Occurrence of Two Types of Fast Skeletal Myosin Heavy Chains from Abdominal Muscle of Kuruma Shrimp *Marsupenaeus japonicus* and their Different Tissue Distribution. *The Journal of Experimental Biology* 215, 14-21.
- Medler, S. & Mykles D.L. (2003). Analysis of Myofibrillar Proteins and Transcripts in Adult Skeletal Muscles of the American Lobster *Homarus americanus*: Variable Expression of Myosins, Actin & Troponins in Fast, Slow-twitch and Slow-tonic Fibres. *The Journal of Experimental Biology* 206, 3557-3567.
- Müller, M. & Kersten S. (2003). Nutrigenomics: Goals and Perspectives. *Nature Reviews Genetics* 4. 315 -322.

- Mykles, D. L. (1985). Heterogeneity of Myofibrillar Proteins in Lobster Fast and Slow Muscles: Variants of Troponin, Paramyosin, and Myosin Light Chains comprise four distinct Protein Assemblages. *Journal of Experimental Zoology*. Volume 234, Issue 1, 23–32.
- Neil, D.M., Fowler W.S. & Tobasnick G. (1993). Myofibrillar Protein Composition correlates with Histochemistry in Fibres of the Abdominal Flexor Muscles of the Norway Lobster *Nephrops Norvegicus*. *J. exp. Biol.* 183, 185–201.
- Paoloni-Giacobino, A., Grimble R. & Richard C. (2003). Genetics and Nutrition. *Clinical Nutrition* 5:429-435.
- Robyt J.F. & White B.J. (1987). *Biochemical Technique: Theory and Practices*. Long Grove, IL: Waveland Press, 40-72.
- Schiaffino, S. & Reggiani C. (1996). Molecular Diversity of Myofibrillar Proteins: Gene Regulation and Functional Significance. *Physiological Reviews*. Vol. 76, 371-423.
- Shalini R., Nazar A.R., Badhul Haq M.A. & Shanker S. (2013). Biochemical Changes of *Litopenaeus vannamei* and *Fenneropenaeus indicus* in the Different Stages of WSSV Infection. *Journal of Coastal Life Medicine*, 1(1): 19-25.
- Sriket, P., Benjakul S., Visessanguan W. & Kijroongrojana K. (2007). Comparative Studies on Chemical Composition and Thermal Properties of Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) and White Shrimp (*Penaeus vannamei*) Meats. *Fd. Chemist.*, 103: 1199-1207.
- Sritunyalucksana, K., Cerenius L. & So'derh'all K. (1999). Molecular Cloning and Characterization of Prophenoloxidase in the Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*. *Dev. Comp. Immunol.* 23, 179–186.
- Tacon, A.J. (2002). Thematic Review of Feeds and Feed Management Practices in Shrimp Aqua-culture. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF & FAO Consortium Program on Shrimp Farming and the Environment, Rome, 69pp.
- Yao J., Sasaki Y., Wen Z., Bassell G.J. & Zheng J.Q. (2006). An Essential Role for Beta-Actin mRNA Localization and Translation in Ca²⁺ Dependent Growth Cone Guidance. *Nat Neurosci* 9:1265–1273.