



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR - LABOMAR
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

EDRAS RODIMIRO RODRIGUEZ MEJIA

**EFEITO DOS NÍVEIS DIETÉTICOS DE METIONINA E LIPÍDIOS NO
DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DO *Litopenaeus vannamei*
CULTIVADOS EM SALINIDADE ISOSMÓTICA E HIPEROSMÓTICA**

FORTALEZA

2022

EDRAS RODIMIRO RODRIGUEZ MEJIA

EFEITO DOS NÍVEIS DIETÉTICOS DE METIONINA E LIPÍDIOS NO DESEMPENHO
ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DO *Litopenaeus vannamei* CULTIVADOS EM
SALINIDADE ISOSMÓTICA E HIPEROSMÓTICA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Marinhas Tropicais, do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais.

Área de concentração: Utilização e manejo de ecossistemas marinhos e estuarinos.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M458e Mejia, Edras Rodimiro Rodriguez.
Efeito dos níveis dietéticos de metionina e lipídeos no desempenho zootécnico de juvenis do
Litopenaeus vannamei cultivados em salinidade isosmótica e hiperosmótica / Edras Rodimiro Rodriguez
Mejia. – 2022.
64 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, 1, Fortaleza, 2022.
Orientação: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes.

1. salinidade. 2. metionina. 3. lipídeos. 4. camarão. I. Título.

CDD

EDRAS RODIMIRO RODRIGUEZ MEJIA

EFEITO DOS NÍVEIS DIETÉTICOS DE METIONINA E LIPÍDIOS NO DESEMPENHO
ZOOTÉCNICO DE JUVENIS DO *Litopenaeus vannamei* CULTIVADOS EM
SALINIDADE ISOSMÓTICA E HIPEROSMÓTICA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Marinhas Tropicais, do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais.

Área de concentração: Utilização e manejo de ecossistemas marinhos e estuarinos.

Aprovada em: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes (Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Esaú Aguiar Carvalho

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Jordana Sampaio Leite

Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Patricia e Edras.

AGRADECIMENTOS

A meu orientador, Professor Alberto Nunes, pela excelente orientação, conselhos, motivação e por ajudar a expandir a minha visão para a aquicultura.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA): Sandra, Junior, Antônio Carlos e Hassan pela amizade e por contribuírem diretamente para o sucesso deste projeto.

A Dra. Jordana Sampaio Leite pelo apoio, recomendações, motivação e conselhos para o sucesso da minha conclusão do mestrado.

Ao Professor Esaú Carvalho por ter aceitado participar da banca e auxiliar na correção desta Dissertação.

A Evonik Industries AG pelo apoio e realização das análises químicas dos ingredientes e das dietas utilizadas neste experimento.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de pesquisa concedida.

À Organização dos Estados Americanos (OEA) pela bolsa concedida para realizar meus estudos de pós-graduação no Brasil.

“Pessoas podem morrer, mas nunca suas ideias”
(Che Guevara).

RESUMO

O presente estudo avaliou o efeito dos níveis dietéticos de metionina (Met) e lipídios sobre o desempenho zootécnico de juvenis do *Litopenaeus vannamei* cultivados em salinidade isosmótica e hiperosmótica. Seis dietas práticas foram preparadas contendo três níveis de Met (7, 8 e 9 g kg⁻¹, base natural) cada uma com dois níveis de lipídios (60 e 75 g kg⁻¹, base natural). Cada conjunto de dieta foi avaliado sob salinidade isosmótica (21-25 g L⁻¹) e hiperosmótica (43-48 g L⁻¹). Um total de seis a sete tanques foram atribuídos para cada dieta e salinidade, totalizando 80 tanques de cultivo de 0,5 m³, mantidos em área coberta sob recirculação e aeração contínua da água. Camarões com um peso médio de 2,98 ± 0,28 g (n = 4.560) foram estocados sob a densidade de 100 animais m⁻² (57 camarões tanque⁻¹) e alimentados por 56 dias. Ao final do cultivo, a salinidade da água alcançou uma média de 23,0 ± 1 g L⁻¹ para o ambiente isosmótico (n = 1.440) e 45,0 ± 0,9 g L⁻¹ para a condição hiperosmótica (n = 1.440). A sobrevivência final dos camarões variou de um mínimo de 67,5 ± 3,65% a um máximo de 100%. A sobrevivência final foi afetada pela salinidade, porém não foi detectada influência das dietas. A condição hiperosmótica favoreceu uma maior sobrevivência comparada com a menor salinidade. Não foi detectada influência do nível de Met e (ou) do conteúdo lipídico das dietas sobre o ganho de produtividade, porém na salinidade de 23 g L⁻¹ houve um menor ganho de produtividade (entre 581 ± 99 e 666 ± 65 g m⁻²) comparada a condição de 45 g L⁻¹ (entre 804 ± 75 e 818 ± 34 g m⁻²). O peso corporal (PC) final dos camarões sofreu influência da salinidade da água, do nível de Met e do conteúdo lipídico das dietas. Houve também uma interação significativa entre esses parâmetros. Na condição hiperosmótica, os camarões alcançaram um menor PC comparado àqueles cultivados na salinidade isosmótica. Na salinidade de 23 g L⁻¹, independentemente do nível de Met das dietas, um maior PC foi observado quando os camarões foram alimentados com dietas contendo 60 g kg⁻¹ de lipídios comparado com 75 g kg⁻¹. Esta condição não foi observada na salinidade de 45 g L⁻¹. O conteúdo lipídico de 60 g kg⁻¹ na salinidade isosmótica, resultou em um aumento progressivo no PC dos camarões, sendo maximizado com 9 g kg⁻¹ de Met. Na condição hiperosmótica, o PC foi maximizado com 8 g kg⁻¹ de Met com o mesmo conteúdo lipídico. Conclui-se que em condição hiperosmótica, o *L. vannamei* consegue maximizar seu desempenho zootécnico com dietas contendo um menor conteúdo de Met comparado a salinidade isosmótica. Dentro das faixas investigadas de salinidade, um aumento no conteúdo lipídico dietético, de 60 para 75 g kg⁻¹ foi deletério ou não promoveu um aumento no desempenho dos camarões, independentemente do nível de Met.

Palavras-chave: salinidade, metionina, lipídios, camarão.

ABSTRACT

The present study evaluated the effect of dietary levels of methionine (Met) and lipids on the growth performance of juvenile *Litopenaeus vannamei* reared under isosmotic and hyperosmotic salinities. Six practical diets were prepared containing three levels of total Met (7, 8 and 9 g kg⁻¹, as-fed basis) each with two lipid levels (60 and 75 g kg⁻¹, as-fed). Each diet set was evaluated under isosmotic (21-25 g L⁻¹) and hyperosmotic (43-48 g L⁻¹) salinities. A total of six to seven tanks were assigned to each diet and salinity, totaling 80 tanks of 0.5 m³, kept under a roofed area with continuous water recirculation and aeration. Shrimp with an average weight of 2.98 ± 0.28 g (n = 4,560) were stocked at 100 animals m⁻² (57 shrimp tank⁻¹) and fed for 56 days. At harvest, water salinity reached an average of 23.0 ± 1 g L⁻¹ for the isosmotic (n = 1,440) and 45.0 ± 0.9 g L⁻¹ for the hyperosmotic conditions (n = 1,440). Final shrimp survival ranged from a minimum of 67.5 ± 3.65% to a maximum of 100%. Final survival was affected by salinity concentration, but no influence from the diets was detected. The hyperosmotic condition favored a higher survival compared to lower salinity. No influence of dietary Met level and (or) the lipid content on gained shrimp yield was detected. However, a lower yield was recorded under 23 g L⁻¹ (between 581 ± 99 and 666 ± 65 g m⁻²) compared to the 45 g L⁻¹ (between 804 ± 75 and 818 ± 34 g m⁻²). Final shrimp body weight (BW) was influenced by water salinity, dietary Met and lipid levels. There was also a significant interaction between these parameters. Under the hyperosmotic condition, shrimp achieved a lower BW compared to those farmed under an isosmotic salinity. Under a salinity of 23 g L⁻¹, a higher BW was observed when shrimp were fed diets containing 60 g kg⁻¹ lipids compared to 75 g kg⁻¹, regardless of the dietary Met levels. Under these conditions, when shrimp were fed 60 g kg⁻¹ lipids, shrimp BW was maximized with 9 g kg⁻¹ Met. Under the hyperosmotic condition, BW was maximized with 8 g kg⁻¹ of Met with the same lipid content. In conclusion, *L. vannamei* can maximize its growth performance under a hyperosmotic salinity with diets containing a lower dietary Met content compared to isosmotic salinity. Within the investigated salinity ranges, an increase in dietary lipid content, from 60 to 75 g kg⁻¹, was either deleterious or did not promote an increase in shrimp growth performance, regardless of the dietary Met level.

Keywords: salinity, methionine, lipids, shrimp.

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Aminoácidos
AAE	Aminoácidos Essenciais
AAANE	Aminoácidos Não Essenciais
AOAC	Official Method of Analysis of the Association of Analytical Chemists
BIOf	Biomassa final
BIOi	Biomassa inicial
CAR	Consumo Aparente de Ração
CDA	Coefficientes Digestíveis Aparentes
CEAC	Centro de Estudos Ambientais Costeiros
Cis	Cistina
cv	cavalo-vapor
CV	Coefficiente de Variação
DHA	Ácido Docosaheptaenoico
EB	Energia Bruta
ED	Energia Digestível
EE	Extrato Etéreo
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
ENN	extrato não nitrogenado
FB	Fibra Bruta
FCA	Fator de Conversão Alimentar
Fen	Fenilalanina
Gli	Glicina
GPS	Ganho de Peso Semanal
His	Histidina
HUFA	Ácidos Graxos Altamente Insaturados
Isso	Isoleucina
LABOMAR	Instituto de Ciências do Mar
LANOA	Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos
Leu	Leucina
Lis	Lisina
Met	Metionina

MP Matéria Prima

MS Matéria Seca

n-3 LC-PUFA Ácidos Graxos Polinsaturados de Cadeia Longa

NRC National Academy Press

PB Proteína Bruta

PC Peso Corporal

PD Proteína Digestível

PDT Ganho de Produtividade

PCf Peso corporal úmido do camarão na despesca

PCi Peso corporal úmido do camarão na estocagem

PLs Pós Larvas

POPf População final

POPi População inicial

RPM Rotação por Minuto

S sobrevivência

SPF (*Specific Pathogen Free*)

t número de dias em cultivo

Tre Treonina

UFC Universidade Federal do Ceará

LISTA DE SÍMBOLOS

°C Graus Celsius

g gramas

H₂O água

Kg quilograma

L litros

m² metros quadrados

m³ metros cúbicos

mg miligrama

MJ megajoule

mOsm miliosmol

pH potencial hidrogeniônico

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 –Variação diária na salinidade (g L^{-1}), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e pH da água de cultivo dos tanques mantidos em condição isosmótica e hiperosmótica de salinidade. Cada ponto representa a média de 40 leituras diárias..... 44
- Gráfico 2 –Variação nas concentrações de amônia nitrogenada total (ANT, mg L^{-1}), nitrito (mg L^{-1}) e nitrato (mg L^{-1}) de tanques mantidos em condição isosmótica e hiperosmótica de salinidade no início e final do cultivo. Cada ponto representa a média de três diferentes tanques. Letras minúsculas e maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre dias de cultivo na mesma salinidade ou entre salinidades distintas dentro do mesmo dia de cultivo, respectivamente, segundo o teste de Tukey HSD.. 45
- Gráfico 3 – Média (\pm erro padrão) do peso corporal final (g) dos camarões alimentados com dietas com variação nos níveis de metionina e conteúdo lipídico (Met/Lip), cultivados em salinidades isosmótica e hiperosmótica. Em cada salinidade de água, letras minúsculas e maiúsculas iguais indicam diferença estatística não significativa entre dietas com 75 e 60 g kg^{-1} de conteúdo lipídico, respectivamente, ao nível de significância de 0,05 de acordo com o teste de Tukey HSD. Asteriscos indicam diferença estatística significativa entre dietas com o mesmo nível de metionina segundo o teste t de *Student*. 48
- Gráfico 4 - Conteúdo de glicose na hemolinfa de juvenis do *L. vannamei* cultivados sob condição isosmótica e hiperosmótica com dietas contendo diferentes níveis de metionina e lipídios. Em cada salinidade de água e conteúdo lipídico, letras minúsculas (dia 51°) e maiúsculas (dia 60°) iguais indicam diferença estatística não significativa entre dietas com diferentes níveis de metionina ao nível de significância de 0,05 de acordo com o teste de Tukey HSD. Os asteriscos indicam diferença estatística significativa entre dietas com o mesmo nível de metionina dentro da mesma salinidade segundo o teste t de *Student*..... 50

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Composição de ingredientes das rações produzidas em laboratório para avaliação do desempenho zootécnico do camarão *L. vannamei*.25
- Tabela 2 - Composição de aminoácidos das dietas experimentais (g kg⁻¹, na base natural).....28
- Tabela 3 - Desempenho zootécnico de camarões (peso inicial = 2,94 ± 0,28 g) cultivados sob condição isosmótica e hiperosmótica de salinidade, alimentados com dietas com variação no conteúdo total de Met. (7, 8 e 9 g kg⁻¹ da dieta) e lipídios (60 e 75 g kg⁻¹)..47

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	Influência da salinidade na fisiologia do camarão	18
2.2	Osmoregulação em crustáceos	18
2.3	Exigência lipídica e energética em camarões e a relação com a salinidade	19
2.4	Aminoácidos na dieta para camarões e a relação com a salinidade	20
2.5	Estado da glicose em camarões	22
3	HIPÓTESES	23
4	OBJETIVOS	23
4.1	Objetivo geral	23
4.2	Objetivos Específicos	23
5	MATERIAL E MÉTODOS	24
5.1	Local do estudo e desenho experimental	24
5.2	Dietas experimentais	24
5.3	Fabricação das dietas	39
5.4	Sistema de cultivo e preparação da água	40
5.5	Estocagem e manejo dos camarões	40
5.6	Desempenho zootécnico	41
5.7	Glicemia na hemolinfa e análise de umidade	41
5.8	Análise estatística	42
5.9	Parâmetros de qualidade da água	42
6	RESULTADOS	43
6.1	Qualidade da água	43
6.2	Desempenho zootécnico	46
6.3	Conteúdo de glicose	48
7	DISCUSSÃO	50

7.1	Efeito do conteúdo lipídico nas diferentes salinidades.....	50
7.2	Efeito dos níveis de metionina nas diferentes salinidades	53
7.3	Efeito da salinidade sobre o desempenho zootécnico.....	54
7.4	Resposta ao metabolismo da glicose em diferentes níveis de Met e lipídios na dieta de camarões	55
8	CONCLUSÕES	57
	REFERÊNCIAS	58

1 INTRODUÇÃO

O camarão *Litopenaeus vannamei* é o crustáceo mais cultivado no mundo (52,9%), com aproximadamente 4,97 milhões de toneladas produzidas em 2018 (FAO, 2020). No Brasil, a carcinicultura marinha é uma atividade econômica amplamente distribuída, sendo o *L. vannamei* a espécie mais utilizada comercialmente. Porém, ainda existem aspectos sobre sua biologia e nutrição que precisam ser melhor compreendidos para adequação das condições locais de cultivo. Isto favorecerá em uma diminuição das perdas e em um aumento na produção e rentabilidade dos cultivos.

No Brasil, a região nordeste é o principal produtor de camarão cultivado, as fazendas sofrem com condições de hipersalinidade durante períodos de estiagem, e por consequência os camarões têm crescimento lento, aumento no consumo alimentar e FCA, prolongando o tempo de cultivo e um maior custo operacional.

As variações de salinidade podem alterar a estratégia o mecanismo osmorregulador, podendo desta forma, comprometer o crescimento da espécie. Esse aumento da salinidade é devido as condições climáticas desfavoráveis, como elevada evaporação, infiltração, baixa, ventos contínuos e precipitação baixa. (MOREIRA *et al* 2020)

A espécie *L. vannamei* necessita de certo nível de salinidade para um pleno desenvolvimento, tolerando concentrações menores que 1 até mais que 50 g L⁻¹ (CAVALHEIRO; CONCEIÇÃO; RIBEIRO, 2016). Estudos anteriores já demonstraram que uma alta salinidade suprime o crescimento dos camarões e leva a uma baixa eficiência alimentar (SAOUD; DAVIS, 2005; HURTADO *et al.*, 2006; PEREZ-VELAZQUEZ *et al.*, 2007; CASTRO; BURRI; NUNES, 2017; PONCE-PALAFIX *et al.*, 2019; RUFINO *et al.*, 2020). Várias tentativas já foram realizadas para mitigar os efeitos prejudiciais de salinidades extremas ao cultivo de camarões, tais como a manipulação de nutrientes da dieta (carboidratos, WANG *et al.*, 2014; minerais, GONG *et al.*, 2004a; ROY *et al.*, 2007, 2009a; proteína bruta, SUI *et al.*, 2015; ácidos graxos, GONZÁLEZ-FÉLIX *et al.*, 2009; CASTRO; BURRI; NUNES, 2018; RUFINO *et al.*, 2020; fontes alternativas de proteína, ROY *et al.*, 2009b; colesterol e lecitina, GONG *et al.*, ROY *et al.*, 2006) e a adequação das práticas de manejo alimentar (taxas de alimentação, ROY *et al.*, 2012).

Os camarões parecem responder positivamente quando alimentados com dietas contendo um maior conteúdo de ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa da série ômega-3 (*n*-3 LC-PUFA) e aminoácidos essenciais (AAE). Algumas pesquisas já determinaram o

conteúdo ideal de AAE na dieta para maximizar o crescimento do *L. vannamei* cultivado sob baixa salinidade de água (treonina, HUAI *et al.*, 2009; isoleucina, LIU *et al.*, 2014a; leucina, LIU *et al.*, 2014b; fenilalanina, JIN *et al.*, 2019), mas nenhum trabalho investigou os níveis ideais para cultivos conduzidos em alta salinidade.

A salinidade está entre os parâmetros mais variáveis de qualidade da água no cultivo do camarão do *L. vannamei* no litoral da Região Nordeste, sendo essencial determinar os níveis dietéticos ideais de lipídios e Metionina (Met) necessários para maximizar o desempenho zootécnico da espécie. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito dos níveis dietéticos de Met e lipídios sobre o desempenho zootécnico de juvenis do camarão *L. vannamei* quando cultivados em condições de salinidade iso e hiperosmótica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Influência da salinidade na fisiologia do camarão

Juvenis e adultos do camarão branco *L. vannamei* possuem uma boa capacidade de osmorregulação, tolerando salinidades entre menos de 1 até mais de 50 g L⁻¹. Porém, a concentração próxima do ponto isosmótico da espécie é de 718 mOsm kg⁻¹ de H₂O, equivalente a 24 g L⁻¹ de salinidade (CASTILLE; LAWRENCE, 1981). Em camarões peneídeos, a salinidade, o pH e o oxigênio dissolvido da água de cultivo são parâmetros ambientais com potencial para influenciar as respostas fisiológicas desses animais (CHEN; LIN, 1995).

O aumento da salinidade da água pode causar alteração da osmose e do equilíbrio iônico dos camarões, aumentando consideravelmente a demanda por energia destinada ao metabolismo. Como consequência, a disponibilidade de energia para realizar os mecanismos fisiológicos relacionados ao crescimento e (ou) reprodução tornam-se limitados (VILLARREAL; HINOJOSA; NARANJO, 1994).

2.2 Osmorregulação em crustáceos

A osmorregulação representa um importante mecanismo de adaptação dos organismos aquáticos ao meio ambiente, atribuído principalmente aos crustáceos (PEQUEUX, 1995). Esses organismos regulam a concentração de sais em seus fluidos corporais por meio de membranas permeáveis, quando estas se deparam com níveis diferentes aos do meio externo.

Isto permite manter a estabilidade devido à diferença nos gradientes de pressão osmótica (MANTEL; FARMER, 1983).

A capacidade de hipo e hiper osmorregulação refere-se, respectivamente, à capacidade osmorregulatória abaixo e acima do ponto isosmótico. A intersecção entre a linha hipo e a linha hiper regulatória corresponde ao ponto isosmótico (CHARMANTIER *et al.*, 1989; SILVÃO, 2016). Após uma mudança na salinidade, a perda de aminoácidos livres dos músculos resulta na sua liberação para a hemolinfa. Isto demanda uma carga osmótica adicional, uma vez que o nível de hemolinfa aumenta a entrada de água do meio externo. A transferência de aminoácidos livres para os fluidos gástricos da glândula digestiva fornece um meio de minimizar essa carga adicional. Isto resulta em um aumento na demanda energética com o aumento da salinidade (LIGNOT; CHARMANTIER, 2015).

Para os crustáceos, as proteínas parecem ser uma fonte importante de energia metabólica (CLAYBROOK, 1983). A salinidade ideal para o crescimento do *L. vannamei* situa-se no intervalo entre 20 e 25 g L⁻¹. Um desvio fora desta faixa de salinidade afetará negativamente o crescimento e a sobrevivência do camarão devido ao gasto de energia necessário para a osmorregulação. Porém, ainda não está claro o mecanismo e a origem da energia extra necessária para a osmorregulação e (ou) se a eficiência digestiva da ingestão energética alimentar é regulada pela salinidade do ambiente (LI *et al.*, 2008).

Um aumento das atividades digestivas ocorre em salinidades extremas. Isso fornece evidências diretas de que os camarões demandam energia alimentar complementar para compensar a perda devido a osmorregulação quando a salinidade do ambiente oscila em relação à salinidade fisiológica ideal (LI *et al.*, 2008).

2.3 Exigência lipídica e energética em camarões e a relação com a salinidade

É necessário o desenvolvimento de pesquisas para uma melhor compreensão sobre o metabolismo dos lipídios em camarões marinhos cultivados. Em particular, estudos precisam ser conduzidos para determinar os níveis necessários em dietas dos ácidos graxos *n*-3 LC-PUFA, fosfolipídios e outras classes de lipídios necessários para maximizar a sobrevivência, eficiência alimentar e o crescimento desses organismos aquáticos. No caso do *L. vannamei*, as exigências nutricionais desses nutrientes durante as fases larval, pós-larval, juvenil e adulta não estão totalmente definidas (GONZÁLEZ-FÉLIX *et al.*, 2002a).

Os *n*-3 LC-PUFA são benéficos para o crescimento de juvenis do camarão *L.*

vannamei cultivados em condições de hipersalinidade (entre 30 e 50 g L⁻¹). Isso ocorre provavelmente pelo fato de que camarões alimentados com dietas suplementadas com ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) gastam menos energia na osmorregulação como resultado da diminuição da permeabilidade das membranas branquiais. No entanto, dietas suplementadas com *n*-3 LC-PUFA não têm efeito em camarões criados em baixas salinidades (5 g L⁻¹) (HURTADO *et al.*, 2006).

As espécies onívoras dos camarões peneídeos com tégico aberto são aparentemente capazes de satisfazer suas exigências de *n*-3 LC-PUFA quando estes são fornecidos em concentrações de 5 g kg⁻¹ da dieta ou menos. Por outro lado, um aumento do nível lipídico da dieta tem um efeito na composição lipídica total do camarão, aumentando a deposição de lipídios no hepatopâncreas e tecido muscular (GONZÁLEZ-FÉLIX *et al.*, 2002b).

No cultivo do *L. vannamei* sob 25 g L⁻¹ de salinidade, 6% de lipídios na dieta são suficientes para um crescimento ótimo e manutenção do seu estado de saúde (XU *et al.*, 2018). A sobrevivência e o desenvolvimento do camarão dependem do armazenamento, reorganização e uso de energia. A energia derivada da ração consumida é geralmente utilizada para o crescimento e o metabolismo respiratório, enquanto outra parte é perdida durante a eliminação de dejetos nitrogenados e fezes (VICTORIA, 1998). A capacidade do camarão peneídeo em obter reservas energéticas e atender suas necessidades de manutenção e crescimento depende do efeito de fatores ambientais. A salinidade é considerada um dos parâmetros que mais tem influência sobre o metabolismo desses organismos (ROSAS *et al.*, 2001b).

A exposição de juvenis do *L. vannamei* a condições isosmóticas provoca efeito significativo na ingestão de energia por meio do consumo alimentar. Nesse caso, os camarões usam menos energia para cobrir seus processos metabólicos de rotina (VALDEZ *et al.*, 2008). Comparativamente, quando os camarões são expostos a uma salinidade de 40 g L⁻¹ ocorre uma maior demanda energética (ROSAS *et al.*, 2001a). No entanto um maior consumo de energia também se apresenta através dos alimentos ingeridos quando os camarões são expostos a 15 g L⁻¹ de salinidade. Isso indica que esta espécie opera em seu ótimo fisiológico em salinidade isosmótica, acumulando o máximo de energia para canalizá-la para o crescimento (ROSAS *et al.*, 2002).

2.4 Aminoácidos na dieta para camarões e a relação com a salinidade

A metionina (Met) e a lisina (Lis) são os primeiros AA limitantes em ingredientes

proteicos de origem vegetal e animal. A suplementação destes AA na formulação de dietas deve ser realizada sempre quando estes apresentarem níveis abaixo dos valores mínimos exigidos pela espécie em questão. A suplementação de AA cristalinos em rações formuladas para organismos aquáticos é usada para equilibrar a composição total dos aminoácidos essenciais (AAE). Esta prática deve se tornar cada vez mais comum na indústria voltada a produção de rações para a aquicultura (YUAN *et al.*, 2011). A suplementação também ajuda a evitar um aumento desnecessário dos níveis de proteína bruta (PB) e outros nutrientes na ração mediante uma maior inclusão de fontes proteicas contendo AA intactos (NUNES *et al.*, 2014).

A compreensão dos efeitos de um aumento dos níveis de Met total na dieta sobre o desempenho zootécnico do camarão cultivado em diferentes salinidades é um tema central para o desenvolvimento da carcinicultura na Região Nordeste. Por exemplo, pós-larvas do *L. vannamei* são capazes de resistir a mudanças repentinas de salinidade pela manipulação do metabolismo do nitrogênio, aumento rápido das taxas de excreção de amônia e incremento dos osmólitos orgânicos, como certos aminoácidos utilizados na regulação osmótica (SILVIA *et al.*, 2004).

Quando o camarão está em um ambiente onde ocorre uma diminuição repentina na salinidade, ocorre uma regulação dos seus fluidos corporais da forma mais estável possível. Se estes não conseguem manter a osmolaridade do fluido corporal dentro da faixa adequada, os camarões regulam os osmólitos intracelulares para se adaptarem à diminuição da osmolaridade do fluido corporal. Consequentemente, determinados AA livres são sintetizados como fontes de energia nos tecidos e são excretados no fluido corporal (SHINJI *et al.*, 2012). Os AA podem melhorar a resistência ao estresse e a sobrevivência, agindo como um osmólito para enfrentar o desafio da salinidade (LI *et al.*, 2015).

A glicina (Gli) na dieta pode melhorar significativamente o crescimento do *L. vannamei*. Resultados obtidos mediante a regressão de segunda ordem baseada no ganho de peso percentual indicaram que a exigência ótima de Gli em uma dieta com baixo teor de farinha de peixe para juvenis do *L. vannamei* foi estimada em 25,4 g kg⁻¹ da dieta na base seca ou 57 g kg⁻¹ da proteína dietética (XIE *et al.*, 2014). As dietas que contém triptofano (Tri) suplementado acima de 3,6 g kg⁻¹ da dieta (base seca) podem promover o crescimento do *L. vannamei* (SUN *et al.*, 2015). A exigência dietética ideal de isoleucina (Iso) para o *L. vannamei* cultivado sob baixa salinidade é de 15,95 g kg⁻¹ da dieta (base seca), correspondente a 38,81 g kg⁻¹ da proteína dietética (LIU *et al.*, 2014a).

A exigência ideal de leucina (Leu) na dieta para o *L. vannamei* cultivado sob baixa

salinidade é de 23,73 g kg⁻¹ da dieta (base seca) ou 57,88 g kg⁻¹ da proteína dietética (LIU *et al.*, 2014b). As necessidades dietéticas de Met para espécies de camarão marinho cultivadas variam entre 7 a 10 g kg⁻¹ da dieta (NRC, 2011). O teor de Met e Met+Cis (Metionina + Cisteína) na dieta por suplementação com 2,1 e 3,1 g kg⁻¹ do dipeptídeo DL-metionil-DL-metionina (DL-Met-Met) demonstrou afetar positivamente a sobrevivência final, o consumo aparente de ração, o Fator de Conversão Alimentar (FCA) e o crescimento de juvenis do *L. vannamei* (FAÇANHA *et al.*, 2016).

2.5 Estado da glicose em camarões

Os camarões precisam aumentar seu glicometabolismo para fornecer mais energia em resposta a co-estressores, como alta salinidade e amônia nitrogenada (LONG *et al.*, 2021). Os níveis de glicose na hemolinfa do *L. vannamei* aumentam em resposta a uma maior concentração de salinidade na água (ESPARZA *et al.*, 2019). Essa espécie é capaz de crescer em diferentes salinidades e possui uma alta capacidade de síntese de glicose a partir da alanina-14C, competindo diretamente pelo uso de AA para osmorregulação (ROSAS *et al.*, 2001a). Essa característica pode apresentar-se como uma condição adaptativa importante para a colonização de ambientes salobros, pois permite que a espécie utilize o excedente de glicose na troca iônica, evitando seu uso com movimentos musculares (ROSAS *et al.*, 2001b).

O amido nativo aumenta a glicose plasmática para um nível alto com um lento retorno à linha de base devido à má regulação da glicose e do glicogênio na hemolinfa do hepatopâncreas. A glicose do amido pode fornecer glicogênio no hepatopâncreas proporcional ao fornecimento deste na dieta (ROSAS *et al.*, 2000). Os níveis de glicose na hemolinfa dos crustáceos tendem a aumentar quando os organismos estão sob estresse, ocasionando também em uma maior demanda de energia (RACOTTA; PALACIOS, 1998; ESPARZA *et al.*, 2019).

3 HIPÓTESES

O presente estudo levantou as seguintes hipóteses científicas:

1. Em um ambiente hiperosmótico, o camarão *L. vannamei* requer um maior teor de metionina na dieta para maximizar seu desempenho zootécnico.
2. Em um ambiente hiperosmótico, o camarão *L. vannamei* apresenta um crescimento mais lento comparado à condição isosmótica, devido a um maior estresse osmótico e demanda energética.
3. Em um ambiente hiperosmótico, o camarão *L. vannamei* requer um maior gasto energético, portanto, as dietas devem apresentar um maior conteúdo lipídico.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito dos níveis dietéticos de Metionina e lipídios no desempenho zootécnico de juvenis do *L. vannamei* quando cultivados em condições de salinidade iso e hiperosmótica.

4.2 Objetivos Específicos

- Determinar se o desempenho zootécnico do camarão branco em um ambiente hiperosmótico é inferior em comparação com uma condição isosmótica.
- Avaliar se as condições hiperosmóticas aumentam a demanda de lipídios e a exigência dietética de Met do *L. vannamei*.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Local do estudo e desenho experimental

Os estudos foram realizados nas instalações de cultivo do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA) do Instituto de Ciências do Mar (Labomar) da Universidade Federal do Ceará (UFC). Foram avaliados seis tratamentos dietéticos para os quais foram designadas três variáveis experimentais: (1) teor lipídico das dietas (60 e 75 g kg⁻¹ da dieta, base natural); (2) conteúdo dietético de Met total (7, 8 e 9 g kg⁻¹ da dieta, base natural); e (3) salinidade da água de cultivo (21-25 e 43-48 g L⁻¹). As unidades experimentais, constituídas de tanques circulares de 0,5 m³, foram designadas para cada tratamento de uma forma inteiramente casualizada.

5.2 Dietas experimentais

Seis dietas práticas foram preparadas para este estudo contendo três níveis de Met com dois níveis de lipídios (Lip). Cada conjunto de dieta foi avaliado sob uma salinidade isosmótica (21-25 g L⁻¹) e hiperosmótica (43-48 g L⁻¹). Um total de seis a sete tanques foram atribuídos para cada dieta e salinidade, totalizando 80 tanques de cultivo.

Para a formulação, a energia bruta (EB, MJ kg⁻¹; na base da matéria seca, MS) de cada matéria-prima (MP) foi primeiro calculada aplicando a fórmula (EWAN, 1989): $EB = (4.143 + (560 \times \text{extrato etéreo [MS]}) + (150 \times \text{PB [MS]}) - (440 \times \text{cinzas [MS]}) \times 0,0041868$. A proteína digestível (PD) e a energia digestível (ED) das MP foram estimadas pela aplicação de coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) apresentados na literatura para camarões peneídeos, como segue: farinha de trigo (FT), 68,2 e 62,9% (GLENCROSS *et al.*, 2018); concentrado de proteico de soja (CPS), 92,4 e 78,2% (CARVALHO *et al.*, 2016); farelo de soja (FS), 85,6 e 92,9% (SICARDDI *et al.*, 2006); farinha de salmão (FS), 84,1 e 85,8% (GUO *et al.*, 2020); e, farinha de krill (FK), 85,0 e 83,9% (SICARDDI *et al.*, 2006), respectivamente.

As dietas foram elaboradas para conter uma EB total entre 17 e 18 MJ kg⁻¹. O primeiro conjunto de dietas apresentaram, em média, um teor total de lipídios de 78,4 g kg⁻¹. Essas dietas continham uma média de 338,4 g kg⁻¹ de FS, 270,0 g kg⁻¹ de FT, 106,2 g kg⁻¹ de

CPS e 17,8 g kg⁻¹ de óleo de soja. Na segunda série de dietas, o teor de lipídios totais foi reduzido para 61,2 g kg⁻¹ com a eliminação do uso de óleo de soja. Em todas as dietas, a inclusão de FS e FK foi fixada em 60,0 e 20,0 g kg⁻¹, respectivamente. A fécula de mandioca e o caulim foram usados como veículos para preenchimento das fórmulas (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição de ingredientes e perfil bromatológico das dietas experimentais.

Ingredientes	Inclusão na dieta (g kg ⁻¹ , base natural) /Dieta (Met-Lip)					
	7/75	8/75	9/75	7/60	8/60	9/60
Farelo de soja ¹	337,0	338,4	339,9	377,9	376,3	374,7
Farinha de trigo ²	270,0	270,0	270,0	263,5	264,0	264,5
Concentrado proteico de soja ³	108,5	106,2	103,8	80,2	79,9	79,7
Farinha de salmão ⁴	60,0	60,0	60,0	60,0	60,0	60,0
Fécula de mandioca	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0
Caolin	30,0	29,3	28,6	30,0	30,0	30,0
Óleo de salmão	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Farinha de krill ⁵	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Lecitina de soja	19,3	19,3	19,3	19,3	19,3	19,3
Óleo de soja	17,7	17,8	18,0	-	-	-
Carbonato de cálcio	15,9	15,9	16,0	15,9	15,9	15,9
Monofosfato de sódio	11,0	11,1	11,1	11,5	11,6	11,6
Dextrina	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Cloreto de potássio	9,9	10,0	10,1	11,1	11,1	11,1
Sulfato de magnésio	8,0	8,0	8,0	18,0	18,0	18,0
L-Lisina ⁶	7,0	7,0	7,1	6,9	7,0	7,1
Aglutinante sintético ⁷	5,0	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
L-Arginina HCl ⁸	4,5	4,5	4,6	4,5	4,5	4,6
Premix vitamínico-mineral ⁹	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
L-Treonina ¹⁰	3,4	3,5	3,5	3,4	3,4	3,5
L-Fenilalanina ⁸	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9
DL-Met-Met ¹¹	2,6	3,6	4,7	2,6	3,6	4,7
Sal grosso	1,8	1,8	1,9	1,9	1,9	1,9
L-Histidina ⁸	1,5	1,5	1,6	1,5	1,5	1,5
Vitamina C ¹²	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Colesterol ¹³	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Composição bromatológica (g kg ⁻¹ da dieta, base natural)						
Matéria seca	922,2	918,7	909,2	920,8	918,3	916,7
PB	341,3	339,3	337,3	342,2	338,3	345,6
Lipídios totais	76,3	75,1	73,0	59,8	60,4	58,4
Fibra bruta	25,9	26,2	27,0	27,8	27,0	27,8
Cinzas	103,4	104,1	102,8	104,6	110,6	111,3
ENN ¹⁴	336,2	352,5	359,2	340,9	357,6	367,9
EB (MJ kg ⁻¹) ¹⁵	19,2	19,2	19,1	18,8	18,7	18,7
ED (MJ kg ⁻¹) ¹⁶	15,1	15,1	15,1	14,4	14,4	14,4

¹Bunge Alimentos S.A. (Luiz Eduardo Magalhães, Brasil). 109,4 g kg⁻¹ de umidade, 452,6 g kg⁻¹ de PB, 22,8 g kg⁻¹ de extrato etéreo (EE), 68,0 g kg⁻¹ de FB, 61,0 g kg⁻¹ de cinzas, 5,8 g kg⁻¹ Met, 27,5 g kg⁻¹ Lis, 12,2 g kg⁻¹ Met +

Cis.

²Dona Benta (J. Macêdo, Fortaleza, Brasil). 130,5 g kg⁻¹ de umidade, 119,2 g kg⁻¹ PB, 12,0 g kg⁻¹ EE, 5,6 g kg⁻¹ FB, 7,5 g kg⁻¹ cinzas, 1,7 g kg⁻¹ Met, 2,4 g kg⁻¹ Lis, 4,0 g kg⁻¹ Met + Cis.

³XSoy600 (Sementes Selecta S.A., Araguari, Brasil). 69,6 g kg⁻¹ de umidade, 622,4 g kg⁻¹ PB, 12,0 g kg⁻¹ EE, 46,0 g kg⁻¹ FB, 66,0 g kg⁻¹ cinzas, 8,1 g kg⁻¹ Met, 37,6 g kg⁻¹ Lis, 16,8 g kg⁻¹ Met + Cis.

⁴Pesquera Pacific-Star (Puerto Montt, Chile). 105,8 g kg⁻¹ de umidade, 638,6 g kg⁻¹ PB, 93,0 g kg⁻¹ EE, 1,4 g kg⁻¹ FB, 162,0 g kg⁻¹ cinzas, 16,5 g kg⁻¹ Met, 41,9 g kg⁻¹ Lis, 23,5 g kg⁻¹ Met + Cis.

Farinha de krill da Antártica.

⁵Qrill™ (Aker Biomarine Antarctic AS, Lysaker, Noruega). 90,5 g kg⁻¹ de umidade, 502,0 g kg⁻¹ PB, 231,7 g kg⁻¹ EE, 31,4 g kg⁻¹ FB, 97,1 g g kg⁻¹ cinzas, 14,3 g kg⁻¹ Met, 34,5 g kg⁻¹ Lis, 22,2 g kg⁻¹ Met + Cis.

⁶Biolys® (Evonik Nutrition and Care GmbH, Hanau, Alemanha). L-lisina 546 g kg⁻¹.

⁷Nutri-Bind Aqua Veg Dry, Nutri-Ad International NV (Dendermonde, Bélgica). Aglutinante sintético consistindo em lignossulfonato de cálcio (940 g kg⁻¹) e goma de guar (60 g kg⁻¹).

⁸Cortesia da Ajinomoto do Brasil Ltda. (Laranjal Paulista, Brasil).

⁹Rovimix® 2050 BR0738A010. DSM Produtos Nutricionais Brasil Ltda. (São Paulo, São Paulo, Brasil). Níveis de garantia: vitamina A, 3.500.000 UI g kg⁻¹; vit. D3, 1.500.000 UI g kg⁻¹; vit. E, 75.000 mg kg⁻¹; vit. B1, 12.500 mg kg⁻¹; vit. B2, 10.000 mg kg⁻¹; vit. B6, 12.500 mg kg⁻¹; vit. B12, 10.000 mg kg⁻¹; ácido nicotínico, 50.000 mg kg⁻¹; ácido pantotênico, 40.500 mg kg⁻¹; biotina, 500 mg kg⁻¹; ácido fólico, 5.000 mg kg⁻¹; vit. C, 100.000 mg kg⁻¹; Fe 15.000 mg kg⁻¹; Cu, 12.500 mg kg⁻¹; Zn, 50.000 mg kg⁻¹; Mn, 15.000 mg kg⁻¹; Se, 175 mg kg⁻¹; I, 500 mg kg⁻¹; Co, 100 mg kg⁻¹, 10 mg kg⁻¹ de umidade.

¹⁰ThreAMINO® (Evonik Nutrition and Care GmbH, Hanau, Alemanha). L-treonina, 985 g kg⁻¹ ¹¹AQUAVI® Met-Met com um mínimo de 950 g kg⁻¹ DL-Metionil-DL-Metionina. Evonik Nutrition and Care GmbH (Hanau, Alemanha).

¹²Rovimix® Stay C® 35. Mínimo de 350 g kg⁻¹ de atividade de vitamina C fosforilada. DSM Nutritional Products AG (Schweiz, Suíça).

¹³Cholesterol SF (Dishman Netherlands B.V., Veenendaal, Holanda). Mínimo de 910 g kg⁻¹ de colesterol ativo.

¹⁴Extrato não nitrogenado. Calculado pela diferença [matéria seca - (PB + EE + FB + cinzas)].

¹⁵Energia bruta (EB, MJ kg⁻¹) dada com base na matéria seca (MS). Calculado como EB = (4.143 + (560 × EE [MS]) + (150 × PB[MS]) - (440 × cinzas [MS])) × 0,0041868. Fonte: (EWAN,1989).

¹⁶Energia digestível. Calculada com base nos coeficientes de digestibilidade aparente das matérias primas fornecidos na literatura.

No trabalho anterior, Nunes *et al.* (2019) demonstraram que o teor de PB da dieta pode ser reduzido de 400 para 340 g kg⁻¹ (% da dieta, base natural) sem efeitos adversos para o desempenho zootécnico do *L. vannamei*, desde que um nível de Met (Met + Cis) atinja um mínimo de 7,1 g kg⁻¹ na dieta (12,2 g kg⁻¹ da dieta, base natural). Portanto, as dietas foram formuladas com um nível constante de 340,7 ± 3,0 g kg⁻¹ de PB (média ± desvio padrão), com aumentos de 20% no conteúdo de Met total (Met + Cis), a partir de 7,0 ± 0,04 (11,4 ± <0,01 Met + Cis; dietas 7/75 e 7/60, Met/Lip) a 7,9 ± 0,08 (12,2 ± 0,01; dietas 8/75 e 8/60) e 9,0 ± 0,17 g kg⁻¹ (13,3 ± 0,26 g kg⁻¹; dietas 9/75 e 9/65). Para atingir esses níveis graduados de Met na dieta, um dipeptídeo, DL-Met-Met (AQUAVI® Met-Met, Evonik Nutrition & Care GmbH, Hanau, Alemanha) foi suplementado a 2,6; 3,6 e 4,7 g kg⁻¹ da dieta (Tabela 1).

As dietas foram formuladas seguindo o conceito de proteína ideal usando Lis como o primeiro aminoácido limitante e de referência. Portanto, todas as dietas também foram suplementadas com L-Lisina (Biolys®, Evonik Nutrition & Care GmbH, Hanau, Alemanha), L-Treonina (ThreAMINO®, Evonik Nutrition & Care GmbH, Hanau, Alemanha) e L-Arginina HCl (Sigma-Aldrich do Brasil Ltda., São Paulo, Brasil), L-Fenilalanina e L-Histidina

(Ajinomoto do Brasil Ltda., Laranjal Paulista, Brasil). As seguintes relações de Lis: AAE foram alcançadas 100 Lis: 73 treonina (Tre), 100 Lys: 37 arginina (Arg), 100 Lis: 46 histidina (His) e 100 Lis: 42 fenilalanina (Fen) (Tabela 2). Com exceção da Met, a variação (CV, coeficiente de variação) no conteúdo dietético de todos os outros AA foi mantida em menos de 3% (Tabela 2).

As dietas foram formuladas e as rações confeccionadas conforme descrito por Nunes *et al.* (2011). A composição bromatológica das dietas foi determinada de acordo com os métodos da AOAC (2005). A matéria seca (MS) foi determinada por secagem de amostras em estufa com recirculação de ar por 24 h a 105°C. O método de combustão de Dumas foi aplicado para análise da PB (AOAC 968,06), enquanto o extrato etéreo foi determinado por hidrólise ácida (AOAC 954,02). O teor de cinzas foi determinado por queima de amostras em uma mufla a 600°C por 2 h (AOAC 942,05), enquanto a fibra bruta foi determinada pelo método enzimático-gravimétrico (AOAC 992,16). A composição dos AAs foi determinada usando cromatografia líquida de alto desempenho (WHITE *et al.*, 1986; HAGEN *et al.*, 1989) seguindo o método descrito por Figueiredo *et al.* (2015).

Tabela 2 - Composição aminoacídica (g kg⁻¹, na base natural) das dietas experimentais.

Met/Lipídios	Composição aminoacídica (g kg ⁻¹ da dieta, tal qual)						CV ¹ (%)
	7/75	8/75	9/75	7/60	8/60	9/60	
Aminoácidos essenciais (AAE)							
Arginina	24,7	24,2	24,1	24,6	24,8	24,9	1,29
Histidina	7,1	6,9	6,9	7,1	7,1	7,1	1,56
Isoleucina	13,7	13,6	13,4	13,7	13,8	13,7	0,96
Leucina	22,5	22,3	22,1	22,5	22,6	22,6	0,91
Lisina	20,7	20,3	20,1	20,7	20,7	20,8	1,35
Metionina	7,0	7,9	8,9	7,0	7,8	9,1	11,26
Met + Cis ²	11,4	12,2	13,1	11,4	12,2	13,5	7,15
Fenilalanina	17,6	17,7	17,6	17,5	17,8	17,8	0,71
Treonina	14,7	14,5	14,4	14,7	14,8	14,8	1,10
Valina	14,4	14,2	14,1	14,3	14,4	14,4	0,93
Soma dos AAE ³	142,4	141,7	141,5	142,1	143,8	145,2	1,01
Aminoácidos não essenciais (AANE)							
Alanina	13,8	13,6	13,5	13,7	13,8	13,9	1,01
Ácido aspártico	31,4	31,0	30,7	31,5	31,7	31,6	1,19
Cisteína	4,4	4,3	4,3	4,4	4,4	4,4	1,32
Glicina	14,9	14,8	14,7	14,9	15,0	15,0	0,96
Ácido glutâmico	56,0	55,4	55,0	55,9	56,2	56,2	0,88
Prolina	17,0	16,5	16,8	17,2	17,2	17,2	1,83
Serina	14,7	14,5	14,3	14,6	14,8	14,8	1,23
Soma dos AANE	152,1	150,0	149,2	152,3	153,1	153,1	1,08
AAE + AANE	294,5	291,7	290,7	294,3	296,9	298,3	0,99
Aminoácidos livres							
Metionina	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	21,50
Lisina	3,6	3,5	3,4	3,5	3,5	3,6	1,94
Treonina	3,4	3,3	3,3	3,4	3,3	3,4	1,87
Valina	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	2,75
Alanina	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5	1,16

Continua.

Tabela 2 - Composição aminoacídica (g kg^{-1} , na base natural) das dietas experimentais.

Met/Lipídios	Composição aminoacídica (g kg^{-1} da dieta, tal qual)						CV ¹ (%)
	7/75	8/75	9/75	7/60	8/60	9/60	
Arginina	5,0	5,0	4,9	5,0	4,9	5,1	1,53
Fenilalanina	2,8	2,8	2,8	2,7	2,6	2,7	2,86
DL-Met-Met	2,2	3,0	3,8	2,1	2,9	3,9	25,88

¹Coefficiente de variação (%)

²Aminoácidos sulfurados

³Triptofano não incluído

5.3 Fabricação das dietas

Para a fabricação das dietas experimentais, os macros ingredientes foram inicialmente moídos em um moinho centrífugo, com potência de 5 cv (modelo MCS 280, Máquinas Vieira Indústria e Comércio Ltda., São Paulo, SP). Após a moagem, os ingredientes foram armazenados separadamente em recipientes fechados, mantidos sob temperatura ambiente.

Em seguida, todos os ingredientes foram pesados em uma balança eletrônica de precisão (Ohaus Adventurer, modelo ARA520, Toledo do Brasil Indústria de Balanças Ltda., São Bernardo do Campo, SP). Após a pesagem, os macro ingredientes foram misturados em um misturador planetário durante 10 min. Uma amostra de 1 kg desta mistura foi recolhida para incorporação dos micro ingredientes (vitaminas, minerais, aglutinante sintético e AA cristalinos) em um misturador em Y, que operou a uma velocidade de 30 RPM durante 10 minutos. Após esse procedimento, realizou-se a mistura dos macro e micro ingredientes, com a adição dos óleos e de água doce sob temperatura ambiente, sendo este último adicionado lentamente, na proporção de 4 L para cada 15 kg de MP, até a obtenção de uma mistura homogênea.

Posteriormente foi realizado o processo de cozimento e extrusão através do uso de uma extrusora laboratorial (modelo Extrusora EX MICRO, Extec Máquinas, Ribeirão Preto, SP), ajustada para operar sob uma temperatura de 90°C. O diâmetro e o comprimento dos *pellets* foram regulados utilizando uma matriz e facas da própria extrusora, respectivamente. Em seguida, lotes de cerca de 2 kg das dietas foram transferidos para cozimento a vapor durante 3 minutos sob 95°C.

As dietas foram submetidas a um processo de secagem através do uso de estufa com circulação contínua de ar (estufa de secagem especial. Modelo MA-035/3, Marconi Equipamentos para Laboratório Ltda., Piracicaba, SP), por um período máximo de 3 h, sob temperatura de 60°C, até atingir umidade entre 100 e 120 g kg⁻¹. Para alcançar este valor, amostras das dietas foram coletadas a cada 15 minutos para determinação da umidade utilizando um analisador rápido de umidade com lâmpada alógena (MB35 Moisture Analyzer, Ohaus Corporation, New Jersey, EUA). Ao final do processo de fabricação, as dietas foram embaladas, etiquetadas e estocadas em câmara fria sob uma temperatura de -15 °C, até a utilização.

5.4 Sistema de cultivo e preparação da água

Os camarões foram cultivados em tanques circulares de 0,5 m³ (área de fundo de 0,57 m² x 0,56 m de altura) mantidos em um galpão coberto sob um ciclo de luz artificial de 12 h a partir das 05:30 h. O sistema de cultivo foi inicialmente operado em uma condição estática, mas a partir da quinta semana de cultivo, a água foi trocada semanalmente a 10% do volume total de cada tanque.

O sistema de cultivo foi dividido em dois grupos de 40 tanques. Cada grupo de 40 tanques operou de forma independente utilizando seus respectivos sistemas de filtragem com uma capacidade total de armazenamento de 40 m³ de água. Isso permitiu manter a água sob uma salinidade isosmótica (21-25 g L⁻¹) em 40 tanques e sob uma salinidade hiperosmótica (43-48 g L⁻¹) na outra metade, durante todo o período de cultivo dos camarões. A água de todos os tanques foi aerada continuamente com um soprador de 2,5 cv de potência. O sistema de distribuição de ar foi composto por uma mangueira micro perfurada, deitada no fundo de cada tanque. O sistema operou em regime de recirculação durante todo o período experimental. Para o sistema isosmótico a redução da salinidade foi feita mediante a incorporação de água doce nos tanques reservatórios do sistema para diluição da água do mar até alcançar a concentração desejável de salinidade. Para o sistema hiperosmótico foi utilizada água de mar hipersalinizada bombeada diretamente do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, CE).

5.5 Estocagem e manejo dos camarões

Pós-larvas (PLs) do camarão branco do Pacífico, *L. vannamei*, foram transportadas para o laboratório como PL10 de uma larvicultura comercial (Samaria Unidade de Pós-Larvas Ltda., Touros, RN). Os camarões foram cultivados em cinco tanques berçários de 23 m³ cada, sob 1.000 PLs/m³, até atingirem 3 g de peso corporal (PC). Durante essa fase, os camarões foram gradualmente adaptados às concentrações médias da salinidade alvo do estudo, ou seja, 23 e 45 g L⁻¹. Para estocagem no sistema de tanques cobertos, os camarões foram classificados por tamanho para homogeneizar o PC em 2,98 ± 0,28 g (n = 4.560, CV = 9,5%). Os camarões foram estocados na densidade de 100 animais m⁻² (57 camarões tanque⁻¹) e alimentados por quatro dias, com uma ração comercial.

Os camarões foram alimentados com as dietas experimentais por 56 dias. A alimentação ocorreu exclusivamente em bandejas de alimentação sendo ofertada a ração quatro

vezes ao dia, às 07:00, 10:00, 13:00 e 16:00 h. As bandejas com 14,3 x 3,5 cm (diâmetro x altura) foram instaladas na parte central de cada tanque sob a densidade de uma unidade por tanque. A refeição diária foi dividida em quatro partes (1^a, 2^a, 3^a e 4^a alimentação), correspondendo a 25, 15, 15 e 45% da quantidade diária total de ração, respectivamente. As taxas de alimentação foram calculadas pela equação $RM = 0,0931PC^{0,6200}$, onde RM é a quantidade máxima de alimento que pode ser consumido diariamente por um camarão com um PC específico (NUNES; PARSONS, 2000). Uma restrição alimentar de 30% foi aplicada a RM calculada para evitar um alto FCA. As refeições foram ajustadas diariamente, assumindo uma queda diária fixa na sobrevivência dos camarões e ganho de peso corporal de 100 mg de camarão dia⁻¹. A partir do 19º dia de cultivo, cinco camarões tanque⁻¹ foram amostrados semanalmente para determinar o ganho de PC. Até a próxima amostragem, as refeições foram ajustadas assumindo um ganho de PC médio diário obtido na semana anterior para cada tanque de cultivo específico, mantendo uma queda diária fixa de 0,22% na sobrevivência dos camarões.

5.6 Desempenho zootécnico

Os camarões foram despescados após 60 dias de cultivo. Na despesca, os camarões foram contados e pesados individualmente em uma balança de precisão de 0,01 g. A sobrevivência final do camarão (S%) foi calculada pela equação: $S = (POPf \div POPi) \times 100$, onde POPi = número de camarões na estocagem e POPf = número de camarões na despesca. O ganho de peso semanal (GPS, g semana⁻¹) foi determinado pela fórmula: $GPS = [(PCf - Pi) \div t]$, em que PCi = peso corporal úmido do camarão (PC, g) na estocagem, PCf = PC do camarão (g) na despesca, e t = número de dias em cultivo. O ganho de produtividade (PDT, g de biomassa de camarão m⁻²) foi calculado como $PDT = (BIOf - BIOi) \div \text{área do tanque (m}^2\text{)}$, onde BIOi = biomassa inicial de camarão por tanque (g), BIOf = biomassa final de camarão por tanque (g), e área do tanque = 0,57 m². O FCA foi expresso com base na MS, dividindo-se a quantidade total de ração fornecida (g, na MS) durante o cultivo pela biomassa úmida (g) do camarão obtida em cada tanque. O consumo aparente de ração (CAR, g de ração consumida camarão⁻¹) foi determinado dividindo-se a quantidade total de ração ofertada pelo número de camarões estocados.

5.7 Glicemia na hemolinfa e análise de umidade

A concentração de glicemia foi determinada seguindo o método descrito por Lorenzon *et al.* (2004). Dez camarões por tratamento dietético de cada salinidade foram amostrados nos dias 51 e 60 de cultivo. Imediatamente após a captura, a hemolinfa do camarão foi coletada com uma seringa estéril de 1 mL com agulha 21G. Cerca de 25 a 40 μ L de hemolinfa foram retirados de cada animal, sendo o nível de glicose imediatamente determinado usando o aparelho de aferição da marca OneTouch[®] Select Plus Flex (LifeScan Europe GmbH, Suíça). Dado o curto tempo de medição, nenhum anticoagulante foi misturado com a hemolinfa.

Na despesca, o tecido muscular caudal e as brânquias de 10 camarões por tratamento dietético de cada concentração de salinidade foram dissecados em uma placa fria e pesados. As amostras foram secas por 24 h a 105°C em estufa com recirculação de ar junto às brânquias para determinação do teor de umidade.

5.8 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas com o programa Statistical Package for Social Sciences, pacote 23 (IBM[®] SPSS[®] Statistics, Chicago, Illinois, EUA). O efeito do conteúdo total de Met (Met + Cis) e do teor de lipídios das dietas, além da salinidade da água, sobre o desempenho zootécnico dos camarões foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) de duas vias. Adicionalmente, foi determinado o efeito dessas variáveis sobre a concentração de glicemia na hemolinfa e o teor de umidade do tecido caudal e das brânquias. As diferenças entre a salinidade da água, pH e temperatura entre os tratamentos dietéticos e o período de cultivo foram determinadas por ANOVA de uma via. Quando diferenças significativas foram detectadas, essas foram comparadas duas a duas com o teste de Tukey HSD.

5.9 Parâmetros de qualidade da água

Os parâmetros de qualidade de água foram mensurados diariamente. O pH e a temperatura foram determinados através de um pHmetro portátil com termômetro acoplado (H98107 pHEP, Hanna Instruments Brasil, Barueri, SP) e a salinidade através de um refratômetro (Modelo RTS-101ATC, Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda, São Paulo, SP) a partir das 13:00 h em todos os tanques. As bandejas de alimentação foram inspecionadas diariamente antes de cada refeição para verificar se existiam animais mortos e sobras de ração. A análise de compostos nitrogenados foi realizada no 18^o e 46^o dias de cultivo utilizando um

espectrofotômetro (DR 2800 Spectrophotometer, Hach Company, Loveland, EUA). Foram conduzidas medições de amônia nitrogenada total, nitrito e nitrato em três tanques aleatórios, de cada concentração de salinidade avaliada.

6 RESULTADOS

6.1 Qualidade da água

Ao longo do período de cultivo, a salinidade, o pH e a temperatura da água de cultivo foram mantidos dentro de limites considerados normais para o cultivo de camarões ($P > 0,05$, ANOVA). A salinidade da água foi mantida relativamente constante durante o período experimental (Gráfico 1). No caso da temperatura da água, houve uma tendência de redução progressiva com o tempo de cultivo com médias mínima de 23,4 e 23,6 °C e máxima de 27,3 e 27,1°C para as condições isosmótica e hiperosmótica, respectivamente. O valor médio da salinidade da água alcançou $23,0 \pm 1 \text{ g L}^{-1}$ no ambiente isosmótico ($n = 1.440$) e $45,0 \pm 0,9 \text{ g L}^{-1}$ na condição hiperosmótica ($n = 1.440$). O pH e a temperatura da água alcançaram $8,1 \pm 0,2$ ($n = 1440$) e $8,0 \pm 0,2$ ($n = 1440$) e $26,2 \pm 0,9$ ($n = 1.440$) e $26,1 \pm 0,8$ °C ($n = 1440$), respectivamente, em ambiente isosmótico e hiperosmótico.

A concentração dos compostos nitrogenados apresentou-se dentro de níveis considerados aceitáveis para o cultivo de camarões marinhos. A média da concentração da amônia nitrogenada total (ANT) variou de um mínimo de $0,01 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$ a um máximo de $0,13 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$ na salinidade isosmótica. Em alta salinidade, a ANT também se manteve baixa, entre $0,02 \pm 0,01$ a $0,13 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$. Não foi detectada diferença significativamente estatística para a ANT entre os dois níveis de salinidade, porém foi detectado um aumento significativo na alta salinidade, entre os dias 18 e 46 de cultivo ($P < 0,05$). Os valores de nitrito não se alteraram de forma significativa entre os dias de cultivo ou entre os diferentes níveis de salinidade. A média detectada alcançou $1,33 \pm 0,49 \text{ mg L}^{-1}$. Em relação ao nitrato, as concentrações não se alteraram entre os dois dias de cultivo analisados ($P > 0,05$). Contudo, os valores de nitrato na condição isosmótica foram significativamente mais elevados comparado com a salinidade hiperosmótica, em ambos os dias de cultivo analisados. No 18º dia de cultivo, o nitrato alcançou $4,23 \pm 0,06 \text{ mg L}^{-1}$ na condição isosmótica, comparado com $1,30 \pm 0,35 \text{ mg L}^{-1}$ na condição hiperosmótica. Subsequentemente, no 46º dia de cultivo, o nitrato aumentou para $4,60 \pm 2,25 \text{ mg L}^{-1}$ na salinidade isosmótica comparado com $1,83 \pm 0,21 \text{ mg L}^{-1}$ na alta salinidade.

Gráfico 1 – Variação diária na salinidade (g L^{-1}), temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e pH da água de cultivo dos tanques mantidos em condição isosmótica e hiperosmótica de salinidade. Cada ponto representa a média de 40 leituras diárias.

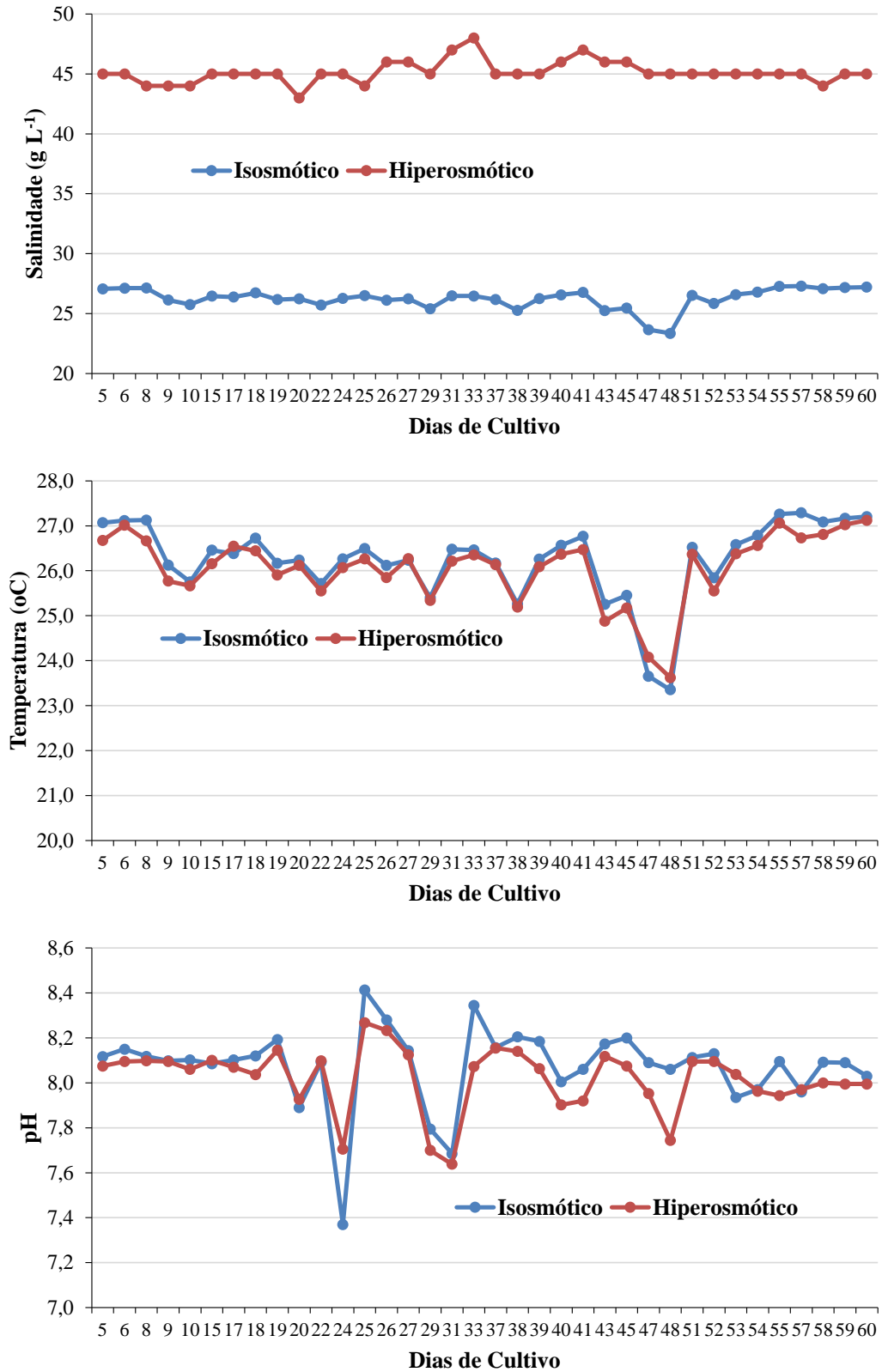
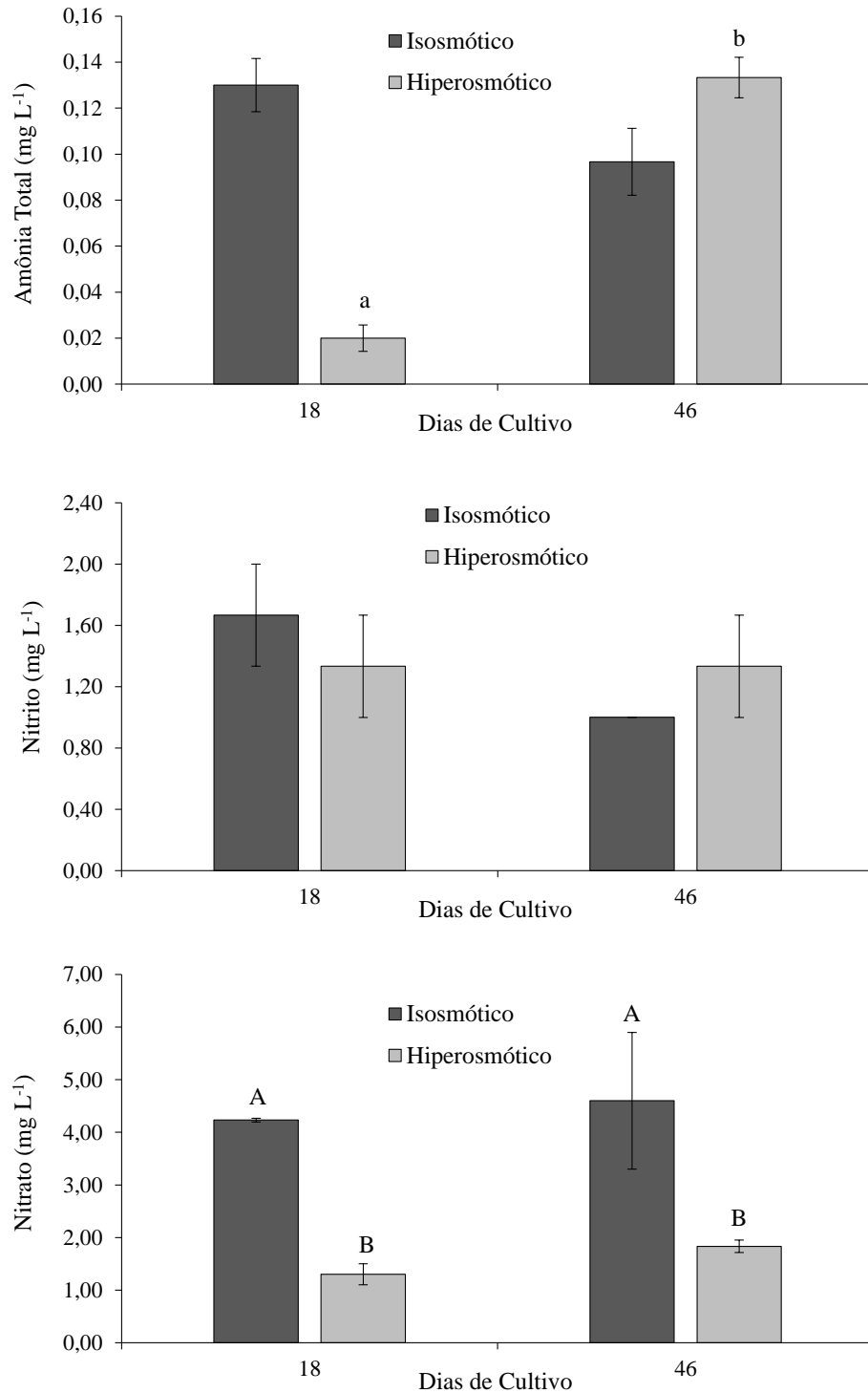


Gráfico 2 – Variação nas concentrações de amônia nitrogenada total (ANT, mg L^{-1}), nitrito (mg L^{-1}) e nitrato (mg L^{-1}) de tanques mantidos em condição isosmótica e hiperosmótica de salinidade no início e final do cultivo. Cada ponto representa a média de três diferentes tanques. Letras minúsculas e maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre dias de cultivo na mesma salinidade ou entre salinidades distintas dentro do mesmo dia de cultivo, respectivamente, segundo o teste de Tukey HSD.



6.2 Desempenho zootécnico

No presente estudo, a sobrevivência final dos camarões variou de um mínimo de $67,5 \pm 3,65\%$ (dieta 9/60, condição isosmótica) a um máximo de 100% (dietas 9/75 e 7/60, salinidade hiperosmótica; Tabela 3). A sobrevivência final dos camarões foi significativamente afetada pela concentração de salinidade ($P < 0,05$). Porém, não foi detectada influência da dieta, dos níveis de Met ou do conteúdo lipídico ($P > 0,05$). A condição hipersalina da água favoreceu uma maior sobrevivência final comparado a baixa salinidade.

O ganho de produtividade dos camarões também variou em função da salinidade da água ($P < 0,05$). Na salinidade de 23 g L^{-1} , a produtividade variou entre 581 ± 99 (dieta 8/75) e $666 \pm 65 \text{ g m}^{-2}$ (8/60). Comparativamente, na condição hipersalina, a produtividade variou entre 804 ± 75 (dieta 7/75) e $818 \pm 34 \text{ g m}^{-2}$ (8/60). Não foi detectada influência do nível de Met e (ou) do conteúdo lipídico das dietas sobre o ganho de produtividade.

O crescimento semanal dos camarões foi mais elevado sob a salinidade isosmótica comparado à condição hiperosmótica ($P < 0,05$). Enquanto na salinidade de 23 g L^{-1} , o crescimento variou de $1,16 \pm 0,08$ (7/75) a $1,27 \pm 0,06 \text{ g}$ (9/60), na salinidade de 45 g L^{-1} , foi detectado um crescimento semanal entre $0,94 \pm 0,07$ (7/60) e $0,98 \pm 0,05 \text{ g}$ (8/60). Foi também verificado que camarões alimentados com dietas contendo 75 g kg^{-1} de lipídios apresentaram um crescimento mais lento comparado com aqueles que consumiram as dietas com 60 g kg^{-1} ($P < 0,05$). Contudo, não houve influência significativa dos níveis de Met sobre o crescimento dos camarões. Tanto o consumo aparente de ração (CAR) como o FCA foram mais elevados na condição isosmótica em relação a hiperosmótica. Na salinidade de 23 g L^{-1} , o FCA excedeu 2,0 em todas as dietas avaliadas. No caso da salinidade de 45 g L^{-1} , o FCA variou entre $1,57 \pm 0,05$ (9/60) e $1,61 \pm 0,11$ (7/75). Não foi detectada uma influência estatisticamente significativa ($P > 0,05$) da dieta (nível de Met e conteúdo lipídico) sobre o CAR ou o FCA.

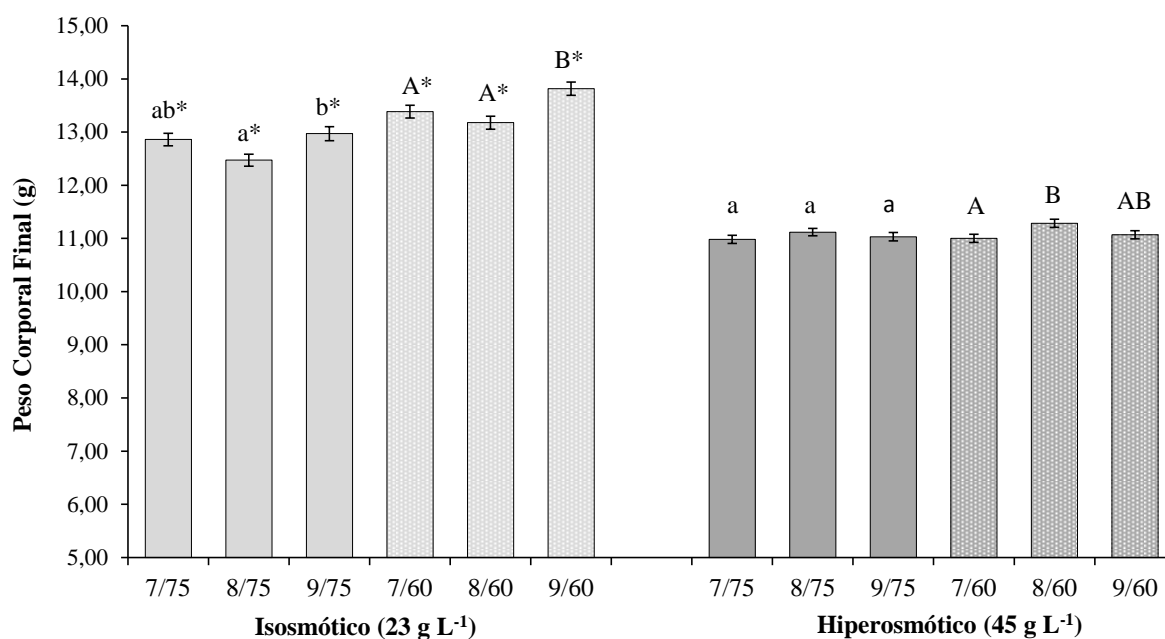
O PC final dos camarões sofreu influência da salinidade da água, do nível de Met e do conteúdo lipídico das dietas ($P < 0,05$; Gráfico 3). Houve também uma interação significativa entre esses parâmetros. Os camarões na condição hiperosmótica alcançaram um menor PC comparado àqueles cultivados na salinidade isosmótica ($P < 0,05$). Na salinidade de 23 g L^{-1} , independentemente do nível de Met das dietas, um maior PC foi observado quando os camarões foram alimentados com dietas contendo 60 g kg^{-1} de lipídios comparado com 75 g kg^{-1} . Esta condição não foi observada na salinidade de 45 g L^{-1} .

Tabela 3 – Desempenho zootécnico de camarões (peso inicial = $2,94 \pm 0,28$ g) cultivados sob condição isosmótica e hiperosmótica de salinidade, alimentados com dietas com variação no conteúdo total de Met. (7, 8 e 9 g kg^{-1} da dieta) e lipídios (60 e 75 g kg^{-1}).

Salinidade (g L^{-1})	Dieta		Desempenho do camarão				
	Met	Lipídios	Sobrevivência final (%)	Produtividade (g m^{-2})	Crescimento (g semana $^{-1}$)	CAR (g camarão $^{-1}$)	FCA
23	7	75	$71,4 \pm 10,5$	623 ± 98	$1,16 \pm 0,08$	$13,9 \pm 0,5$	$2,29 \pm 0,38$
	8		$70,7 \pm 9,7$	581 ± 99	$1,12 \pm 0,13$	$13,5 \pm 0,6$	$2,39 \pm 0,49$
	9		$68,7 \pm 8,3$	596 ± 88	$1,17 \pm 0,06$	$13,8 \pm 0,1$	$2,36 \pm 0,37$
	7	60	$68,9 \pm 7,6$	630 ± 59	$1,22 \pm 0,09$	$14,0 \pm 0,5$	$2,25 \pm 0,25$
	8		$73,2 \pm 6,5$	666 ± 65	$1,19 \pm 0,09$	$13,9 \pm 0,5$	$2,11 \pm 0,22$
	9		$67,5 \pm 3,6$	636 ± 51	$1,27 \pm 0,06$	$14,1 \pm 0,3$	$2,22 \pm 0,17$
45	7	75	$99,5 \pm 1,3$	804 ± 75	$0,94 \pm 0,09$	$12,9 \pm 0,7$	$1,61 \pm 0,11$
	8		$98,5 \pm 2,8$	806 ± 45	$0,96 \pm 0,07$	$12,9 \pm 0,7$	$1,60 \pm 0,08$
	9		$100,0 \pm <0,01$	811 ± 68	$0,95 \pm 0,08$	$12,8 \pm 0,5$	$1,58 \pm 0,08$
	7	60	$100,0 \pm <0,01$	808 ± 60	$0,94 \pm 0,07$	$12,9 \pm 0,4$	$1,61 \pm 0,08$
	8		$98,3 \pm 2,0$	818 ± 34	$0,98 \pm 0,05$	$13,2 \pm 0,5$	$1,61 \pm 0,05$
	9		$99,4 \pm 1,4$	811 ± 38	$0,95 \pm 0,05$	$12,8 \pm 0,6$	$1,57 \pm 0,05$
ANOVA de Duas Vias			Sobrevivência	Produtividade	Crescimento	CAR	FCA
Salinidade			< 0,0001; 23 < 45	< 0,0001; 23 < 45	< 0,0001; 23 > 45	< 0,0001; 23 > 45	< 0,0001; 23 > 45
Met			ns	ns	ns	ns	ns
Lipídios			ns	ns	0,020; 75 < 60	ns	ns
Salinidade x Met			ns	ns	ns	ns	ns
Salinidade x Lipídios			ns	ns	ns	ns	ns
Met x Lipídios			ns	ns	ns	ns	ns
Salinidade x Met x Lipídios			ns	ns	ns	ns	ns

ns, não estatisticamente significativo

Gráfico 3 – Média (\pm erro padrão) do peso corporal final (g) dos camarões alimentados com dietas com variação nos níveis de metionina e conteúdo lipídico (Met/Lip), cultivados em salinidades isosmótica e hiperosmótica. Em cada salinidade de água, letras minúsculas e maiúsculas iguais indicam diferença estatística não significativa entre dietas com 75 e 60 g kg⁻¹ de conteúdo lipídico, respectivamente, ao nível de significância de 0,05 de acordo com o teste de Tukey HSD. Asteriscos indicam diferença estatística significativa entre dietas com o mesmo nível de metionina segundo o teste t de *Student*.



Tanto na condição iso como hiperosmótica, um aumento do nível de Met das dietas de 7 para 9 g kg⁻¹ combinado com um conteúdo lipídico de 75 g kg⁻¹ não resultou em um incremento no PC dos camarões. Já com um conteúdo lipídico de 60 g kg⁻¹ na salinidade isosmótica, houve um aumento progressivo no PC final dos camarões, sendo maximizado com a dieta contendo 9 g kg⁻¹ de Met. Na condição hiperosmótica, o PC final foi maximizado com 8 g kg⁻¹ de Met com o mesmo conteúdo lipídico

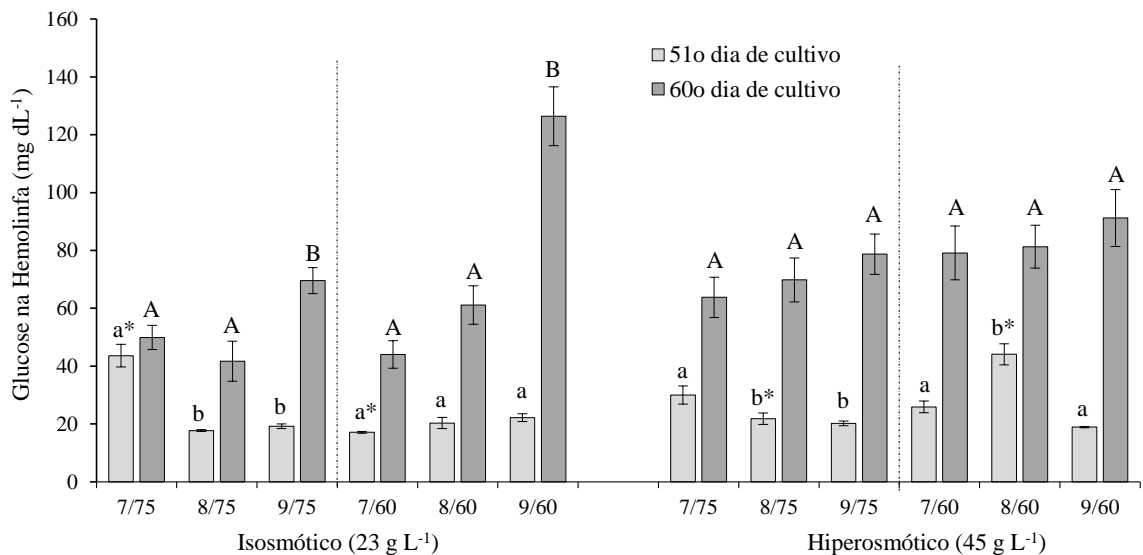
6.3 Conteúdo de glicose

Foi possível observar um aumento significativo ($P < 0,05$) na concentração da glicose na hemolinfa dos camarões entre a primeira (51º dia de cultivo) e segunda análise (60º dia de cultivo) em todos os tratamentos dietéticos e em ambas as salinidades. No 51º dia de cultivo na condição isosmótica, não houve diferença na concentração de glicose em camarões alimentados com dietas contendo 60 g kg⁻¹ de lipídios, independente do conteúdo de Met.

Porém, uma maior concentração foi identificada para animais alimentados com 7 g kg⁻¹ de Met no grupo de dietas contendo 70 g kg⁻¹ de lipídeos. Na análise subsequente, realizada no 60º dia de cultivo, uma maior concentração de glucose na hemolinfa foi encontrada para camarões alimentados com dietas com 9 g kg⁻¹ de Met, tanto para dietas com 60 como para 75 g kg⁻¹ de lipídeos.

Na salinidade hiperosmótica, foi observada uma concentração de glucose mais estável no 60º dia de cultivo ($P < 0,05$). Somente no 51º dia de cultivo, observou-se um aumento da glucose em camarões alimentados com níveis de Met de 7 e 8 g kg⁻¹, contendo respectivamente, 60 e 75 g kg⁻¹ de lipídeos.

Gráfico 4 - Conteúdo de glicose na hemolinfa de juvenis do *L. vannamei* cultivados sob condição isosmótica e hiperosmótica com dietas contendo diferentes níveis de metionina e lipídios. Em cada salinidade de água e conteúdo lipídico, letras minúsculas (dia 51º) e maiúsculas (dia 60º) iguais indicam diferença estatística não significativa entre dietas com diferentes níveis de metionina ao nível de significância de 0,05 de acordo com o teste de Tukey HSD. Os asteriscos indicam diferença estatística significativa entre dietas com o mesmo nível de metionina dentro da mesma salinidade segundo o teste t de Student.



7 DISCUSSÃO

7.1 Efeito do conteúdo lipídico nas diferentes salinidades

No presente estudo, uma redução do conteúdo lipídico das dietas, de 75 para 60 g kg⁻¹ incrementou de forma significativa o PC final dos camarões quando cultivados em condição isosmótica, independente dos níveis avaliados de Met dietética (7, 8 e 9 g kg⁻¹, base natural). Esses dados sugerem que quando cultivado em salinidades dentro do intervalo isosmótico, dietas com um menor conteúdo lipídico são preferíveis para o *L. vannamei*.

No estudo realizado com juvenis do *L. vannamei*, Xu *et al.* (2018) não identificaram uma melhoria no desempenho zootécnico de camarões (PC inicial de 2,0 ± 0,08 g) cultivados durante oito semanas na salinidade de 25 g L⁻¹ com um incremento do conteúdo lipídico das dietas (60, 90 e 120 g kg⁻¹ de lipídios totais). Entretanto, sob a salinidade de 3 g L⁻¹, os camarões alimentados com a dieta com 90 g kg⁻¹ de lipídios totais apresentaram um maior ganho de PC e maior taxa de crescimento específico comparado com os camarões alimentados com 60 e 120 g kg⁻¹ de lipídios.

Por outro lado, Chuphal *et al.* (2021) determinaram, com base no ganho percentual do PC do *L. vannamei* (5,51 ± 0,01 g), que a exigência lipídica para essa espécie cultivada sob a salinidade 10 g L⁻¹ varia entre 46,5 e 51,4 g kg⁻¹, utilizando dietas isonitrogenadas, contendo entre 356,2 e 365,3 g kg⁻¹ de PB. Quando os camarões foram alimentados com dietas com 79,1, 100,3 e 120,7 g kg⁻¹ de lipídios (na base seca) e 380 g kg⁻¹ de PB, os autores relataram um menor PC final e uma taxa de crescimento mais lenta associada com uma perda da eficiência alimentar. Portanto, o estudo de Chuphal *et al.* (2021) evidencia que em salinidades baixas, fora do ponto isosmótico da espécie, dietas com baixo teor lipídico apresentam melhor desempenho zootécnico.

Os resultados de Xu *et al.* (2018) na salinidade de 3 g L⁻¹ conflitam com os valores ideais de lipídios encontrados por Chuphal *et al.* (2021) para o *L. vannamei* mantido sob a salinidade de 10 g L⁻¹. Esses resultados corroboram parcialmente com o nosso estudo, já que um menor ganho no PC foi também associado com um maior conteúdo lipídico nas dietas avaliadas em condição isosmótica. Entretanto, não está claro se esses resultados também se aplicam a salinidades extremas, fora do intervalo isosmótico da espécie.

No presente estudo foi observado que na salinidade de 45 g L⁻¹, uma redução do conteúdo lipídico das dietas, de 75 para 60 g kg⁻¹, não resultou em um maior PC final dos

camarões. Segundo Hurtado *et al.* (2006), na medida que a salinidade desvia do ponto isomótico, o equilíbrio osmótico no camarão é modificado e o organismo gasta mais energia na osmorregulação e menos no crescimento. Entretanto, é possível que um conteúdo lipídico superior a 75 g kg^{-1} cause efeitos deletérios ao camarão. Nesse caso, é importante investigar se a energia digestível pode ser atendida mediante um aumento da PB na dieta ou de carboidratos digestíveis, como o amido.

Villarreal, Hernandez-Llamas e Hewwit (2003) estudaram o efeito da salinidade sob o desempenho zootécnico e consumo de oxigênio de juvenis do *Farfantepenaeus californiensis* com $5,86 \pm 0,14 \text{ g}$ cultivados nas salinidades entre 25 e 55 g L^{-1} . Os camarões foram alimentados por 75 dias com dietas contendo 360 g kg^{-1} de PB e lula congelada. Os autores observaram um menor crescimento e menor sobrevivência nos camarões cultivados em condições de hipersalinidade além de um aumento da taxa de consumo de oxigênio. Segundo os autores, essas respostas são reflexo dos organismos aos desequilíbrios osmorregulatórios e iônicos. Portanto, os camarões aumentaram sua demanda energética para cumprir uma função metabólica básica conforme a salinidade aumentava, resultando em uma menor disponibilidade de energia para o crescimento. Consequentemente, o cultivo do camarão *F. californiensis* em salinidades acima de 35 g L^{-1} provavelmente resultaria em uma menor produção.

No presente estudo, o incremento no teor de energia digestível (ED) entre as dietas contendo 60 e 75 g kg^{-1} de lipídios foi baixo, de 14,4 para $15,1 \text{ MJ kg}^{-1}$, respectivamente. Aparentemente, outros aspectos nutricionais podem estar mais associados a um aumento no desempenho zootécnico dos camarões cultivados em alta salinidade do que o conteúdo lipídico das dietas. De forma comparativa Zhu *et al.* (2010) determinaram que juvenis do *L. vannamei* com $0,56 \text{ g}$ cultivados na salinidade de 30 g L^{-1} e alimentados com dietas nessa mesma faixa de ED apresentaram o maior peso corporal final após oito semanas. Os autores avaliaram nove dietas práticas formuladas para conter três níveis de PB (380, 410 e 440 g kg^{-1}) em três níveis lipídicos (60, 80 e 100 g kg^{-1}). Os camarões alimentados com as dietas contendo 60 g kg^{-1} de lipídios apresentaram o maior crescimento comparado àqueles alimentados com 80 e 100 g kg^{-1} . Adicionalmente, os autores também reportaram que camarões alimentados com dietas contendo 440 g kg^{-1} PB apresentaram um maior ganho de peso comparado com aqueles alimentados com 380 g kg^{-1} , muito embora não tenha se diferenciado da dieta com 410 g kg^{-1} de PB.

Rosas *et al.* (2001c) especularam que devido a sua baixa exigência energética, o *L. vannamei* possui a capacidade de utilizar dietas com uma ampla variação da relação PB e

energia no seu crescimento. Os autores variaram o conteúdo de PB dietética (270, 330, 380 e 440 g kg⁻¹) com os respectivos níveis de lipídios (70, 85, 90 e 100 g kg⁻¹) e alimentaram juvenis do *L. vannamei* com duas classes de peso corporal (< 1 e > 1 g) sob a salinidade de 25 g L⁻¹. Em camarões com menos de 1 g, o maior peso corporal e maior taxa de crescimento foram detectados em camarões alimentados com a dieta contendo 440 g kg⁻¹ de PB e 100 g kg⁻¹ de lipídios totais. Por outro lado, os autores não observaram diferença no peso corporal dos camarões em função do conteúdo de PB e lipídios quando avaliaram juvenis com mais de 1 g de peso corporal.

No presente estudo, as dietas foram formuladas para manter concentrações similares dos *n*-3 LC-PUFA já que apenas a inclusão do óleo de soja foi aumentada para ajustar o teor lipídico das dietas. Na prática, associa-se um melhor desempenho zootécnico do *L. vannamei* cultivado em alta salinidade quando do uso de rações com um maior teor lipídico. Porém, rações com um maior conteúdo lipídico podem não conter níveis elevados de *n*-3 LC-PUFA caso a fonte seja, parcialmente ou totalmente, derivada de óleos ou gorduras advindas de ingredientes vegetais ou de animais terrestres. É possível que uma redução lipídica associada a um aumento nos níveis de *n*-3 LC-PUFA possa resultar em uma melhoria do desempenho zootécnico dos camarões cultivados em condições de hipersalinidade.

No estudo de Hurtado *et al.* (2006), os autores cultivaram juvenis do *L. vannamei* com $3,5 \pm 0,5$ g nas salinidades de 5, 30 e 50 g L⁻¹ durante 21 dias. Os camarões foram alimentados com dietas contendo entre 362 e 366 g kg⁻¹ de PB e 79 g kg⁻¹ de lipídios, porém com duas variações nos níveis de EPA (eicosapentaenoico, 20:5*n*-3) e DHA (docohexanoico, 22:6*n*-3), sendo uma baixa ($10 \pm 0,1$ g kg⁻¹ e $15 \pm 0,1$ g kg⁻¹, respectivamente) e a outra alta ($130 \pm 0,3$ e $150 \pm 0,6$ g kg⁻¹, respectivamente). Os autores identificaram uma influência benéfica sobre o crescimento dos camarões quando usaram uma concentração mais elevada de EPA e DHA na dieta. De acordo com os autores, os juvenis cultivados em salinidades elevadas gastaram menos energia na osmorregulação como resultado da diminuição da permeabilidade das membranas branquiais.

Da mesma forma, Castro, Burri e Nunes (2017) avaliaram o desempenho zootécnico de juvenis do *L. vannamei* cultivando camarões com $2,79 \pm 0,60$ g de peso corporal em condição isosmótica ($23 \pm 1,2$ g L⁻¹) e hiperosmótica ($44 \pm 2,0$ g L⁻¹). Foram formuladas dietas contendo diferentes fontes lipídicas (óleo de soja, óleo de anchova e óleo de krill), resultando em rações com perfis crescentes de EPA (entre 2,8 e 18,1 g kg⁻¹) e DHA (6,5 e 68 g kg⁻¹). Os autores reportaram que a dieta contendo 53,4 e 15,8 g kg⁻¹ de EPA e DHA,

respectivamente, promoveu um crescimento mais rápido nos camarões ($1,01 \pm 0,01$ g semana⁻¹) e um peso corporal final mais elevado ($11,97 \pm 2,01$ g), independente da salinidade da água. Esses resultados demonstram a importância da suplementação dietética de EPA e DHA, especialmente quando o *L. vannamei* é cultivado sob ambientes de hiper salinidade. Portanto, a suplementação lipídica das dietas contendo fontes ricas em *n*-3 LC-PUFA parece ser mais relevante do que o conteúdo lipídico da dieta quando em cultivos de alta salinidade.

Porém, em cultivos realizados dentro da faixa isosmótica, a suplementação dietética de *n*-3 LC-PUFA parece ser desnecessária. Gonzáles-Felix *et al.* (2002b) alimentaram juvenis do *L. vannamei* com $1,42 \pm 0,10$ g por seis semanas com dietas contendo três níveis lipídicos (30, 60 e 90 g kg⁻¹) e três níveis de ácidos graxos essenciais (5, 10 e 20 g kg⁻¹ da dieta) na salinidade de $25 \pm 0,7$ g L⁻¹. Os autores reportaram que os resultados não indicaram que existe um aumento nas exigências quantitativas de AGE (ácidos graxos essenciais) com um aumento dos níveis de suplementação de lipídios na dieta. Esses resultados sugerem que *L. vannamei* pode ser capaz de satisfazer suas necessidades de *n*-3 LC-PUFA quando se ministra apenas 5 g kg⁻¹ de AGE na dieta, em condição isosmótica.

7.2 Efeito dos níveis de metionina nas diferentes salinidades

Os camarões não apresentaram diferença significativa no PC final dentro dos níveis de Met avaliados. Porém, na salinidade de 45 g L⁻¹, um benefício no PC dos camarões foi detectado ao nível de 8 g kg⁻¹ de Met dietética no presente estudo, em condição isosmótica. Aparentemente, níveis mais elevados de AAE são necessários para maximizar o ganho de PC dos camarões quando cultivados em salinidades mais altas. Huai *et al.* (2009) determinaram que juvenis do *L. vannamei* ($0,48 \pm 0,01$ g), cultivados sob a salinidade entre 0,50 e 1,50 g L⁻¹, necessitaram de 13,6 g kg⁻¹ de treonina (base seca) para maximizar seu crescimento. Já na salinidade entre 26 e 29 g L⁻¹ juvenis do *L. vannamei* ($0,53 \pm <0,001$ g) exigiram níveis mínimos de 15,1 g kg⁻¹ de treonina (base seca) (ZHOU *et al.*, 2013). Juvenis do *L. vannamei* ($0,50 \pm <0,001$ g) cultivados sob a salinidade entre 26 e 29 g L⁻¹ necessitam de 23, 2 g kg⁻¹ de arginina (base seca) (ZHOU *et al.*, 2012).

De forma comparativa Alam *et al.* (2004) reportaram que juvenis do camarão kuruma, *Marsupenaeus japonicus*, com PC inicial de $0,25 \pm 0,02$ g, cultivados sob a salinidade de $33,5 \pm 0,61$ g L⁻¹, necessitam de níveis mínimos de 13,6 g kg⁻¹ de arginina (base seca) para maximizar seu crescimento. Liu *et al.* (2014a) reportaram que a exigência de isoleucina para

juvenis do *L. vannamei* ($0,43 \pm 0,005$ g), cultivados sob baixa salinidade entre $0,50$ e $0,70$ g L⁻¹ foi de $15,95$ g kg⁻¹ de dieta (base seca). Essa diferença pode ser explicada pelo maior custo de manutenção exigido em alta salinidade durante o processo de osmorregulação. Os camarões canalizam uma parcela do nitrogênio aminoacídico para o crescimento, enquanto uma pequena parcela é dedicada para a manutenção.

Richard *et al.* (2009) avaliaram as exigências de nitrogênio, lisina (Lis) e metionina para manutenção e crescimento de juvenis do *Penaeus monodon* com um peso inicial de $2,4 \pm <0,001$ g sob salinidade de $30,8 \pm 1,8$ g kg⁻¹. Os camarões foram alimentados durante seis semanas com dez dietas semi-purificadas contendo quatro níveis diferentes PB e dois níveis de Lis ou Met (adequado e/ou 30% deficiente). Os autores determinaram, mediante quatro modelos de regressão que as exigências de manutenção e crescimento para PB dos camarões é de $4,5$ e $23,9$ g kg⁻¹ do PC por dia, respectivamente. As exigências de Lis e Met são de $0,20$ e $1,40$, e $0,1$ e $0,70$ g kg⁻¹ do PC por dia, respectivamente. Essas exigências de AAE expressos em percentagem da proteína resultariam em $5,8$ e $2,9\%$ de Lis e Met, respectivamente. Esses resultados sobre as exigências de AA em camarões sugerem que as dietas dos camarões precisam atender valores mais elevados de AAE com um incremento da salinidade da água.

7.3 Efeito da salinidade sobre o desempenho zootécnico

Neste estudo um incremento da salinidade de 23 para 45 g L⁻¹, resultou em um menor PC final dos camarões em todos os tratamentos avaliados. Os camarões cultivados em condição isosmótica apresentaram um menor desempenho zootécnico, em termos de sobrevivência, ganho de produtividade, consumo aparente de ração e FCA, comparado aos animais em condição hiperosmótica. Isso foi resultado principalmente de uma menor sobrevivência durante a aclimatação. No entanto Sui, Ma e Deng (2015) observaram que o *L. vannamei* com $0,089 \pm 0,002$ g de PC cultivados sob uma salinidade de 60 g L⁻¹ por 40 dias apresentaram uma redução entre 40 e 50% do PC. Os autores avaliaram dietas semi-purificadas formuladas para conter quatro níveis de PB (350 , 400 , 450 e 500 g kg⁻¹). Os camarões foram cultivados sob as salinidades de 30 e 60 g L⁻¹. Segundo os autores, foi detectada uma maior taxa de sobrevivência, porém com uma redução de 40 - 50% no PC sob a salinidade de 60 g L⁻¹. Esses resultados sugerem que o *L. vannamei*, quando cultivado em condição hiperosmótica (60 g L⁻¹), precisa gastar mais energia no metabolismo e na osmorregulação. No presente estudo, muito embora os camarões sob condições isosmótica cresceram mais rápido e

alcançaram um maior peso corporal na despesca, esses não alcançaram um maior ganho de produtividade comparado àqueles cultivados em hipersalinidade.

Por outro lado, Gao *et al.* (2016) avaliaram o efeito da salinidade no desempenho zootécnico do *L. vannamei*. Os camarões com PC inicial de $0,31 \pm 0,02$ g, foram cultivados por oito semanas e alimentados com dietas formuladas contendo 423,4 de PB g kg^{-1} , 80,2 g kg^{-1} de lipídios totais na salinidade de 2, 10, 20 e 30 g L^{-1} . Os autores observaram que os camarões cultivados sob salinidade de 2 g L^{-1} alcançaram o menor PC final, taxa de crescimento e sobrevivência. Além disso, os camarões cultivados sob salinidades de 20 e 30 g L^{-1} apresentaram um maior PC final e a taxa de crescimento específica, quando comparados com animais cultivados sob outras salinidades. Porém, não foi detectada diferença significativa no PC final e na taxa de crescimento entre nas salinidades 20 e 30 g L^{-1} . Esses resultados são conflitantes com os de Perez *et al.* (2007) que cultivaram juvenis do *L. vannamei* ($0,36 \pm 0,02$ g) sob as salinidades de 2, 35 e 50 g L^{-1} . Os camarões foram alimentados durante 32 dias com dietas experimentais contendo entre 250 e 400 g kg^{-1} de PB. Os autores observaram um efeito significativo da salinidade sob o crescimento dos camarões e do nível de PB na sobrevivência. Os camarões cultivados em baixa salinidade (2 g L^{-1}) apresentaram um PC final e ganho de peso significativamente maior do que os animais mantidos sob as salinidades de 35 e 50 g L^{-1} .

Rosas *et al.* (2001a) cultivaram juvenis de *L. vannamei* ($0,36 \pm 0,009$ g) sob as salinidades entre 15 e 40 g L^{-1} . Os camarões foram alimentados durante 30 dias com dietas contendo entre 30 e 50 g kg^{-1} PB e 10 e 36 g kg^{-1} de carboidratos. Os autores observaram que a taxa máxima de crescimento ocorreu em camarões mantidos sob a salinidade de 15 g L^{-1} com a dieta que continha o nível mais baixo de carboidratos e alto conteúdo de proteína. Houve uma redução na taxa de crescimento dos camarões alimentados com a dieta que continha os valores mais baixos de PB e carboidratos mantidos sob a salinidade de 40 g L^{-1} . Esses resultados estão de acordo com relatos de crescimento superior e inferior de *L. vannamei* cultivados sob condições hipo e hiperosmóticas, respectivamente, em comparação ao que geralmente é observado em condições isosmóticas.

7.4 Resposta ao metabolismo da glicose em diferentes níveis de Met e lipídios na dieta de camarões

No presente estudo, foi observado o valor mais elevado na concentração de glicose em camarões alimentados com a dieta 9/60 tanto na condição isosmótica ($126,4 \text{ mg dL}^{-1}$) como

hiperosmótica (91,2 mg dL⁻¹). A glicose é um carboidrato importante como fonte de energia para as células, nos organismos aquáticos. Esse composto funciona como um produto intermediário do metabolismo sendo um importante parâmetro para verificar as condições fisiológicas de animais aquáticos (LONG *et al.*, 2021). As maiores concentrações de glicose na hemolinfa ao final do cultivo experimental em ambos os sistemas (hiper e isosmótico) confirmou a afirmação de Racotta e Palacios (1998) de que os níveis de glicose na hemolinfa de crustáceos são mais elevados devido às condições de crescimento, aumento da demanda de energia, que causa estresse no animal. Uma pesquisa com a espécie *L. vannamei* demonstrou que os carboidratos presentes na hemolinfa dos camarões interferem no crescimento do animal (COUSIN, 1995). Comparando com os resultados do presente estudo, o crescimento dos animais foi diferente também devido as diferenças nas salinidades. O maior crescimento dos animais ocorreu na condição isosmótica resultando em valores mais elevados de glicose na hemolinfa. Segundo Long *et al.* (2021) o aumento na capacidade metabólica de um organismo resulta em um aumento de glicose na hemolinfa.

Os mecanismos responsáveis para a utilização de glicose por algumas espécies de camarões peneídeos ainda não são totalmente compreendidos (ROSAS *et al.*, 2000). Nesse estudo foi possível observar que ocorreu uma diferenciação em relação ao comportamento da glicose comparando os tratamentos com a mesma concentração de Met e diferentes concentrações de lipídios. Em condição isosmótica, houve uma redução da concentração de glicose com a redução da concentração de lipídios. Porém, em condição hiperosmótica ocorreu um aumento da concentração de glicose com a redução da concentração de lipídios, demonstrando que o metabolismo da glicose está diretamente relacionado à demanda de energia do organismo.

8 CONCLUSÕES

Em condição hiperosmótica juvenis do *L. vannamei* melhoram seu desempenho zootécnico com dietas contendo um menor conteúdo de metionina total (8 g kg^{-1} , base úmida) comparado com a condição isosmótica (9 g kg^{-1}). Dentro das faixas investigadas de salinidade, um aumento no conteúdo lipídico dietético, de 60 para 75 g kg^{-1} , foi deletério (condição isosmótica) ou não promoveu um aumento no desempenho zootécnico dos camarões, independentemente dos níveis de metionina da dieta. A salinidade de 45 g L^{-1} causou um retardo no crescimento comparado a salinidade isosmótica. E como perspectiva para futuras pesquisas é preciso avaliar o efeito dos níveis de proteína da dieta em resposta a diferentes salinidades e determinar os níveis ideais do conteúdo lipídico e de Met na dieta em salinidades mais extremas (< 15 e $> 45 \text{ g L}^{-1}$).

REFERÊNCIAS

- ALAM, M. S.; TESHIMA, S.; ISHIKAWA, M.; HASEGAWA, D.; KOSHIO, S. Dietary arginine requirement of juvenile kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* (Bate). **Aquaculture Research**, [S.L.], v. 35, n. 9, p. 842-849, jul. 2004.
- AOAC. Determination of Moisture, Ash, Protein and Fat. **Official Method of Analysis of the Association of Analytical Chemists**. 18th Edition, AOAC, Washington DC, 2005.
- CASTILLE, F. L.; LAWRENCE, A. L. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. **Comparative Biochemistry And Physiology Part A: Physiology**, [S.L.], v. 68, n. 1, p. 75-80, jan. 1981.
- CASTRO, O.S.; BURRI, L.; NUNES, A.J.P. Astaxanthin krill oil enhances the growth performance and fatty acid composition of the Pacific whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared under hypersaline conditions. **Aquaculture Nutrition**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 442-452, 22 jun 2018.
- CAVALHEIRO, T. B.; CONCEIÇÃO, M. M; RIBEIRO, THAIS TERESA BRANDÃO CAVALHEIRO. Crescimento do camarão *Litopenaeus vannamei* em viveiros e tanques utilizando efluente do processo de dessalinização. **Gaia Scientia**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 319-337, 2016.
- CHARMANTIER, G. et al. Salinity tolerance and osmoregulatory capacity as indicators of the physiological state of penaeid shrimps. **European Aquaculture Society**, v. 10, p. 65-66, 1989.
- CHEN, J. C.; LIN, C. Y. Responses of oxygen consumption, Ammonia-N excretion and Urea-N excretion of *Penaeus chinensis* exposed to ambient ammonia at different salinity and pH levels. **Aquaculture**, [S.L.], v. 136, n. 3-4, p. 243-255, nov. 1995.
- CHUPHAL. N.; SARDAR, P.; SAHU, N. P.; SHAMNA, N.; HARIKRISHNA, V.; MAITI, M. K.; MANNUR, V. S.; JANA, P.; PAUL, M.; KRISHNA, G. Effects of graded dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and metabolism in juvenile white leg shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) reared in inland saline water of 10 g/L salinity: **Aquaculture Nutrition**, [S.L.], v. 283, p. 156-162, 17 ago. 2021.
- CLAYBROOK, D. L. Nitrogen metabolism. In: Mantel, L.H. Ed. **The Biology of Crustacea, Internal Anatomy and Physiological Regulation**, v. 5. Academic Press, New York, 1983. p. 163–213.
- Cousin, M. Etude de l'utilisation des glucides et du rapport proteines-energie chez les deux especes de crevettes peneides, *Penaeus vannamei* et *Penaeus stylirostris*. These, **INRA Paris Grignon**. 1995.
- ESPARZA-LEAL. H. M.; PONCE-PALAFIX, J. T.; CERVANTES-CERVANTES, C. M.; VALENZUELA-QUIÑÓNEZ, W.; LUNA-GONZÁLEZ, A.; LÓPEZ-ÁLVAREZ, E. S.; VÁZQUEZ-MONTOYA, N.; LÓPEZ-ESPINOZA, M.; GÓMEZ-PERAZA, R. L. Effects of low salinity exposure on immunological, physiological and growth performance in *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, [S.L.], v. 50, n. 3, p. 944-950, 15 jan. 2019.

EWAN, R.C. Predicting the energy utilization of diets and feed ingredients by pigs. **Energy Metabolism, European Association of Animal Production Bulletin**. Pudoc Wageningen, Netherlands, n. 43, p. 271-274, 1989.

FAÇANHA, F. N.; OLIVEIRA-NETO, A. R.; FIGUEIREDO-SILVA, C.; NUNES, A. J. P. Effect of shrimp stocking density and graded levels of dietary methionine over the growth performance of *Litopenaeus vannamei* reared in a green-water system. **Aquaculture**, v. 463, p. 17 – 21, 2016.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture: Sustainability in Action**. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020.

FIGUEIREDO-SILVA, C.; LEMME, A.; SANGSUE, D.; KIRIRATNIKOM, S. Effect of DL-methionine supplementation on the success of almost total replacement of fish meal with soybean meal in diets for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus*). **Aquac. Nutr.**, 21, p. 234–241. 2015.

GAO, W.; TIAN, L.; HUANG, T.; YAO, M.; HU, W.; XU, Q. Effect of salinity on the growth performance, osmolarity and metabolism-related gene expression in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Reports**, [S.L.], v. 4, p. 125-129, nov. 2016.

GLENCROSS, B.; BLYTH, D.; WADE, N.; ARNOLD, S. Critical variability exists in the digestible value of raw materials fed to black tiger shrimp, *Penaeus monodon*: the characterisation and digestibility assessment of a series of research and commercial raw materials. **Aquaculture**, [S.L.], v. 495, p. 214-221, out. 2018.

GONG, H.; JIANG, D.-H.; LIGHTNER, D.V.; COLLINS, C.; BROCK, D.. A dietary modification approach to improve the osmoregulatory capacity of *Litopenaeus vannamei* cultured in the Arizona desert. **Aquaculture Nutrition**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 227-236, ago. 2004a.

GONG, H.; HUO JIANG, D.; L. LAWRENCE, A.; GONZÁLEZ- FÉLIX, M. L.; PEREZ-VELAZQUEZ, M. Nuevos Avances en el Estudio de Fosfolípidos Nutrimientales para Camarón. **Avances en Nutrición Acuicola**, [S. l.], 2004b.

GONZÁLEZ-FÉLIX, M. L.; GATLIN, D. M.; LAWRENCE, A. L.; PEREZ-VELAZQUEZ, M. Effect of Various Dietary Lipid Levels on Quantitative Essential Fatty Acid Requirements of Juvenile Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Journal Of The World Aquaculture Society**, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 330-340, set. 2002b.

GONZÁLEZ-FÉLIX, M. L.; PEREZ-VELAZQUEZ, M.; QUINTERO-ALVAREZ, J. M.; DAVIS, D. A. Effect of Various Dietary Levels of Docosahexaenoic and Arachidonic Acids and Different n-3/n-6 Ratios on Biological Performance of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Raised in Low Salinity. **Journal Of The World Aquaculture Society**, [S.L.], v. 40, n. 2, p. 194-206, abr. 2009.

GONZÁLEZ-FÉLIX, M.L.; PÉREZ-VELÁZQUEZ, M. Current status of lipid nutrition of Pacific white shrimp *L. vannamei* **Avances en Nutrición Acuicola VI**. Memorias del VI

Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3-6 septiembre, 2002. Cancun, Quintana Roo. México, pp: 35-45. 2002a.

GUO, J.; ZHOU, W.; LIU, SHASHA; ZHANG, WENBING; MAI, KANGSEN. Efficacy of crystalline methionine and microencapsulation methionine in diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, [S.L.], v. 51, n. 10, p. 4206-4214, 30 jul. 2020.

HAGEN, S.; FROST. B.; AUGUSTIN, J. Precolumn Phenylisothiocyanate Derivatization and Liquid Chromatography of Amino Acids in Food. **Journal - Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, 1989.

HUAI, M. Y.; TIAN, L. X.; LIU, Y. J.; XU, A. L.; LIANG, G. Y.; YANG, H. J. Quantitative dietary threonine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) reared in low-salinity water. **Aquaculture Research**, [S.L.], v. 40, n. 8, p. 904-914, maio 2009.

HURTADO, M. A.; RACOTTA, I. S.; ARJONA, O.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, M.; GOYTORTÚA, E.; CIVERA, R.; PALACIOS, E. Effect of hypo- and hyper-saline conditions on osmolarity and fatty acid composition of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) fed low- and high-HUFA diets. **Aquaculture Research**, [S.L.], v. 37, n. 13, p. 1316-1326, set. 2006.

JIN, Y.; LIU, F. J.; LIU, Y. J.; TIAN, L. X. Dietary Phenylalanine Requirement of the Juvenile Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) Reared in Low-Salinity Water. **Journal Of Shellfish Research**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 35, 17 abr. 2019.

LI, E.; CHEN, L.; ZENG, C.; YU, N.; XIONG, Z.; CHEN, X.; QIN, J. G. Comparison of digestive and antioxidant enzymes activities, haemolymph oxyhemocyanin contents and hepatopancreas histology of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at various salinities. **Aquaculture**, [S.L.], v. 274, n. 1, p. 80-86, jan. 2008.

LI, E.; WANG, X.; CHEN, K.; XU, C.; QIN, J. G.; CHEN, L. Physiological change and nutritional requirement of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low salinity. **Reviews In Aquaculture**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 57-75, 2 jul. 2015.

LIGNOT, J. H.; CHARMANTIER, G. OSMOREGULATION AND EXCRETION. IN: WATLING, LES; CHANG, ERNEST S.; THIEL, MARTIN. **The Natural history of crustacea: physiology**. 4. ed. Oxford: Oxford University Press, 2015. Cap. 8. p. 249-285.

LIU, F. J.; LIU, Y. J.; TIAN, L. X., LI, X. F.; ZHANG, Z. H.; YANG, H. J.; DU, Z. Y. Quantitative dietary isoleucine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) reared in low-salinity water. **Aquaculture International**. [S.L.], v. 22, n. 4, p. 1481-1497, 2 mar. 2014a.

LIU, F. J.; LIU, Y. J.; TIAN, L. X.; CHEN, W. D.; YANG, H. J.; DU, Z. Y. Quantitative dietary leucine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) reared in low-salinity water. **Aquaculture Nutrition**, [S.L.], v. 20, n. 3, p. 332-340, 21 jan. 2014b.

LONG, J.; CUI, Y.; WANG, R.; CHEN, Y.; ZHAO, N.; WANG, C.; LI, Y. Combined effects of high salinity and ammonia-N exposure on the energy metabolism, immune response, oxidative

resistance and ammonia metabolism of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Reports**, [S.L.], v. 20, p. 100648, jul. 2021.

LORENZON, S.; EDOMI, P.; GIULIANINI, P. G., METTULIO, R.; FERRERO, E. A. Variation of crustacean hyperglycemic hormone (cHH) level in the eyestalk and haemolymph of the shrimp *Palaemon elegans* following stress. **Journal Of Experimental Biology**, [S.L.], v. 207, n. 24, p. 4205-4213, 15 nov. 2004.

MANTEL, L. H.; FARMER, L. L. OSMOTIC AND IONIC REGULATION: OSMOTIC AND IONIC REGULATION. IN: MANTEL, LINDA H. **The Biology of Crustacea: internal anatomy and physiological regulation**. 5. ed. New York: Academic Press, 1983. Cap. 2. p. 53-161.

MOREIRA, F. H. G.; LIMA, F. R. S.; CAVALCANTE, D. H.; SÁ, M. V. C. Ionic balance of water and physical-chemical properties of soil from marine shrimp farms of the Jaguaruna interior county, Ceará, Brazil. **Ciênc. anim. bras.**, Goiânia, v. 21, e-56913, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-6891v21e-56913>. Acesso em: 14 fev. 2021.

NRC (National Research Council). Nutrient requirements of fish. **National Academy Press**, Washington DC, p. 114, 2011.

NUNES A. J. P.; PARSONS G. J. Size-related feeding and gastric evacuation measurements for the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 187, p. 133-151, 2000.

NUNES, A.J.P.; SÁ, M. V. C. NETO, H. Growth performance of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed on practical diets with increasing levels of the Antarctic krill meal, *52 Euphausia superba*, reared in clear versus green-water culture tanks. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, p. 511-520, 2011.

NUNES, A. J.; SÁ, M. V.; BROWDY, C. L.; VAZQUEZ-ANON, M. Practical supplementation of shrimp and fish feeds with crystalline amino acids. **Aquaculture**, [S.L.], v. 431, p. 20-27, jul. 2014.

NUNES, A. J.; SABRY-NETO, H.; MASAGOUNDER, K. Crude protein in low-fish meal diets for juvenile *Litopenaeus vannamei* can be reduced through a well-balanced supplementation of essential amino acids. **Journal Of The World Aquaculture Society**, [S.L.], v. 50, n. 6, p. 1093-1107, 28 mar. 2019.

PEQUEUX, A. Osmotic Regulation in Crustaceans. **Journal Of Crustacean Biology**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 1, fev. 1995. Oxford University Press (OUP).

PEREZ-VELAZQUEZ, M.; GONZÁLEZ-FÉLIX, M. L.; JAIMES-BUSTAMENTE, F.; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R.; TRUJILLO-VILLALBA, D. A.; DAVIS, D. A. Investigation of the Effects of Salinity and Dietary Protein Level on Growth and Survival of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal Of The World Aquaculture Society**, [S.L.], v. 38, n. 4, p. 475-485, dez. 2007.

Ponce-Palafox, J. T.; Pavia, Á. A.; López, D. G. M.; Arredondo-Figueroa, J. L.; Lango-Reynoso, F.; del Refugio Castañeda-Chávez, M.; Peraza-Gómez, V. Response Surface Analysis of

Temperature-Salinity Interaction Effects on Water Quality, Growth and Survival of Shrimp *Penaeus Vannamei* Postlarvae Raised in Biofloc Intensive Nursery Production. *Aquaculture*, vol. 503, Mar. 2019, pp. 312–321,

RACOTTA, I. S.; PALACIOS, E. Hemolymph Metabolic Variables in Response to Experimental Manipulation Stress and Serotonin Injection in *Penaeus vannamei*. **Journal of the world aquaculture society**, [S. l.], v. 29, n. 3, p. 351-356, 20 set. 1998.

RICHARD, L.; BLANC, P. P.; RIGOLET, V.; KAUSHIK, S. J.; GEURDEN, I. Maintenance and growth requirements for nitrogen, lysine and methionine and their utilisation efficiencies in juvenile black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, using a factorial approach. **British Journal Of Nutrition**, [S.L.], v. 103, n. 7, p. 984-995, 30 nov. 2009.

ROSAS, C.; CUZON, G.; GAXIOLA, G.; LE PRIOL, Y.; PASCUAL. C.; ROSSIGNYOL, J.; VAN WORMHOUDT, A. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, [S.L.], v. 259, n. 1, p. 1-22, abr. 2001a.

ROSAS, C.; CUZON, G.; GAXIOLA, G.; ARENA, L.; LEMAIRE, P.; SOYEZ, C.; VAN WORMHOUDT, A. Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *Litopenaeus stylirostris*. **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, [S.L.], v. 249, n. 2, p. 181-198, jun. 2000.

ROSAS, C.; CUZON, G.; GAXIOLA, G.; PASCUAL. C.; TABOADA, G.; ARENA, L.; VAN WORMHOUDT, A. An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, [S.L.], v. 268, n. 1, p. 47-67, fev. 2002.

ROSAS, C.; LÓPEZ, N.; MERCADO, P.; MARTÍNEZ, E. Effect of Salinity Acclimation on Oxygen Consumption of Juveniles of the White Shrimp *Litopenaeus Vannamei*. **Journal Of Crustacean Biology**, [S.L.], v. 21, n. 4, p. 912-922, 1 jan. 2001b.

ROSAS, C.; CUZON, G.; TABOADA, G.; PASCUAL. C.; GAXIOLA, G.; VAN WORMHOUDT, A. Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumption, haemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. setiferus* (Linne) juveniles (Crustacea, Decapoda; Penae). **Aquaculture Research**, [S.L.], v. 32, n. 7, p. 531-547, jul. 2001c.

ROY, L. A.; BORDINHON, A.; SOOKYING, D.; DAVIS, D. A.; BROWN, T. W.; WHITIS, G. N. Demonstration of alternative feeds for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters of west Alabama. **Aquaculture Research**, [S.L.], v. 40, n. 4, p. 496-503, fev. 2009b.

ROY, L. A.; DAVIS, D. A.; NGUYEN, T. N.; SAOUD, I. P. Supplementation of Chelated Magnesium to Diets of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Reared in Low-salinity Waters of West Alabama. **Journal Of The World Aquaculture Society**, [S.L.], v. 40, n. 2, p. 248-254, abr. 2009a.

ROY, L. A.; DAVIS, D. A.; SAOUD, I. P. Effects of lecithin and cholesterol supplementation

to practical diets for *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity waters. **Aquaculture**, [S.L.], v. 257, n. 1-4, p. 446-452, jun. 2006.

ROY, L. A.; DAVIS, D. A.; WHITIS, G. N. Effect of Feeding Rate and Pond Primary Productivity on Growth of *Litopenaeus vannamei* Reared in Inland Saline Waters of West Alabama. **North American Journal Of Aquaculture**, [S.L.], v. 74, n. 1, p. 20-26, jan. 2012.

ROY, L.A.; DAVIS, D.A.; SAOUD, I.P.; HENRY, R.P. Supplementation of potassium, magnesium and sodium chloride in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters. **Aquaculture Nutrition**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 104-113, abr. 2007.

RUFINO, L. A.; PINHEIRO, S. S.; BURRI, L.; NUNES, A. J. Dietary supplementation of astaxanthin krill oil enhances the growth performance of juvenile *Litopenaeus vannamei* raised intensively in enclosed and exposed tank systems under salinity stress. **Journal Of Applied Aquaculture**, [S.L.], v. 33, n. 4, p. 344-359, 4 maio 2020.

SAOUD, I. P.; DAVIS, D. A. Effects of Betaine Supplementation to Feeds of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* Reared at Extreme Salinities. **North American Journal Of Aquaculture**, [S.L.], v. 67, n. 4, p. 351-353, 1 out. 2005.

SHINJI, J.; OKUTSU, T.; JAYASANKAR, V.; JASMANI, S.; WILDER, M. N. Metabolism of amino acids during hyposmotic adaptation in the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*: metabolism of amino acids during hyposmotic adaptation in the whiteleg shrimp, *litopenaeus vannamei*. **Amino Acids**, [S.L.], v. 43, n. 5, p. 1945-1954, 15 mar. 2012.

SICCARDI III, A. J.; LAWRENCE, A. L.; GATLIN III, D. M.; FOX, J. M.; CASTILLE, F. L.; PEREZ-VELAZQUEZ, M.; GONZÁLEZ-FÉLIX, M. L. Digestibilidad Aparente de Energía, Proteína y Materia Seca de Ingredientes Utilizados en Alimentos Balanceados para el Camarón Blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*. **Avances en Nutrición Acuicola**, [S. l.], 2019.

SILVÃO, C. F. **Rações para otimizar o crescimento e eficiência alimentar do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792)**. 2016. 105 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016. Disponível em: http://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/22573/1/2016_tese_cfsilvao.pdf. Acesso em: 10 nov. 2021.

SILVIA, G. J.; ANTONIO, U. R. A.; FRANCISCO, V. O.; GEORGINA, H. W. Ammonia efflux rates and free amino acid levels in *Litopenaeus vannamei* postlarvae during sudden salinity changes. **Aquaculture**, [S.L.], v. 233, n. 1-4, p. 573-581, abr. 2004.

SUI, L.; MA, G.; DENG, Y. Effect of dietary protein level and salinity on growth, survival, enzymatic activities and amino-acid composition of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) juveniles. **Crustaceana**, [S.L.], v. 88, n. 1, p. 82-95, 2015.

SUN, Y. P.; GUAN, L. Z.; XIONG, J. H.; XI, Q. Y.; ZHANG, Y. L. Effects of l-tryptophan-supplemented dietary on growth performance and 5-HT and GABA levels in juvenile *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture International**. [S.L.], v. 23, n. 1, p. 235-251, 23 jul. 2015.

VALDEZ, G. DÍAZ, F.; RE, A. D.; SIERRA, E. Efecto de la salinidad sobre la fisiología

energética del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone). **Hidrobiológica**, México, v. 18, n. 2, p. 105-115, agosto 2008.

VICTORIA, L. O. Energía Metabolizable y Eficiencia Neta de Crecimiento Bajo el Efecto de Variaciones Medioambientales en el Camarón. **Avances en Nutrición Acuicola**, [S. l.], 1998.

VILLARREAL. H.; HERNANDEZ-LLAMAS, A.; HEWITT, R. Effect of salinity on growth, survival and oxygen consumption of juvenile brown shrimp, *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes). **Aquaculture Research**, [S.L.], v. 34, n. 2, p. 187-193, jan. 2003.

VILLARREAL. H.; HINOJOSA, P.; NARANJO, J. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus vannamei* postlarvae. **Comparative Biochemistry And Physiology Part A: Physiology**, [S.L.], v. 108, n. 2-3, p. 331-336, jun. 1994.

WANG, X.; LI, E.; QIN, J. G.; WANG, S.; CHEN, X.; CAI, Y.; CHEN, L. Growth, Body Composition, And Ammonia Tolerance Of Juvenile White Shrimp *Litopenaeus vannamei* Fed Diets Containing Different Carbohydrate Levels At Low Salinity. **Journal Of Shellfish Research**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 511-517, 2014.

WHITE, H. B.; MILLER, M. S. Isolation of avian riboflavin-binding protein. **Methods in Enzymology**, v. 122, p. 227-234, 1986.

XIE, S.W.; TIAN, L.X.; JIN, Y.; YANG, H.J.; LIANG, G.Y.; LIU, Y.J. Effect of glycine supplementation on growth performance, body composition and salinity stress of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* fed low fishmeal diet. **Aquaculture**, [S.L.], v. 418-419, p. 159-164, jan. 2014.

XU, C.; LI, E.; LIU, Y., WANG, S.; WANG, X.; CHEN, K.; CHEN, L. Effect of dietary lipid level on growth, lipid metabolism and health status of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at two salinities. **Aquaculture Nutrition**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 204-214, 24 mar. 2017.

YUAN, Y. C.; GONG, S. Y.; YANG, H. J.; LIN, Y. C.; YU, D. H.; LUO, Z. Effects of supplementation of crystalline or coated lysine and/or methionine on growth performance and feed utilization of the Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. **Aquaculture**, [S.L.], v. 316, n. 1-4, p. 31-36, jun. 2011.

ZHOU, Q. C.; WANG, Y. L.; WANG, H. L.; TAN, B. Dietary threonine requirements of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, [S.L.], v. 392-395, p. 142-147, maio 2013.

ZHOU, Q. C.; ZENG, W. P.; WANG, H. L.; WANG, T.; WANG, Y. L.; XIE, F. J. Dietary arginine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, [S.L.], v. 364-365, p. 252-258, out. 2012.