

## Kualitas sperma induk *Litopenaeus vannamei* yang disuntik PMSG dan antidopamin

### Sperm quality of *Litopenaeus vannamei* broodstock injected by PMSG and antidopamin

Fahmi Akbar, Agus Oman Sudrajat\*, Siti Subaidah

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor  
Kampus IPB Dramaga Bogor, Jawa Barat 16680

\*Surel: agusomans@yahoo.com

#### ABSTRACT

The important role in determining the productivity of shrimp was the quality and quantity of shrimp sperm. The decreasing of hatching rate was predicted as the effect of the decreasing quality of sperm. It then could influence the number and quality of naupli produced. Hormonal induction of maturation is one of alternative solution that can improve shrimp sperm quality. This study was conducted to examine the effect of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) and antidopamine (AD) injection on white shrimp *Litopenaeus vannamei* sperm quality. This research consisted of six treatments which were treatment without eyestalk ablation, eyestalk ablation, and premix PMSG hormone, and AD at the dose of 0.1 mL/kg, 0.25 mL/kg, 0.5 mL/kg, and 1 mL/kg. The observed parameters were sperm count and percentage of normal and abnormal sperm. The results showed that PMSG hormone and AD injection could improve sperm quality of *L. vannamei* shrimp. Hormone at the dose of 0.25 mL/kg and 0.5 mL/kg were the optimal doses to increase sperm count and the percentage of normal sperm, also to lower the percentage of abnormal sperm.

Keyword: PMSG, AD, sperm quality, *Litopenaeus vannamei*

#### ABSTRAK

Kuantitas dan kualitas sperma udang jantan sangat berperan penting dalam menentukan produktivitas udang. Terjadinya penurunan daya tetas telur udang diduga karena terjadinya penurunan kualitas sperma. Hal ini berpengaruh terhadap jumlah dan kualitas nauplius yang diproduksi. Induksi maturasi secara hormonal merupakan salah satu alternatif yang dapat meningkatkan kualitas sperma udang. Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh penyuntikan *pregnant mare serum gonadotropin* (PMSG) dan antidopamin (AD) terhadap kualitas sperma udang vaname *Litopenaeus vannamei*. Penelitian terdiri atas enam perlakuan, yaitu perlakuan tanpa ablasi mata, ablasi mata, dan injeksi dengan premix hormon PMSG dan AD dosis 0,1 mL/kg, 0,25 mL/kg, 0,5 mL/kg, dan 1 mL/kg. Parameter yang diamati jumlah sperma, persentase sperma normal dan abnormal. Hasil penelitian menunjukkan penyuntikan hormon PMSG dan AD dapat meningkatkan kualitas sperma udang *L. vannamei*. Hormon dosis 0,25 mL/kg dan 0,5 mL/kg merupakan dosis optimal dalam meningkatkan jumlah sperma dan persentase sperma normal, serta mengurangi persentase sperma abnormal.

Kata kunci: PMSG, AD, kualitas sperma, *Litopenaeus vannamei*

#### PENDAHULUAN

Ketersediaan induk pada budidaya udang vaname khususnya dalam kegiatan pembenihan umumnya menjadi persyaratan utama. Kurangnya ketersediaan induk yang berkualitas baik menjadi kendala dalam kegiatan pembenihan udang. Salah satu di antaranya yaitu terjadinya penurunan daya tetas telur yang dapat memengaruhi jumlah serta kualitas nauplius yang diproduksi. Diduga salah

satu penyebab atas kejadian tersebut karena kualitas dan kuantitas sperma jantan yang masih rendah dalam membuahi sel telur pada proses pembuahan. Menurut Alfaro-Montoya (2010) induk jantan mempunyai peran penting dalam produktivitas induk udang. Perez-Jar (2007) menyatakan kuantitas dan kualitas sperma udang jantan menjadi faktor pembatas pada reproduksi karena memiliki peran penting dalam kemampuannya membuahi sel telur udang betina.

Perkembangan gonad udang secara alami masih rendah dan cukup lama untuk matang gonad secara sempurna karena ditentukan oleh beberapa kerja hormon (Ceballos-Vazques *et al.*, 2010). Hormon perangsang gonad (*gonad stimulating hormone*; GSH) dan hormon kelenjar androgenik (*androgenic gland hormone*; AGH) yaitu hormon yang berperan penting pada aktivitas kelenjar seks dan androgen pada udang jantan. GSH bekerja mengaktifkan sintesis dan pelepasan AGH oleh AG, selanjutnya AGH memicu pematangan testis dan spermatogenesis. Kerja GSH dan AGH secara alami dihambat oleh aktivitas hormon penghambat gonad (*gonad inhibiting hormone*; GIH) dan hormon penghambat organ mandibula (*mandibular organ inhibiting hormone*; MOIH) yang merupakan hormon yang berperan negatif dalam aktivitas reproduksi udang. Kedua hormon tersebut dihasilkan oleh organ-X yang terletak pada tangkai mata. Selain GIH dan MOIH, dopamin (DA) yang terletak pada sistem syaraf pusat menghambat pematangan testis dengan memblokir pelepasan GSH dan atau merangsang pelepasan GIH (Alfaro-Montoya, 2010).

Teknik ablasi mata merupakan teknologi reproduksi dalam pembenihan udang yang masih umum digunakan untuk mempercepat kematangan gonad. Ablasi mata dilakukan dengan memotong salah satu tangkai mata dengan tujuan menurunkan sekresi hormon penghambat GIH dan MOIH oleh kelenjar sinus yang berada di tangkai mata (Babu *et al.*, 2014). Ablasi mata cukup efektif dalam merangsang perkembangan gonad jantan (Revathi *et al.*, 2013). Namun, penggunaan ablasi mata mulai ditentang penggunaannya karena isu kesejahteraan hewan (*animal welfare*) dan pada beberapa negara importir udang dunia menjadikan hal tersebut sebagai persyaratan dalam perdagangan komoditas perikanan. Selain itu banyak dilaporkan ablasi mata dapat mengganggu sistem endokrin pada udang, yaitu terjadinya penurunan kualitas dan kuantitas bibit dan mempercepat penurunan kualitas reproduksi induk.

Induksi hormon merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan sebagai upaya untuk menjamin ketersediaan hormon steroid endogenous yang berperan penting dalam aktivitas reproduksi. Studi tentang induksi hormon pada betina telah banyak dilakukan dan terbukti cukup efektif, namun pada jantan belum banyak dilaporkan. Alfaro (1996) melaporkan bahwa induksi hormon  $17\alpha$ -metiltetosteron dan hormon  $17\alpha$ -hidroksiprogesteron pada ikan

jantan dapat meningkatkan kualitas sperma yaitu berupa jumlah sperma yang tinggi dengan persentase abnormalitas sperma yang rendah.

Hormon PMSG dan AD merupakan premix bahan aktif organik yang berperan positif dalam sistem reproduksi. Penggunaan hormon PMSG dan AD pada ikan telah banyak dilaporkan dalam meningkatkan dan mempercepat kematangan gonad ikan patin siam *Pangasianodon hypophthalmus* (Nugraha, 2014) dan lele dumbo *Clarias* sp. (Mayasari *et al.*, 2012). Selain pada ikan, penggunaan PMSG dan AD pada udang vaname telah digunakan namun belum banyak studi yang dilaporkan. PMSG merupakan hormon gonadotropin yang mengandung hormon perangsang folikel (*follicle stimulating hormone*; FSH) dan hormon lutein (*luteinizing hormone*; LH). Antidopamin merupakan senyawa kimia berperan sebagai neurotransmitter yang bekerja memblokir aktivitas reseptor dopamin (Dufour *et al.*, 2010). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh penyuntikan premix hormon PMSG dan AD dalam mempercepat dan meningkatkan kualitas sperma udang *Litopenaeus vannamei* pada proses maturasi.

## BAHAN DAN METODE

### Persiapan wadah dan ikan

Bak pemeliharaan yang digunakan yaitu bak beton berbentuk bulat dengan diameter 3 m dan tinggi 2 m kapasitas 5 m<sup>3</sup> sebanyak enam bak. Masing-masing bak diisi dengan air laut sebanyak 2,5 m<sup>3</sup> yang sebelumnya telah melalui proses filtrasi dengan temperatur berkisar 28–29 °C, salinitas 32 ppt, dan pH 7,6–7,9. Menurut Arcos *et al.* (2003) kisaran kualitas air tersebut merupakan kondisi paling optimal pada perkembangan gonad udang *L. vannamei*. Hewan uji yang digunakan yaitu induk udang jantan vaname nusantara berasal dari BPBAP Situbondo. Induk diseleksi dengan kriteria jantan belum matang gonad dengan bobot 35–45 g per ekor sebanyak 60 ekor udang, tubuh tidak cacat dan sehat organ tubuh lengkap dan bebas dari penyakit. Induk jantan ditebar dengan kepadatan sepuluh ekor setiap bak.

### Prosedur penelitian

Desain penelitian dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap dengan enam perlakuan yaitu tanpa ablasi mata (kontrol), ablasi mata dan premix hormon PMSG dan AD dosis 0,1 mL/kg, 0,25 mL/kg, 0,5 mL/kg, 1 mL/kg bobot tubuh

udang. Induksi hormon diberikan dengan menyuntikan hormon perlakuan pada pangkal kaki jalan kelima dengan menggunakan semprit *tuberculine* ukuran 1 mL. Proses ablasi dilakukan dengan memotong salah satu tangkai mata dengan gunting yang telah dipanaskan. Proses penyuntikan hormon dan ablasi mata dilakukan pada sore hari sekitar pukul 16.00 WIB

Selama pemeliharaan induk diberi pakan cacing dan tiram sebanyak 20% dari bobot tubuh dengan perbandingan 50% cacing dan 50% tiram. Pakan diberikan empat kali dalam sehari, yaitu pukul 06.00, 11.00, 16.00 dan pukul 21.00 WIB.

### Pengamatan sperma

Parameter yang diamati yaitu jumlah sperma, persentase sperma normal dan abnormal. Pengamatan sel sperma dilakukan dengan mengambil sampel gonad bagian vas deferens dan terminal ampula menggunakan pinset dan dimasukkan dalam plastik bening yang berisi larutan salin bebas  $\text{Ca}^{2+}$ . Larutan tersebut digunakan agar sel sperma tetap dalam keadaan hidup selama pengamatan. Sel sperma dikeluarkan dari gonad untuk mendapatkan larutan salin bebas  $\text{Ca}^{2+}$  dengan cara ditekan-tekan dari bagian luar plastik menggunakan jari tangan. Perhitungan jumlah sperma menggunakan hemasitometer *Neubauer* dan diamati di bawah mikroskop perbesaran 40 dan 100 kali. Persentase sperma normal dan abnormal diperoleh melalui perhitungan jumlah sperma normal atau abnormal dibandingkan dengan jumlah sperma total. Sel sperma normal bercirikan tubuh spheris dan ekor panjang, sedangkan sel sperma abnormal bercirikan tubuh cacat seperti bengkok, pendek dan ekor hilang.

### Analisis data

Data pengamatan sperma yang meliputi jumlah sperma, persentase sperma normal dan abnormal diolah dengan *Microsoft Excel* 2010 dan dibahas secara deskriptif berdasarkan pola dan grafik. Data disajikan dalam bentuk grafik dan gambar.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

#### *Jumlah sperma*

Pada akhir masa pemeliharaan, perlakuan hormon menghasilkan jumlah sperma lebih banyak dibandingkan kontrol dan ablasi mata (Gambar 1). Jumlah sperma tertinggi ditunjukkan perlakuan hormon dosis 0,25 mL/

kg yaitu  $12,60 \times 10^6$  sperma, sedangkan terendah adalah perlakuan kontrol ( $9,15 \times 10^6$  sperma).

#### *Persentase sel sperma normal dan abnormal*

Perlakuan hormon memiliki persentase sperma normal tertinggi dan sperma abnormal terendah dibandingkan perlakuan kontrol dan ablasi mata. Gambar 2 menunjukkan persentase sperma normal tertinggi diperoleh perlakuan hormon dosis 0,5 mL/kg yaitu 8,9 % ( $11,10 \times 10^6$  sperma) sedangkan terendah adalah pada kontrol 8,0% ( $7,35 \times 10^6$  sperma). Gambar 3 menunjukkan persentase sperma abnormal tertinggi pada ablasi mata yaitu 18,5 % ( $1,8 \times 10^6$  sel) sedangkan terendah terendah adalah pada dosis 0,5 mL/kg 8,6 % ( $0,90 \times 10^6$  sperma).

### Pembahasan

Jumlah sperma dengan persentase sperma normal tinggi dan abnormalitas sperma rendah merupakan salah satu tolak ukur menentukan kualitas sperma udang (Alfaro-Montoya, 2010), karena dapat meningkatkan kualitas pembuahan yaitu memperbesar peluang sperma jantan dalam membuahi sel telur sehingga akan berpengaruh terhadap kualitas dan jumlah nauplius yang dihasilkan (Perez-Jar, 2007).

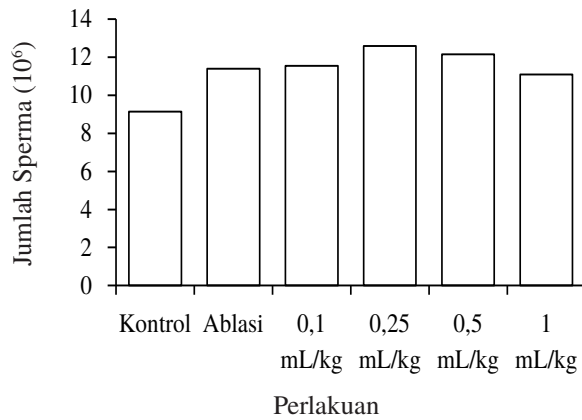
Induksi premix hormon steroid PMSG dan AD menunjukkan hasil positif yaitu menghasilkan rata-rata jumlah sperma tertinggi dengan persentase sperma normal tinggi dan abnormalitas rendah dibandingkan kontrol dan ablasi mata. Alfaro (1996) melaporkan induksi hormon steroid ( $17\alpha$ -metiltestosteron dan  $17\alpha$ -hidroksiprogesteron) pada udang vaname jantan dapat meningkatkan jumlah sperma sebesar  $32 \times 10^6$  sel sperma dengan 23,5% sperma abnormal, sedangkan kontrol hanya menghasilkan  $11 \times 10^6$  sperma dengan 48% sperma abnormal.

Hasil tersebut menunjukkan premix hormon PMSG dan AD melalui penyuntikan bekerja efektif dan sinergis dalam memperbaiki kinerja reproduksi udang jantan dengan meningkatkan kualitas sperma. Diduga hormon PMSG yang mengandung FSH dan LH tersirkulasi dalam hemolimfa kemudian bekerja secara parakrin dalam organ target untuk merangsang sintesis sel sperma lebih banyak. Alfaro-Montoya (2010) menyatakan testis merupakan organ tempat sel sperma disintesis pada udang. Pada udang sintesis sel sperma di testis dipengaruhi oleh kerja GSH dan hormon androgen. Sekresi GSH dikendalikan oleh neuroregulator 5-hidroksitriptamin (5-HT), serotonin, metionin enkephalin (Met-Ent),

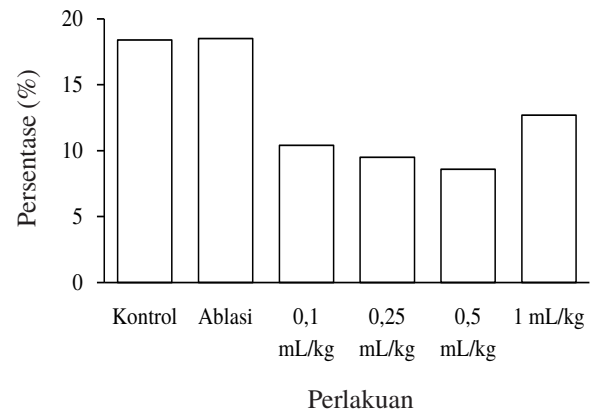
dan dopamin (DA) yang menstimulasi sistem syaraf pusat untuk merangsang pelepasan GSH pada otak dan ganglion thoracic. GSH kemudian mengaktifkan sintesis dan sekresi AGH oleh kelenjar androgen. Selanjutnya AGH memicu pematangan testis dan spermatogenesis (Okumura, 2004).

Pada ikan, hormon FSH dan LH berperan penting mengontrol pematangan testis dan spermatogenesis. Sekresi dan sintesis FSH dan LH dikontrol oleh hormon pelepas gonadotropin (*gonadotropin releasing hormone*; GnRH) (Chen & Fernald, 2008). LH bekerja merangsang produksi testosteron di sel-sel Leydig melalui aktivasi reseptor LH, sedangkan FSH merangsang reseptor FSH pada sel-sel sertoli yang terletak di

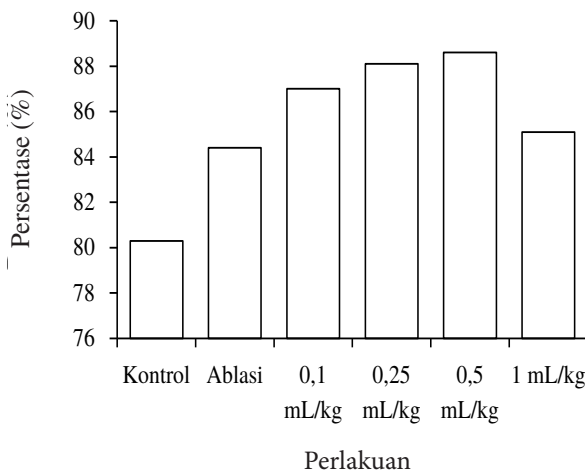
tubulus seminiferous untuk memacu pematangan sel sperma dan mendukung perkembangan dan kelangsungan hidup germinal sel (Schulz *et al.*, 2010). Huang *et al.* (2013) melaporkan GnRH endogenus seperti pada vertebrata terdeteksi pada otak rajungan *Tachypleus tridentatus*. Selain itu Ngersoungnern *et al.* (2008) melaporkan GnRH endogenus seperti pada vertebrata terdeteksi pada sistem saraf pusat (*central nervous system*; CNS) di otak dan ganglion thoracic udang galah *Macrobrachium rosenbergii*, GnRH diduga terlibat dalam aktivitas reproduksi pada udang. Lebih lanjut dikatakan GnRH diduga terlibat langsung dalam perkembangan oosit pada udang galah *M. rosenbergii*. Hal tersebut diperkuat hasil penelitian Ngersoungnern *et al.* (2009) yaitu



Gambar 1. Jumlah sel sperma udang vaname *Litopenaeus vannamei* dengan mata yang tidak diablasi (kontrol), diablasi, yang disuntik dengan premix hormon PMSG dan AD dengan dosis 0,1 mL/kg, 0,25 mL/kg, 0,5 mL/kg, serta 1 mL/kg.



Gambar 3. Persentase sperma abnormal udang vaname *Litopenaeus vannamei* dengan mata yang tidak diablasi (kontrol), diablasi, yang disuntik dengan premix hormon PMSG dan AD dengan dosis 0,1 mL/kg, 0,25 mL/kg, 0,5 mL/kg, serta 1 mL/kg.



Gambar 2. Persentase sperma normal udang vaname *Litopenaeus vannamei* dengan mata yang tidak diablasi (kontrol), diablasi, yang disuntik dengan premix hormon PMSG dan AD dengan dosis 0,1 mL/kg, 0,25 mL/kg, 0,5 mL/kg, serta 1 mL/kg.

induksi GnRH eksogenus pada induk betina *M. rosenbergii* secara signifikan mempersingkat pematangan ovarium dibandingkan kontrol, dan hasil yang sama dilaporkan Tinikul *et al.* (2014) yaitu induksi GnRH pada udang *L. vannamei* memiliki efek yang signifikan dalam merangsang pematangan ovarium.

Keberadaan FSH dan LH endogenus dilaporkan oleh Ye *et al.* (2006) terdeteksi pada otak kepiting bakau *Scylla serrata* dan Huang *et al.* (2008) pada otak dan ganglion thoracic rajungan *Portunus trituberculatus*. Huang *et al.* (2008) menyatakan, dari laporan tersebut dapat dipastikan bahwa krustasea dapat menyintesis gonadotropin FSH dan LH endogenus seperti pada vertebrata. Hal tersebut diperkuat oleh penelitian Ye *et al.* (2008) melaporkan bahwa pada krustasea terdapat reseptor estrogen dan androgen yang terletak di otak dan thoracic

ganglion keping *S. paramamosain*. Laporan tersebut meyakinkan akan keberadaan GnRH, FSH, dan LH endogen yang terlibat langsung dalam sistem reproduksi udang, sehingga diduga mekanisme sistem kontrol reproduksi pada udang memiliki kesamaan konsep seperti pada ikan. Sehingga induksi maturasi dengan premix hormon PMSG yang mengandung FSH dan LH pada udang diduga bekerja efektif seperti proses pematangan gonad pada ikan patin siam *P. hypophthalmus* (Nugraha, 2014) dan lele dumbo *Clarias sp.* (Mayasari *et al.*, 2012).

Selain peran PMSG, AD diduga memberikan hasil positif dalam memperbaiki kinerja reproduksi udang. Hal ini dibuktikan dari peningkatan jumlah sel sperma pada perlakuan premix hormon PMSG dan AD. Penggunaan dopamin antagonis dapat merangsang percepatan pematangan testis dan spermatogenesis pada udang *Procambarus clarkii*. Dalam tubuh udang AD bekerja untuk memblokir aktivitas dopamin pada sistem saraf pusat udang. Dopamin merupakan neurotransmitter yang berperan negatif karena menghambat aktivitas reproduksi udang dengan merangsang pelepasan GIH dan menghambat GSH (Alfaro-Montoya, 2010).

Premix hormon dosis 0,25 mL/kg menunjukkan kinerja terbaik pada jumlah sperma yaitu menghasilkan  $12,60 \times 10^6$  sperma, sedangkan dosis 0,5 mL/kg menunjukkan performa terbaik pada persentase sperma normal tinggi yaitu 89% dan abnormalitas sperma rendah yaitu 8,6%. Kinerja terbaik yang ditunjukkan pada dosis 0,25 mL/kg dan 0,5 mL/kg diduga pada dosis tersebut organ target bekerja efektif untuk merangsang percepatan sintesis dan sekresi hormon androgen testosteron dan hormon gonadotropin FSH dan LH endogenus yang berperan dalam produksi sel sperma. Nugraha (2014) melaporkan, penggunaan premix hormon PMSG dan AD pada ikan dosis lebih dari 0,5 mL/kg dan kurang dari 0,25 mL/kg dapat menghambat kerja hipotalamus melepaskan GnRH untuk merangsang sekresi gonadotropin.

## KESIMPULAN

Penyuntikan premix hormon PMSG dan AD mempercepat dan meningkatkan kualitas sperma udang vaname *L. vannamei*. Kisaran dosis 0,25 mL/kg dan 0,5 mL/kg merupakan dosis optimal dalam meningkatkan jumlah sperma dengan persentase sperma normal tinggi dan abnormalitas rendah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alfaro J. 1996. Effect of 17 $\alpha$ -methyltestosterone and 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone on the quality of white shrimp *Penaeus vannamei* spermatophores. *Journal of the World Aquaculture Society* 27: 487–492.
- Alfaro-Montoya J. 2010. The reproductive conditions of male shrimps, genus *Penaeus*, sub-genus *Litopenaeus* (open thelyca penaeoid shrimps): a review. *Aquaculture* 300: 1–9.
- Arcos FG, Ibara AM, Palacios E, Vasquez-boucard C, Racotta IS. 2003. Feasible predictive criteria for reproduction performance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*: egg quality and female physiological condition. *Aquaculture* 228: 335–349.
- Babu KN, Reddy DC, Kalarani V. 2014. Effect of eyestalk ablation on ovarian maturation in the tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius) under different environmental conditions. *Journal of Scientific Research* 19: 1.403–1.405.
- Ceballos-Vásquez BP, Palacios E, Aguilar-Villavicencio J, Racotta I. 2010. Gonadal development in male and female domesticated whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* in relation to age and weight. *Aquaculture* 308:116–123.
- Chen C, Fernald D. 2008. GnRH and GnRH receptors: distribution, function and evolution: a review. *Journal of Fish Biology* 73:1.099–1.120.
- Dufour S, Sebert ME, Weltzien FA, Rousseau K, Pasqualini C. 2010. Neuroendocrine control by dopamine of teleost reproduction. *Journal of Fish Biology* 76: 129–160.
- Huang HY, Li L, Ye H, Feng B, Li S. 2013. Identification and distribution of gonadotropin-releasing hormone-like peptides in the brain of horseshoe crab *Tachypleus tridentatus*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* 31: 384–390.
- Huang HY, Ye HH, Li SJ. 2008. Immunocytological evidence for the presence of vertebrate FSH and LH-like substances in the brain and thoracic ganglion of the swimming crab *Portunus trituberculatus*. *Progress in Natural Science* 18: 1.453–1.457.
- Mayasari N, Sudrajat AO, Chrismadha T. 2012. Induksi pertumbuhan dan perkembangan gonad serta kemampuan reproduksi ikan lele dumbo *Clarias sp.* betina dengan *Spirulina* dan hormon PMSG. *Jurnal Limnotek* 19:

- 193–205.
- Ngernsoungnern P, Ngernsoungnern A, Kavanaugh S, Sobhon P, Sower SA, Sretarugsa P. 2008. The identification and distribution of gonadotropin-releasing hormone-like peptides in the central nervous system and ovary of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Invertebrate Neuroscience* 8: 49–57.
- Ngernsoungnern P, Ngernsoungnern A, Sobhon P, Sretarugsa P. 2009. Gonadotropin releasing hormone (GnRH) and a GnRH analog induce ovarian maturation in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Invertebrate Reproduction and Development* 53:125–135.
- Okumura T. 2004. Perspectives on hormonal manipulation of shrimp reproduction review. *Japan Agricultural Research Quarterly* 38:49–54.
- Palacios E, Racotta I. 2007. Reproductive performance and sperm quality in wild and pond-reared southern white shrimp *Litopenaeus schmitti* adult males during continuous reproductive activity. *Revista De Investigaciones Marinas* 28: 237–246.
- Perez-Jar L. 2007. Reproductive performance and sperm quality in wild and pond-reared southern white shrimp *Litopenaeus schmitti* adult males during continuous reproductive activity. *Revista de Investigaciones Marinas* 28: 237–246.
- Revathi P, Iyapparaj P, Vasanthi LA, Jeyanthi S, Sankaralingam S, Ramasubburayan R, Prakash S, Krishnan M. 2013. Impact of eyestalk ablation on the androgenic gland activity in the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Journal of Fish and Marine Science* 5: 373–381.
- Schulz RW, Franca LR, Lareyre JJ, Legac F, Chiarini-Garcia H, Nobrega RH, Miura T. 2010. Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology* 165: 390–411.
- Tinikul Y, Poljaroen J, Tinikul R, Anuracpreeda P, Chotwiwatthanakun C, Senin N, Poomtong T, Peter J. Hanna, Sobhon P. 2014. Effects of gonadotropin-releasing hormones and dopamine on ovarian maturation in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* and their presence in the ovary during ovarian development. *Aquaculture* 420: 79–88.
- Ye HH, Huang HY, Li SJ, Wang GZ. 2006. Immunorecognition of vertebrate FSH and LH brain of *Scylla serrata*. *Progress in Natural Science* 16 : 768–770.
- Ye H, Huang H, Li S, Wang G. 2008. Immunorecognition of estrogen and androgen receptors in the brain and thoracic ganglion mass of mud crab, *Scylla paramamosain*. *Progress in Natural Science* 18: 691–695.