



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

FELIPE NOBRE FAÇANHA

**SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE METIONINA EM RESPOSTA A DENSIDADE
DE ESTOCAGEM DO CAMARÃO *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931)
EM ÁGUA VERDE**

FORTALEZA

2015

FELIPE NOBRE FAÇANHA

**SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE METIONINA EM RESPOSTA A DENSIDADE
DE ESTOCAGEM DO CAMARÃO *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931)
EM ÁGUA VERDE**

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 requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes.

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Rui Simões de Menezes

F123s Façanha, Felipe Nobre.

Suplementação dietética de metionina em resposta a densidade de estocagem do camarão *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) em água verde / Felipe Nobre Façanha. – 2015.
45f.: il. color., enc. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2015.
Área de Concentração: Utilização e Manejo de Ecossistemas Marinhos e Estuarinos.
Orientação: Prof^o. Dr^o. Alberto Jorge Pinto Nunes.

1. Camarão – Alimentação e rações. 2. Carcinicultura. I. Título.

CDD 595.388

FELIPE NOBRE FAÇANHA

**SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA DE METIONINA EM RESPOSTA A DENSIDADE
DE ESTOCAGEM DO CAMARÃO *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931)
EM ÁGUA VERDE**

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 requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alberto Jorge Pinto Nunes (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Marcelo Vinícius do Carmo e Sá
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Rodrigo Antônio Ponce de Leon Ferreira de Carvalho
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

A Deus.

A minha mãe Angela e esposa Adrielly.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde, paz e alegria que me proporciona diariamente.

A meu orientador, Professor Alberto Nunes, pela excelente orientação, prestatividade, atenção e por me ajudar a expandir a minha visão sobre a ciência.

A minha mãe Angela, por todo apoio, amor, força, investimentos, ensinamentos e por toda educação, a qual serei grato por toda minha vida.

À minha linda esposa Adrielly, pelo amor, amizade, e por continuar me dando força para correr atrás dos nossos sonhos.

Ao meu amigo Michel Bronstein, por todo apoio, pelos excelentes conselhos carregados de conhecimento e por todo investimento e suporte na minha vida.

Aos meus familiares Rita, Julia, Hikaro, Rocha e Maria José, que sempre torceram pelo meu sucesso.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos - LANOA: Sandra, Junior, Hélio, Carol, Cristiane, Cristiano, Ricardo, Hassan pela amizade e por contribuir diretamente para o sucesso deste projeto.

A Dra. Cláudia Figueiredo Silva e ao Dr. Adhemar Rodrigues de Oliveira Neto pela abertura, apoio, recomendações e discussão sobre os achados deste trabalho.

Ao Laboratório de Biogeoquímica Costeira – Labomar/UFC, pela disponibilidade de seus equipamentos para liofilização das amostras.

A Evonik Degussa do Brasil Ltda. e 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.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes.” (Marthin Luther King)

RESUMO

Este estudo avaliou o desempenho zootécnico do camarão *Litopenaeus vannamei* cultivado nas densidades de estocagem de 50, 75 e 100 camarões/m² em água verde, frente a dietas com uma inclusão de 50 g/kg de farinha de salmão e suplementação de DL-metionil-DL-metionina (Met-Met) de 0, 1,1, 2,1, 3,1 e 4,1 g/kg da dieta (na base natural). As dietas contendo 361 ± 5,3 g/kg de proteína bruta apresentaram 4,8, 6,2, 7,2, 8,1 e 9,4 g/kg de metionina (Met, na matéria seca), respectivamente. O cultivo dos camarões durou 70 dias, sendo utilizados 75 tanques independentes de 1m³, mantidos ao ar livre, cada um equipado com entrada e saída individual de água, renovação (14,2% ao dia) e aeração contínua de água. Os camarões foram alimentados diariamente, às 07:00, 10:00, 13:00 e 16:00 h, exclusivamente em bandejas de alimentação. A sobrevivência final dos camarões alcançou valores superiores a 90%, sendo afetada negativamente sob 75 camarões/m² quando utilizada a dieta contendo 4,8 g/kg de Met (83.1 ± <0,001%). O consumo alimentar variou apenas entre os níveis de Met nas densidades de 50 e 75 camarões/m², em geral apresentando uma tendência de aumento até 8,1 g/kg de Met. O FCA variou de um mínimo e máximo de 1.53 ± 0,07 e 1.84 ± 0,06, respectivamente, diminuindo estatisticamente entre 4,8 e 9,4 g/kg de Met sob 50 camarões/m² e entre 4,8 e 6,2 g/kg de Met sob 75 camarões/m². Em termos de crescimento semanal e peso corporal final, houve um efeito significativo tanto da densidade de estocagem como dos níveis dietéticos de Met. Até 7,2 g/kg de Met, o crescimento semanal foi reduzido de 1,49 ± 0,11 para 1,36 ± 0,06 g, quando a densidade de estocagem excedeu 50 camarões/m². Sob 50 e 100 camarões/m², o peso corporal final dos camarões aumentou progressivamente até o nível de 7,2 g/kg de Met (máximo de 16,80 ± 1,95 g). Na densidade de 75 camarões/m² o peso final foi mais elevado ao nível de 8,1 g/kg de Met (16,59 ± 1,88 g). Valores excedentes de Met na dieta não proporcionaram aos camarões um maior peso corporal. A produtividade de camarão aumentou em resposta a densidades mais elevadas, embora o mesmo efeito não tenha sido detectado para níveis dietéticos de Met. O ganho de produtividade de camarões não foi incrementado quando as dietas apresentaram níveis de Met acima de 6,2 g/kg nas densidades de 50 e 75 camarões/m². Sob 100 camarões/m², não foi detectado efeito estatístico dos níveis de Met sobre a produtividade. Este trabalho demonstrou que o aumento nas densidades de estocagem de camarão de 50 para 75 e 100 camarões/m², não apresentou relação com os níveis crescentes de metionina nas dietas. Independente da densidade empregada, com água verde e perfil nutricional das dietas práticas adotadas, o nível ótimo de metionina para um máximo crescimento de juvenis de *L. vannamei* ficou entre 7,2 e 8,1 g/kg da dieta.

Palavras-chave: *Litopenaeus vannamei*, metionina, exigência de aminoácidos, densidade de estocagem, água verde, desempenho zootécnico.

ABSTRACT

This study evaluated the growth performance of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared under green water at 50, 75 and 100 shrimp/m², in response to diets containing 50 g/kg of salmon meal and supplementation of DL-methionyl-DL-methionine (Met-Met) at 0, 1.1, 2.1, 3.1, and 4.1 g/kg of the diet (as fed basis). Diets with 361 ± 5.3 g/kg of crude protein contained 4.8, 6.2, 7.2, 8.1, and 9.4 g/kg of methionine (Met, in a dry matter basis), respectively. Shrimp were reared for 70 days in 75 independent tanks of 1 m³, kept outdoors, equipped with an individual water inlet and outlet. Tanks operated with continuous water exchange (14.2% daily) and aeration. Shrimp were fed daily at 07:00, 10:00, 13:00 and 16:00 h, exclusively in feeding trays. Shrimp final survival exceeded 90%, but it was adversely affected under 75 shrimp/m² when fed a diet containing 4.8g/kg Met (83.1 ± <0.001%). Feed intake differed only between dietary Met levels at 50 and 75 shrimp/m², with a trend towards increased intake up to 8.1 g/kg Met. FCR varied between 1.53 ± 0.07 and 1.84 ± 0.06 (minimum and a maximum, respectively) reducing from 4.8 to 9.4 g/kg Met under 50 shrimp/m² and from 4.8 to 6.2 g/kg Met under 75 shrimp/m². There was a significant effect of both stocking density and dietary Met on shrimp weekly growth and final body weight. Up to 7.2 g/kg Met, shrimp weekly growth was reduced from 1.49 ± 0.11 to 1.36 ± 0.06 g when stocking density exceeded 50 shrimp/m². Under 50 and 100 shrimp/m², shrimp final body weight increased progressively up to 7.2 g/kg Met (maximum of 16.80 ± 1.95 g). Under 75 shrimp/m² highest final body weight was observed with a dietary Met of 8.1 g/kg (16.59 ± 1.88 g). Dietary Met beyond these levels did not result in a higher shrimp body weight. Gained shrimp yield increased in response to higher stocking densities, although the same effect was not detected for the dietary Met levels. Shrimp yield was not increased when dietary Met exceeded 6.2 g/kg under 50 and 75 shrimp/m². Under 100 shrimp/m² no statistical effect of dietary Met was observed on yield. This study demonstrated that the increase in shrimp stocking densities from 50 to 75 and 100 shrimp/m² did not respond to increasing dietary levels of methionine. Regardless of the density used, under green water and with the nutrient dietary profile adopted, the optimal level of methionine to achieve maximum growth of *L. vannamei* juveniles was between 7.2 and 8.1 g/kg of the diet.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*, methionine, amino acid requirement, stocking density, green-water, growth performance.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico1 - Peso corporal final (média \pm erro padrão) dos camarões *L. vannamei* alimentados com dietas suplementadas com DL-metionil-DL-metionina e cultivados sob diferentes densidades de estocagem. Letras minúsculas indicam diferença estatisticamente significativa entre os níveis de metionina em relação a mesma densidade de estocagem. Letras maiúsculas indicam diferença estatisticamente significativa entre as densidades de estocagem em relação ao mesmo nível de metionina..... 19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição centesimal e de aminoácidos essenciais dos principais ingredientes utilizados nas rações experimentais (g/kg, com base na matéria seca).....	09
Tabela 2 -	Composição de ingredientes das rações produzidas em laboratório para avaliação do desempenho zootécnico do camarão <i>L. vannamei</i>	11
Tabela 3 -	Composição de aminoácidos das dietas experimentais (g/kg, com base na matéria seca).....	14
Tabela 4 -	Desempenho zootécnico (média \pm desvio padrão) do camarão <i>L. vannamei</i> alimentado com dietas contendo diferentes níveis de suplementação de metionina e submetido a diferentes densidades de estocagem.....	17

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	01
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	03
2.1	Proteínas.....	03
2.2	Aminoácidos.....	04
2.3	Metionina.....	05
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	08
3.1	Local de estudo e desenho experimental.....	08
3.2	Sistema de cultivo e pós-larvas.....	08
3.3	Dietas experimentais.....	09
3.4	Fabricação das dietas.....	12
3.5	Alimentação e sistema de manejo.....	12
3.6	Análises químicas.....	13
3.7	Parâmetros de crescimento.....	14
3.8	Análises estatísticas.....	15
4	RESULTADOS.....	16
4.1	Qualidade de água.....	16
4.2	Desempenho zootécnico.....	16
5	DISCUSSÃO.....	20
6	CONCLUSÕES.....	25
	REFERÊNCIAS.....	26
	ANEXO A - DISTRIBUIÇÃO DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS DE	
	CULTIVO.....	32

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de camarões é diversificado em todo o mundo, podendo ser realizado sob influência de muitas variáveis relacionadas à economia, meio ambiente e tecnologia (XU; PAN, 2014; RAY; LOTZ, 2014). Isso resulta em uma variação acentuada nos métodos existentes de cultivo e no nível de intensificação (AVNIMELECH *et al.*, 2008).

Em 2012, a produção mundial de camarões marinhos cultivados gerou uma receita direta de quase vinte bilhões de dólares, com uma produção de 4,33 milhões de toneladas, da qual 73,5% foi representada pelo camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei* (FAO, 2014).

Atualmente, com o aumento da demanda por alimentos, os empreendimentos aquícolas são estimulados a produzirem cada vez mais rápido, levando a rendimentos dez vezes maiores se comparados aos obtidos a alguns anos anteriores (NUNES *et al.*, 2014). A média de crescimento anual da aquicultura foi de 7,5%, o que fez dessa atividade uma das que mais se desenvolveram nos últimos anos (FAO, 2014). Como resultado, o nível de intensificação dos cultivos torna-se cada vez mais elevado, caracterizando-se pelo aumento nas densidades de estocagem e consequente aumento na produtividade final. Esse desenvolvimento vem sendo suportado pelo surgimento de novas tecnologias voltadas ao melhoramento genético, controle de doenças e aspectos nutricionais das espécies cultivadas. Hoje, a maior parte da produção de camarões marinhos cultivados é dependente do fornecimento de rações industriais.

Tradicionalmente as rações de camarões têm contado com grandes quantidades de farinha de peixe como fonte de proteína digestível e aminoácidos intactos (TACON; METIAN, 2008). No entanto, ao longo da última década, os formuladores reduziram drasticamente o uso de farinha de peixe devido a restrições de preços e de mercado (KRISTOFERSSON; ANDERSON, 2006). Resultados de pesquisas anteriores demonstraram que há uma forte tendência na diminuição dos níveis de proteína marinha em dietas para camarões, utilizando-se como alternativa, fontes mais baratas, como subprodutos e concentrados de origem vegetal suplementados com aminoácidos (NRC, 2011). Estima-se que nos próximos anos haverá um aumento substancial no uso de aminoácidos sintéticos em rações de organismos aquáticos (NUNES *et al.*, 2014).

As formulações de rações para o cultivo de camarões marinhos baseiam-se em dados científicos disponíveis na literatura, em especificações de propriedade privada desenvolvidas empiricamente e em dados de ensaios contratados. Apesar disso, ainda existem

lacunas, principalmente aquelas relacionadas com as exigências nutricionais dos camarões e a digestibilidade dos nutrientes das rações disponíveis no mercado. Para o camarão *L. vannamei*, apenas três dos dez aminoácidos essenciais foram determinados e publicados (lisina, FOX *et al.*, 1995; arginina e treonina, ZHOU *et al.*, 2012, 2013, respectivamente). As exigências aminoacídicas para camarões peneídeos baseiam-se quase exclusivamente nas determinadas para o camarão tigre, *Penaeus monodon*. Sendo assim, faz-se necessário a realização de pesquisas que objetivam estabelecer os níveis ideais dos demais aminoácidos essenciais para as demais espécies de relevância comercial.

Esse estudo teve como objetivo estabelecer recomendações para suplementação de metionina em dietas para *L. vannamei*, submetidos a um cultivo experimental em água verde, sob diferentes densidades de estocagem.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Proteínas

As proteínas são compostos orgânicos que possuem papéis essenciais no metabolismo de todos os organismos vivos, além de constituir todos os tipos de células corporais, perfazendo de 65 a 75% do total de matéria seca (NRC, 2011; FRACALOSSI; CYRINO, 2012). As proteínas possuem inúmeras funções metabólicas e estruturais, como a composição de tecidos conectivos e a realização das contrações musculares (BUXBAUM, 2007). Outras proteínas podem desempenhar o papel de enzimas que catalisam reações bioquímicas, ou mesmo de agentes transportadores que permitem a entrada e saída de moléculas através das células (BUXBAUM, 2007).

As moléculas de proteínas são absorvidas durante a digestão, onde são expostas a ação de enzimas secretadas no interior do trato gastrointestinal, as quais quebram essas substâncias em moléculas menores, tais como aminoácidos livres, dipeptídeos e tripeptídeos (FRACALOSSI; CYRINO, 2012). Essas moléculas são absorvidas pelas células da mucosa, onde ocorre a digestão intracelular (MURAI *et al.*, 1987).

Os componentes proteicos das rações para organismos aquáticos, principalmente para as espécies carnívoras e onívoras, são os mais importantes e caros componentes dietéticos nas formulações (WILSON; HALVER, 1986; SHIAU, 1998). Há alguns anos, a farinha de peixe foi a maior fonte de proteína das dietas para organismos aquáticos, sendo comumente incluída a níveis entre 20 e 60% (WATANABE, 2002). Este ingrediente apresenta excelentes propriedades nutricionais, dentre elas um elevado valor biológico, alta digestibilidade, níveis elevados de aminoácidos essenciais, altos níveis de Ca e P e vitaminas lipo e hidrossolúveis (SANMART *et al.*, 2009). Sua produção é derivada da captura de pequenos peixes pelágicos, tais como anchovas, savelhas, sardinhas e arenques, sendo altamente variável e dependente de condições ambientais. Por esse motivo, apresenta restrições de preço e de mercado, podendo alcançar valores elevados e limitada disponibilidade (DEUTSCH *et al.*, 2007).

Os resultados de pesquisas recentes demonstram que dietas com baixo valor econômico podem ser formuladas através da substituição parcial da farinha de peixe por fontes mais baratas e alternativas de proteínas, como subprodutos e concentrados de origem vegetal (NRC, 2011).

A exigência proteica para camarões varia de acordo com alguns aspectos tais como, a qualidade da fonte proteica, o estado fisiológico, a fase do ciclo de vida e as condições de cultivo (D'ABRAMO; SHEEN, 1994), sendo necessário seu conhecimento para a obtenção de melhores resultados de desempenho zootécnico.

2.2 Aminoácidos

Os aminoácidos são moléculas caracterizadas pela presença de dois grupos funcionais: amina e carboxil, com fórmula geral de $H_2N-C-H-R-COOH$, onde R é uma cadeia lateral (BRODY, 1998). As propriedades dos aminoácidos resultam de variações nas estruturas dos diferentes grupos R, as quais podem ser influenciadas pelo tamanho, forma, carga elétrica, dentre outras características (BUXBAUM, 2007).

Após o processo de digestão das proteínas, um conjunto de aminoácidos livres tornam-se disponíveis ao organismo, possibilitando a síntese de proteína corporal, bem como a formação de outras substâncias (WILSON; HALVER, 1986). O metabolismo dos aminoácidos é complexo e altamente integrado com o fluxo contínuo dentro e entre as células.

A grande maioria das espécies de peixes e camarões alimentadas com dietas de alta qualidade apresentam taxa de deposição de aminoácidos em proteína corporal entre 25 e 55% do total de aminoácidos ingeridos (NRC, 2011). A deposição de proteína é um dos principais determinantes para a utilização de aminoácidos com objetivo de atender as exigências nutricionais dos organismos.

Os aminoácidos são classificados em dois tipos, essenciais e não essenciais. Quando não podem ser sintetizados pelo organismo, ou quando sua produção ocorre de forma lenta, impedindo que as necessidades fisiológicas do animal em crescimento sejam supridas, são considerados como essenciais. Estes formam um grupo constituído de dez aminoácidos: treonina, metionina, valina, triptófano, fenilalanina, leucina, lisina, isoleucina, histidina e arginina. Aqueles que podem ser sintetizados pelo organismo, não sendo necessário adquiri-los através das dietas alimentares, são classificados como não essenciais (NRC, 2011).

As dietas para camarões marinhos devem ser formuladas visando atender as exigências de aminoácidos essenciais para manutenção, crescimento e reprodução dos organismos. As pesquisas para mensurar as exigências de aminoácidos para camarões, normalmente utilizam o método dose-resposta, onde as exigências quantitativas são determinadas mediante a administração de dietas experimentais em que se incluem níveis graduais de cada aminoácido, de forma a obter curvas de crescimento a fim de se alcançar um

ponto de inflexão, através do qual se determina o nível considerado ótimo para aquela determinada espécie (FOX *et al.*, 1995; MILLAMENA *et al.*, 1996, 1998; HUAI *et al.*, 2009; XIE *et al.*, 2012).

2.3 Metionina

A metionina é um aminoácido apolar, sendo caracterizado pela presença de uma cadeia lateral linear que possui uma molécula de enxofre (IKEUCHI *et al.*, 2010). É um aminoácido hidrofóbico, podendo atuar no reconhecimento ou ligação de outras substâncias hidrofóbicas, tais como os lipídios (GUEDES *et al.*, 2011).

Assim como em outros aminoácidos essenciais, dietas com baixos níveis de metionina resultam em baixas taxas de crescimento e eficiência alimentar (NRC, 2011). A metionina é o mais tóxico dentre os principais aminoácidos. O uso em níveis duas ou três vezes maiores que as exigências nutricionais, podem causar efeitos deletérios aos organismos aquáticos (BAKER, 2006; ESPE *et al.*, 2008; POPPI *et al.*, 2011). A toxicidade da metionina pode ser caracterizada pelo acúmulo de seus derivados nos tecidos hepáticos.

Uma grande variedade de isômeros de metionina é produzida industrialmente para o uso na alimentação animal (NRC, 2011). Os processos de síntese química produzem misturas racêmicas de D- e L-isômeros de metionina. Na natureza, a metionina normalmente ocorre na configuração L (levogiro), no entanto alguns organismos têm a capacidade de transformar a forma D (dextrogiro) de metionina para a forma L. A utilização da D-metionina requer a sua deaminação pela enzima D-aminoácido oxidase e subsequentemente reaminação para L-metionina. Essa capacidade metabólica pode ser observada em algumas espécies de peixes e crustáceos (KIM *et al.*, 1992).

A metionina sintética mais utilizada na suplementação de dietas para alimentação animal é a DL-Metionina (GOFF; GATLIN, 2004). No entanto, outros isômeros de metionina cristalina têm ganhado expressivo destaque em pesquisas e estudos relacionados à aquicultura (NUNES *et al.*, 2014). Dentre eles, o ácido 2-hidroxi-4-metil-tio butanoico ou metionina análoga tem chamado atenção por ser uma fonte econômica e funcional de metionina cristalina, sendo utilizada com sucesso em rações experimentais, para camarões, com altos níveis de inclusão de farelo de soja como fonte alternativa de substituição da farinha de peixe (BROWDY *et al.*, 2012). Assim como a DL-Metionina, a metionina análoga possui um átomo de carbono assimétrico, ocorrendo como uma mistura racêmica de L- e D-isômeros (BAKER, 2006).

A metionina, assim como os demais aminoácidos essenciais, apresenta solubilidade em água. Essa propriedade limita a utilização desse aminoácido em formas cristalinas para rações aquáticas (YUAN *et al.*, 2011), uma vez que são lixiviados a partir do pélete para a água, impedindo que sua molécula seja completamente absorvida no trato gastrointestinal dos camarões. Este efeito acaba sendo maximizado pelo comportamento alimentar dos peneídeos, que se caracteriza pelo hábito bentônico e pela manipulação do alimento, que ocorre de forma lenta por meio da ingestão de pequenos pedaços (PEÑAFLORES; VIRTANEN, 1996). Martínez-Rocha (2012) reportou que dentro de 60 minutos em contato com água, ocorre uma perda de 27% de DL-Metionina em dietas comerciais. Estima-se que dentro deste intervalo, um indivíduo juvenil de *L. vannamei* consuma dois péletes, com cerca de dois milímetros de diâmetro (KOBLER, 2014).

Além do elevado potencial de lixiviação, os diferentes tipos de metionina cristalina podem apresentar diferentes taxas de absorção no trato digestivo dos organismos aquáticos quando comparados entre si e quando comparados com a metionina proveniente de fontes intactas (PERES; OLIVA-TELES, 2005; DABROWSKI *et al.*, 2010). A principal diferença é observada em relação a velocidade em que esse aminoácido se torna disponível a nível celular para a síntese proteica.

Diversas pesquisas e esforços vem sendo implementados com objetivo de desenvolver novas substâncias de metionina que atendam baixos custos de produção, baixa solubilidade em água e alta biodisponibilidade através de ação retardada na sua absorção. Essas pesquisas são caracterizadas pelo uso de substâncias que atuam no revestimento da metionina cristalina, prologando sua estabilidade em água (ALAM *et al.*, 2004, 2005; YUAN *et al.*, 2011), pelo uso de moléculas de metionina com menor custo (BROWDY *et al.*, 2012) e pela elaboração de moléculas que possuem absorção mais lenta e que possibilita aos organismos uma maior eficiência na síntese de novos tecidos (GU *et al.*, 2013).

Dentre as novas moléculas de metionina testadas em dietas para camarões marinhos, o dipeptídeo da DL-Metionina ou DL-Metionil-DL-Metionina (Met-Met) se caracteriza por ser menos hidrossolúvel que o aminoácido livre, sendo sua taxa de absorção 1,8 vezes superior, no *L. vannamei*, quando comparado a DL-Metionina (KOBLER, 2014). A molécula de Met-Met está presente em quatro diastereoisômeros, o que possibilita a utilização dessa metionina em momentos similares aos demais aminoácidos provenientes dos componentes proteicos da dieta (KOBLER, 2014).

As exigências dietéticas de metionina para o *L. vannamei* ainda não foram determinadas, sendo o desenvolvimento de dietas para esse espécie, baseado em informações

de outras espécies de peneídeos como o camarão tigre, *Penaeus monodon* e o camarão kuruma, *Marsupenaeus japonicus* com exigência dietética de metionina em torno de 8,9 g/kg da dieta (MILLAMENA *et al.*, 1996) e 7,0 g/kg da dieta (TESHIMA *et al.*, 2002), respectivamente. Para o *L. vannamei*, apenas as exigências dietéticas de lisina (FOX *et al.*, 1995; XIE *et al.*, 2012), arginina (ZHOU *et al.*, 2012) e treonina (HUAI *et al.*, 2009; ZHOU *et al.*, 2013) foram determinadas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local do estudo e desenho experimental

Os estudos foram realizados no Centro de Estudos em Aquicultura Costeira (CEAC, Eusébio, Ceará), do Instituto de Ciências do Mar (Labomar), da Universidade Federal do Ceará nas instalações de cultivo em área aberta do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos.

Foram avaliados quinze tratamentos para os quais foram designadas duas variáveis experimentais: níveis analisados de metionina nas dietas (4,8, 6,2, 7,2, 8,1 e 9,4 g/kg) e densidades iniciais de estocagem de camarões (50, 75 e 100 animais/m²). As unidades experimentais foram designadas para cada tratamento de uma forma inteiramente casual (ANEXO A). Cinco tanques de 1m³ foram distribuídos para cada tratamento, totalizando 75 unidades de cultivo.

3.2 Sistema de cultivo e pós-larvas

O sistema de cultivo utilizado neste estudo foi composto de tanques independentes, mantidos ao ar livre, cada um equipado individualmente com uma entrada e saída de água e sistema de aeração. Os tanques apresentavam formato circular, produzidos de polipropileno com 1,14 m de diâmetro interno na parte inferior, 0,74 m de altura, área de fundo de 1,02 m² e volume nominal de 1m³. Os tanques foram continuamente expostos a mudanças ambientais e a um ciclo de luz natural (12h a partir de 05:45h).

A água de todos os tanques foi aerada de forma contínua por um soprador de 7,5 cv de potência. O sistema de difusão de ar era composto por uma mangueira micro perfurada com 110 cm de comprimento, repousada no fundo de cada tanque. O sistema operou em regime de água verde, onde foram realizadas trocas periódicas de água, com média de 14,2% do volume total de cada tanque por dia. A água utilizada para o cultivo foi captada a partir do estuário do Rio Pacoti, distante 350 m do laboratório, sendo previamente filtrada através de um filtro de areia de 240 kg.

Os camarões da espécie *L. vannamei* foram obtidos de uma larvicultura comercial e aclimatados em sistema de pré-berçários, composto por três tanques de 23 m³ (15,9 m² de área inferior, cada), onde permaneceram até atingir peso médio de 1 a 3 g. Durante esse período, os camarões foram alimentados com dieta comercial.

3.3 Dietas experimentais

Cinco dietas experimentais foram formuladas em base bruta, de forma isoprotéica e isocalórica. As dietas foram elaboradas com um *software* de formulação de rações, Feedsoft® (Feedsoft Corporation, Richardson, Texas, EUA). As rações foram elaboradas com seis matérias primas as quais foram previamente analisadas quanto ao seu conteúdo de umidade, proteína bruta e perfil aminoacídico (TABELA 1). As dietas foram desenhadas com um mínimo de inclusão de farinha de salmão e outros ingredientes marinhos, os quais tiveram seus níveis de inclusão nas dietas fixados. O farelo de soja foi o principal componente protéico nas fórmulas, sendo utilizado em níveis que variaram de 345,2 a 351,3 g/kg (base natural). A farinha de trigo variou ligeiramente de 366,4 a 367,5 g/kg. Para atingir um nível mínimo de 20 g/kg de fosfolipídios, foram adicionados 31,3g/kg de lecitina de soja. O óleo de soja foi utilizado entre 0,1 a 0,2 g/kg, para manter os níveis de extrato etéreo consistentes entre todas as dietas. O nível de inclusão de farelo de trigo foi fixado em 45 g/kg, para manter o conteúdo total de fibras na dieta abaixo de 30 g/kg.

Tabela 1 – Composição centesimal e de aminoácidos essenciais dos principais ingredientes utilizados nas rações experimentais (g/kg, com base na matéria seca).

Matéria-prima	Farinha de salmão ¹	Farelo de soja ¹	Farelo de trigo ¹	Farinha de krill ²	Farinha de trigo ²	Concentrado proteico soja ²
Matéria seca	910,0	880,0	880,0	915,6	854,8	924,2
Proteína bruta	638,3	462,7	168,5	566,0	114,3	621,9
Arginina	38,0	33,3	11,2	33,7	4,5	46,4
Histidina	15,8	12,3	4,5	13,1	2,3	16,3
Isoleucina	22,4	21,0	5,2	29,7	3,8	29,4
Leucina	40,1	35,0	9,9	44,6	7,5	49,1
Lisina	41,7	27,3	7,1	39,1	2,4	38,5
Metionina	15,6	6,1	2,6	16,7	1,8	8,6
Cisteína	4,9	6,7	3,4	4,6	2,6	8,8
Fenilalanina	22,3	23,5	6,3	33,2	5,5	33,2
Treonina	24,7	17,9	5,5	25,2	3,0	25,0
Triptófano	5,4	6,2	2,6	7,1	1,2	8,3
Valina	27,0	22,0	7,7	30,1	4,5	30,7

¹Analisado por NIRS (Espectrometria de infravermelho próximo). Fonte: EvonikDegussa do Brasil Ltda. (São Paulo, São Paulo).

²Analisado por HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Precisão). Fonte: Evonik Industries AG (Hanau, Alemanha).

A suplementação de aminoácidos seguiu níveis definidos previamente por um protocolo experimental. Uma dieta controle foi formulada para conter 4,2 g/kg de metionina total, proveniente apenas de fontes intactas. A partir desta dieta, quatro dietas quase semelhantes foram formuladas para conter metionina sintética (AQUAVI[®]Met-Met, Evonik Industries AG, Hanau, Alemanha) em 1,1, 2,1, 3,1 e 4,1 g/kg, a fim de atender a um nível de metionina de 6,2, 7,2, 8,1 e 9,4 g/kg da dieta total, respectivamente (TABELA 2). A suplementação de L-Lisina (AQUAVI[®]Lys, Evonik Industries AG, Hanau, Alemanha), L-Treonina (ThreAMINO[®], Evonik Industries AG, Hanau, Alemanha) e L-Arginina (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) seguiu o conceito de proteína ideal (NRC, 2011). Para estes aminoácidos essenciais, a lisina foi usada como uma referência, de modo que AAE/Lisina fossem iguais a 95% para arginina, e de 67% para treonina.

As dietas foram formuladas para serem equivalentes em termos de proteína bruta (300,0 g/kg na base natural), energia bruta ($3.868 \pm 6,02$ kcal/kg) e extrato etéreo (90 g/kg). Os níveis dietéticos formulados para colesterol e n-3 LC-PUFA (ácidos graxos altamente insaturados da série ômega 3) foram de 1,0 e 6,4 g/kg, respectivamente. As dietas foram formuladas para conter no mínimo 0,5 g/kg de ácido ascórbico, 5,6 g/kg de fósforo disponível e 7,6 g/kg de cálcio.

Tabela 2 – Composição de ingredientes das rações produzidas em laboratório para avaliação do desempenho zootécnico do camarão *L. vannamei*.

Ingredientes (g/kg)	Dietas/Níveis de Metionina (g/kg, base natural)				
	4,8	6,2	7,2	8,1	9,4
Farelo de soja ¹	351,3	349,7	348,2	346,7	345,2
Farinha de trigo ²	366,4	366,8	367,0	367,3	367,5
Farinha de salmão ³	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
Concentrado proteico de soja ⁴	41,2	41,2	41,2	41,2	41,2
Farelo de trigo ²	45,0	45,0	45,0	45,0	45,0
Farinha de krill ⁵	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Hidrolisado de sardinha ⁶	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Óleo de salmão ³	31,8	31,8	31,8	31,8	31,8
Óleo de soja ¹	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1
Lecitina de soja	31,3	31,3	31,3	31,3	31,3
Fosfato monobicálcico	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Premix vitamínico-mineral ⁷	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
L-Lisina, 50,7% ⁸	13,9	13,9	14,0	14,1	14,2
DL-metionil-DL-metionina, 97,0% (Met-Met) ⁹	0,0	1,1	2,1	3,1	4,1
L-Treonina, 98,5% ¹⁰	4,7	4,8	4,8	4,8	4,9
L-Arginine, 90,5% ¹¹	3,2	3,2	3,3	3,4	3,4
Aglutinante sintético ¹²	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Colesterol, 91% ¹³	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Vitamina C, 35% ¹⁴	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4

¹Bunge Alimentos S.A. (Luiz Eduardo Magalhães, Bahia). ²J. Macedo (Fortaleza, Ceará).

³Pesquera Pacific Star S.A. (Puerto Montt, Chile). ⁴Sementes Selecta S.A. (Goiânia, Goiás).

⁵Qrill™ meal (AkerBiomarine ASA, Oslo, Noruega); ⁶AP50 295 (Aquativ, Descalvado, São Paulo).

⁷Rovimix® Camarões Intensivo (DSM Produtos Nutricionais Brasil Ltda., São Paulo, São Paulo).

⁸AQUAVI®Lys (EvonikIndustries AG, Hanau, Alemanha). ⁹AQUAVI®Met-Met (Evonik Industries AG, Hanau, Alemanha).

¹⁰ThreAMINO® (Evonik Industries AG, Hanau, Alemanha).

¹¹Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, EUA). ¹²Nutri-Bind Aqua Veg Dry, Nutri-Ad International NV (Dendermonde, Bélgica).

¹³Cholesterol SF, Dishman Netherlands B.V.

(Holanda).¹⁴Rovimix[®] Stay C[®] 35 (DSM Produtos Nutricionais Brasil Ltda., São Paulo, São Paulo).

3.4 Fabricação das dietas

Todos os ingredientes vegetais (exceto a farinha de trigo) e animais foram moídos em um moinho centrífugo, com potência de 5 cv (modelo MCS 280, Máquinas Vieira Indústria e Comércio Ltda., São Paulo) com tela de 600 micra. Após a moagem, os ingredientes foram estocados separadamente em recipientes fechados (60 L), os quais foram mantidos em temperatura ambiente.

Os ingredientes foram pesados em uma balança eletrônica ($\pm 0,01$ g), seguindo as especificações da fórmula (TABELA 2). Após a pesagem, todas as matérias primas secas foram misturadas durante 10 min. em um misturador planetário. Uma amostra de 1 kg da mistura foi recolhida para incorporar microingredientes (vitaminas, minerais, aglutinante e aminoácidos) em um misturador em Y, a uma velocidade de 30 RPM, por 10 min. Subsequentemente, a mistura foi combinada com os ingredientes restantes (secos e líquidos) e com água doce adicionada na proporção de 4 L para cada 15 kg de mistura. A água foi incorporada lentamente na medida que o misturador planetário estava em funcionamento, até obter uma mistura homogênea.

O processo de cozimento e extrusão foi realizado com o uso de uma extrusora de laboratório (modelo Extrusora EX MICRO, Exteec Máquinas, Ribeirão Preto, São Paulo), a qual foi ajustada para operar a uma temperatura interna de 90°C e produzir peletes de 2,2 mm de diâmetro e 15 mm de comprimento. Após o processo de extrusão, as dietas foram submetidas a um processo de secagem através do uso de estufas com circulação contínua de ar por um período máximo de 3 h, sob temperatura de 60°C. Ao final, foram obtidos péletes com teor de umidade entre 10 e 12%. As dietas foram embaladas, etiquetadas e estocadas em *freezers* a uma temperatura de -20°C, até sua utilização.

3.5 Alimentação e sistema de manejo

Os camarões foram alimentados quatro vezes ao dia, exclusivamente em bandejas de alimentação (14,3 x 3,5 cm; diâmetro x altura), posicionadas em cada tanque. A oferta das dietas e coleta das sobras ocorreram nos seguintes horários, respectivamente: 1ª refeição: 07:00h – 10:00h; 2ª refeição: 10:00h – 13:00h; 3ª refeição: 13:00h – 16:00h; 4ª refeição:

16:00h – 07:00h. As ofertas diárias foram divididas em partes iguais para cada refeição, sendo calculada a partir de uma tabela de alimentação.

Inicialmente, as refeições foram ajustadas com base em uma sequência diária de ganho de peso estimado de 100 mg/dia/camarão e uma redução semanal de 0,05% na sobrevivência de camarão para todos os tratamentos experimentais. Diariamente, foram realizadas observações quanto a presença de sobras nas bandejas de alimentação; caso não fossem observadas sobras nas bandejas, a cada quinze dias as taxas de alimentação eram aumentadas em 40%. Esta decisão foi tomada a fim de evitar uma restrição alimentar, o que poderia causar tendências nos resultados de desempenho zootécnico.

Os parâmetros de qualidade de água foram mensurados diariamente (pH, temperatura e salinidade) e semanalmente (transparência da água), a partir das 13:00h em todos os tanques. O oxigênio dissolvido foi mantido em concentrações de saturação durante todo o período de cultivo. As bandejas de alimentação foram inspecionadas diariamente para verificar se haviam animais mortos. Neste caso, os camarões mortos foram contabilizados, recolhidos e subtraídos a partir da população inicial estocada, a fim de corrigir a próxima oferta alimentar.

3.6 Análises químicas

A composição centesimal e o perfil aminoácídico das dietas experimentais foram determinados pelo método padrão AOAC (1995). Os ingredientes utilizados na fabricação das dietas foram analisados previamente, através de análises químicas (via úmida) e HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Precisão).

As dietas continham em média (\pm desvio padrão) $327 \pm 5,2$ g/kg de proteína bruta (base seca). A variação na concentração de todos os aminoácidos essenciais entre as dietas experimentais foi inferior a 3% (TABELA 3), exceto para os níveis de metionina que foram intencionalmente manipulados. As concentração total de metionina nas dietas foi de 4,8, 6,2, 7,2, 8,1 e 9,4 g/kg (na base seca) para as suplementações de DL-metionil-DL-metionina (Met-Met) de 0, 1,1, 2,1, 3,1 e 4,1 g/kg (base natural), respectivamente.

Tabela 3 – Composição de aminoácidos das dietas experimentais (g/kg, com base na matéria seca)

Aminoácidos ¹	Dietas/Níveis de Metionina (g/kg, base natural)				
	4,8	6,2	7,2	8,1	9,4
Aminoácidos essenciais					
Arginina	23,8	24,5	24,4	23,6	23,9
Histidina	7,4	7,6	7,6	7,3	7,3
Isoleucina	13,7	14,3	14,0	13,4	13,6
Leucina	23,6	24,5	24,1	23,1	23,4
Lisina	23,7	24,6	24,4	23,7	24,1
Metionina	4,8	6,2	7,2	8,1	9,4
Met + Cis ²	9,6	10,9	11,9	12,8	14,0
Fenilalanina	15,9	16,3	16,1	15,5	15,7
Treonina	16,4	17,1	16,8	16,3	16,6
Triptófano	3,7	3,9	3,8	3,7	3,7
Valina	15,0	15,6	15,3	14,7	15,0
Aminoácidos não essenciais					
Alanina	14,6	15,1	14,9	14,4	14,5
Cisteína	4,8	4,7	4,6	4,5	4,6
Glicina	16,2	16,8	16,6	16,2	16,4
Serina	15,4	16,0	15,7	15,1	15,3
Prolina	19,2	19,5	19,3	18,9	19,1
Aspartato	31,6	32,7	32,2	30,7	31,3
Glutamina	62,2	64,1	63,1	60,9	61,8

¹Analisado por HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Precisão). Fonte: Evonik Industries AG (Hanau, Alemanha).

²TSAA, aminoácido total sulfurado.

3.7 Parâmetros de crescimento

A coleta de dados de peso corporal (g) dos camarões foi realizada no povoamento e na despesca, após 70 dias de cultivo. Os camarões foram contados e pesados individualmente em uma balança eletrônica com precisão de 0,01 g. Com estes dados, foram determinados os seguintes parâmetros:

1. Biomassa adquirida (g) = biomassa final (g) – biomassa inicial (g);
2. Sobrevivência final (%) = (número final de camarões ÷ número inicial de camarões) x 100;
3. Consumo aparente de ração (g de ração/camarão estocado) = (quantidade total de ração seca ingerida ÷ número inicial de camarões);
4. Fator de conversão alimentar = consumo de ração aparente por tanque ÷ biomassa adquirida por tanque;
5. Crescimento semanal (g/semana) = ((peso corporal final – peso corporal inicial) ÷ dias de cultivo) x 7;
6. Produtividade final (g/m²) = Biomassa adquirida (g) ÷ área do tanque (m²)

3.8 Análises estatísticas

Os níveis de inclusão de metionina e as densidades de estocagem foram avaliadas como variáveis de classe com interação, através de uma análise de variância pelo teste ANOVA bifatorial. O dados de qualidade de água foram submetidos a análise de variância pelo teste ANOVA unifatorial. O nível de significância foi fixado em $P < 0,05$, e foi utilizado o teste de Tukey HSD para comparar os valores médios entre os tratamentos individuais. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Ilinóis, EUA).

4 RESULTADOS

4.1 Qualidade de água

Ao longo do período de cultivo, a salinidade, o pH, a temperatura e a transparência da água foram mantidos dentro de limites considerados normais para cultivo de camarões peneídeos. Durante os 70 dias de cultivo os valores de salinidade, pH, temperatura e transparência atingiram $35,0 \pm 1,40$ g/L, $8,05 \pm 0,13$ pH, $29,60 \pm 0,77$ °C e $31,0 \pm 8,70$ cm, respectivamente. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas para os parâmetros de qualidade de água entre os tratamentos ($P > 0,05$; ANOVA).

4.2 Desempenho zootécnico

Os camarões cresceram continuamente ao longo do período de cultivo, atingindo $15,73 \pm 1,79$ g de peso médio corporal no momento da despesca, representando um aumento médio no peso corporal de 802%.

A sobrevivência final dos camarões foi elevada e superior a 90% para a maioria dos tratamentos, exceto para os animais submetidos ao tratamento com 75 camarões/m² e alimentados com dieta contendo 4,8 g/kg de metionina. Não houve efeito significativo da densidade de estocagem na sobrevivência final ($P > 0,05$, ANOVA; TABELA 4).

O crescimento semanal dos camarões diminuiu progressivamente com o aumento da densidade ($P < 0,05$, ANOVA). Quando submetidos as densidades de 50 e 75 camarões/m², o crescimento semanal aumentou a medida que foram elevados os níveis de inclusão de metionina nas dietas, até 7,2 g/kg. Quando submetidos a densidade de 100 camarões/m², não foi observado nenhum efeito relacionado a suplementação de metionina (TABELA 4).

A densidade de estocagem do camarão não teve influência sobre o consumo alimentar ($P > 0,05$, ANOVA). O maior consumo foi verificado nas dietas suplementadas com 8,1 e 4,8 g/kg de metionina, submetidas as densidade de 50 e 70 camarões/m², respectivamente (TABELA 4).

Houve um prejuízo no FCA com um aumento progressivo na densidade de estocagem ($P < 0,05$, ANOVA). Na densidade de 50 camarões/m², o FCA melhorou quando 4,8 g/kg foi comparado com 9,4 g/kg de Met. Na densidade de 75 camarões/m², um efeito positivo semelhante foi observado a partir de 6,2 g/kg (TABELA 4).

Tabela 4 – Desempenho zootécnico (média \pm desvio padrão) do camarão *L. vannamei* alimentado com dietas contendo diferentes níveis de suplementação de metionina e submetido a diferentes densidades de estocagem.

Desempenho	g/kg de Met	Densidade Inicial de Estocagem		
		50 camarões/m ²	75 camarões/m ²	100 camarões/m ²
Sobrevivência (%)	4,8	94,1 \pm 5,7	83,1 \pm < 0,001a	91,8 \pm 5,5
	6,2	98,8 \pm 1,1	96,9 \pm 3,3ab	92,5 \pm 8,0
	7,2	93,3 \pm 7,5	97,7 \pm 1,4b	93,5 \pm 8,1
	8,1	98,5 \pm 1,0	90,3 \pm 6,8ab	91,2 \pm 4,2
	9,4	95,6 \pm 1,9	95,1 \pm 2,0b	95,4 \pm 3,2
Crescimento semanal (g/semana)	4,8	1,36 \pm 0,04aA	1,39 \pm 0,04abB	1,29 \pm 0,06C
	6,2	1,56 \pm 0,04bA	1,32 \pm 0,06aB	1,33 \pm 0,08B
	7,2	1,59 \pm 0,11bcAB	1,41 \pm 0,05abA	1,36 \pm 0,06B
	8,1	1,41 \pm 0,04ac	1,46 \pm 0,04ab	1,36 \pm 0,03
	9,4	1,46 \pm 0,06ab	1,41 \pm 0,05ab	1,37 \pm 0,04
Consumo Alimentar (g de ração por camarão estocado)	4,8	21,0 \pm 0,4a	20,7 \pm 0,1a	21,1 \pm 0,2
	6,2	21,4 \pm 0,1ab	21,2 \pm 0,3ab	21,2 \pm 0,1
	7,2	21,4 \pm 0,1a	21,3 \pm 0,1ab	21,3 \pm 0,2
	8,1	21,5 \pm 0,1b	21,4 \pm 0,3b	21,4 \pm 0,2
	9,4	21,2 \pm 0,1ab	21,1 \pm 0,3ab	21,3 \pm 0,1
FCA	4,8	1,66 \pm 0,08aA	1,84 \pm 0,06aB	1,81 \pm 0,08B
	6,2	1,54 \pm 0,03abA	1,67 \pm 0,05bB	1,76 \pm 0,10B
	7,2	1,57 \pm 0,07abA	1,55 \pm 0,06bA	1,70 \pm 0,10B
	8,1	1,55 \pm 0,05abA	1,66 \pm 0,09bAB	1,75 \pm 0,08B
	9,4	1,53 \pm 0,07b	1,58 \pm 0,07b	1,65 \pm 0,04
Produtividade (g/m ²)	4,8	635 \pm 40aA	849 \pm 23aB	1168 \pm 57C
	6,2	694 \pm 14bA	962 \pm 39bB	1207 \pm 67C
	7,2	684 \pm 14abA	1039 \pm 46abB	1253 \pm 79C
	8,1	692 \pm 25abA	980 \pm 65abB	1223 \pm 57C
	9,4	695 \pm 32abA	1009 \pm 38abB	1296 \pm 31C
ANOVA bifatorial <i>P</i>		Metionina	Densidade	Met x Densidade
Sobrevivência		0,038	0,05	0,095
Crescimento semanal		0,039	< 0,0001	< 0,0001

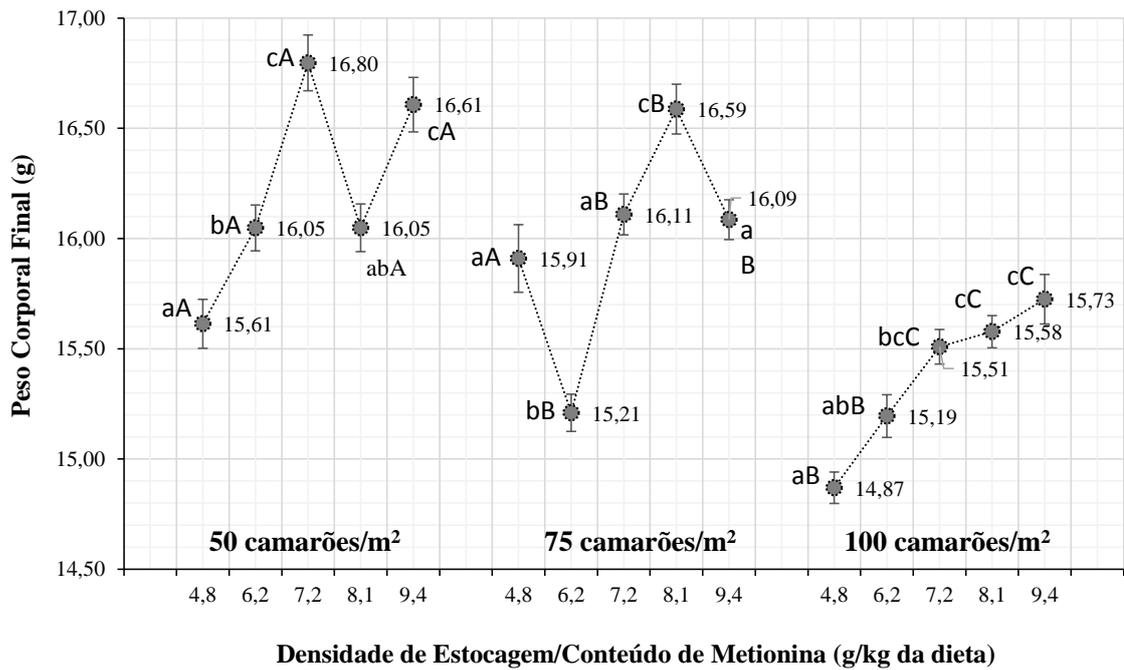
Consumo alimentar	< 0,0001	0,105	0,597
FCA	< 0,0001	< 0,0001	0,203
Produtividade	< 0,0001	< 0,0001	0,174

*Letras minúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os níveis de metionina em relação a mesma densidade de estocagem. Letras maiúsculas indicam diferenças estatisticamente significativas entre as densidades de estocagem em relação ao mesmo nível de metionina ao nível de $\alpha = 0,05$ segundo o teste a posteriori de Tukey HSD.

O ganho de produtividade (g/m^2) aumentou a medida que a densidade de estocagem foi incrementada ($P < 0,05$, ANOVA). Foi observado um aumento progressivo na produtividade com um aumento progressivo dos níveis dietéticos de metionina, porém apenas nas densidades de 50 e 75 camarões/ m^2 foram encontradas diferenças significativas ($P < 0,05$, ANOVA) quando o nível de metionina 6,2 g/kg (TABELA 4).

Houve diferença estatística significativa nos valores de peso corporal final dos camarões, os quais diminuíram com o aumento das densidades de estocagem (FIGURA 1). Nos tratamentos com 50 camarões/ m^2 , foi possível observar que o peso corporal final aumentou progressivamente com o aumento do nível de metionina, até 7,2 g/kg ($P < 0,05$, ANOVA), não havendo diferenças significativa para os demais níveis de inclusão (8,1 e 9,4 g/kg; $P > 0,05$, ANOVA). Um efeito semelhante foi observado na densidade de 100 camarões/ m^2 . Na densidade de 75 camarões/ m^2 , houve um declínio no peso corporal final, com diferença significativa entre os níveis de 4,8 e 6,2 g/kg de Met ($P < 0,05$, ANOVA). No entanto, a partir de 6,2 g/kg de Met o peso corporal final aumentou progressivamente com um maior conteúdo de metionina das dietas, até 8,1 g/kg.

Gráfico 1 – Peso corporal final (média \pm erro padrão) dos camarões *L. vannamei* alimentados com dietas suplementadas com DL-metionil-DL-metionina e cultivados sob diferentes densidades de estocagem. Letras minúsculas indicam diferença estatisticamente significativa entre os níveis de metionina em relação a mesma densidade de estocagem. Letras maiúsculas indicam diferença estatisticamente significativa entre as densidades de estocagem em relação ao mesmo nível de metionina.



5 DISCUSSÃO

A suplementação dietética de DL-metionil-DL-metionina (Met-Met) e a densidade de estocagem afetaram significativamente os parâmetros de desempenho zootécnico de juvenis do *L. vannamei*. Nas densidades de 50, 75 e 100 camarões/m² os níveis de metionina para um máximo crescimento desta espécie variaram entre 7,2 e 8,1 g/kg da dieta. Para outras espécies de camarões peneídeos, como o camarão tigre, *Penaeus monodon*, a exigência de metionina para um crescimento ótimo é de 8,9 g/kg da dieta (MILLAMENA *et al.*, 1996). Esses resultados para o *P. monodon* foram obtidos através de dietas formuladas com ingredientes purificados, com alta disponibilidade de nutrientes, testados em ambiente de cultivo controlado, sob baixa densidade de estocagem e sem influência de alimento natural. Resultados similares foram encontrados para juvenis do camarão *Palaemonetes varians* e para o camarão kuruma, *Marsupenaeus japonicus*. Para estas espécies a exigência dietética de metionina variou entre 9,0 e 11,0 g/kg da dieta (PALMA *et al.*, 2013) e 7,0 g/kg da dieta (TESHIMA *et al.*, 2002), respectivamente. Valores próximos a estes foram também relatados para algumas espécies de peixes como o salmão do Atlântico, *Salmo salar* (ESPE *et al.*, 2008), robalo europeu, *Dicentrarchus labrax* (TULLI *et al.*, 2010) e tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (HE *et al.*, 2013).

Para o *L. vannamei*, apenas as exigências dietéticas de lisina (FOX *et al.*, 1995; XIE *et al.*, 2012), arginina (ZHOU *et al.*, 2012) e treonina (HUAI *et al.*, 2009; ZHOU *et al.*, 2013) foram determinadas. Embora tenham sido realizados estudos de suplementação de metionina cristalina em dietas experimentais para o *L. vannamei*, não foram ainda estabelecidas as exigências quantitativas deste aminoácido para um crescimento ótimo desta espécie. Dentre esses estudos, destacam-se testes comparativos de diferentes tipos de metionina, tais como: metionina cristalina e oligo-metionina (GU *et al.*, 2013), L-metionina, DL-metionina e metionina análoga ou ácido 2-hidroxi-4-metil-tio butanóico (FORSTER; DOMINY, 2006; BROWDY *et al.*, 2012), relacionando estes a aspectos com o desempenho zootécnico, os níveis proteicos das dietas e a eficiência alimentar.

Chi *et al.* (2011), avaliando os efeitos da suplementação de metionina com diferentes tipos de revestimentos, através de análises do desempenho de crescimento de juvenis de *L. vannamei* cultivados em água clara e sob baixas densidades de estocagem, reportaram um melhor ganho de peso e taxa de eficiência proteica com uma dieta contendo 10,3 g/kg de metionina total. Neste trabalho a L-metionina foi revestida com resina acrílica. Valores inferiores a estes foram encontrados por Gu *et al.* (2013), os quais analisaram os

efeitos da metionina cristalina e oligo-metionina no desempenho zootécnico do *L. vannamei*. Os camarões foram alimentados com dietas submetidas a níveis de substituição de 30% e 60% de farinha de peixe por farelos vegetais, em cultivo em água clara. Os autores encontraram melhores resultados de crescimento e eficiência alimentar com uma dieta com nível de substituição de 30%, suplementada com oligo-metionina e contendo 8,1 g/kg de metionina total.

Fox *et al.* (2010), através de um estudo conduzido em água clara com o objetivo de identificar a exigência de metionina para juvenis de *L. vannamei*, quando alimentados com dietas semi-purificadas com baixo nível de proteína (20% PB). Os autores estimaram uma exigência de metionina em torno de 5,5 g/kg da dieta para camarões alimentados com dietas suplementadas com metionina cristalina (L-metionina) e 4,5 g/kg da dieta com metionina proveniente apenas de fontes intactas. Resultados semelhantes foram encontrados por Browdy *et al.* (2012) quando avaliaram o desempenho do *L. vannamei* alimentado com dietas com baixos níveis de farinha de peixe (entre 0 e 75,0 g/kg, na base natural). Estas dietas foram suplementadas ou não com metionina análoga ou ácido 2-hidroxi-4-metil-tio butanoico. Os camarões foram cultivados em água clara sob a densidade de 70 camarões/m². Os autores verificaram efeitos positivos da suplementação de metionina no crescimento dos camarões, com melhores resultados de crescimento semanal ($0,74 \pm 0,02$ g/semana, aos 72 dias de cultivo) com a dieta contendo 6,6 g/kg de metionina total (sendo 0,7 g/kg de metionina análoga).

A metionina é considerada como o primeiro aminoácido limitante ao crescimento do *L. vannamei* (CHI *et al.*, 2011). Sua suplementação ocorre devido ao baixo conteúdo de metionina intacta presente em matérias primas de origem vegetal comumente empregadas na elaboração de rações para organismos aquáticos (NUNES *et al.*, 2014). Existem poucas informações a respeito dos fatores exógenos, não dietéticos, que podem afetar as exigências nutricionais em proteínas e aminoácidos dos organismos aquáticos cultivados (FRACALOSSO; CYRINO, 2012). Aspectos como a fase do ciclo de vida, o manejo alimentar, a intensidade do cultivo e as condições ambientais tem o potencial de influenciar as exigências nutricionais dos organismos aquáticos (BUREAU, 2002).

Dentre esses fatores, aqueles que mais influenciam os aspectos nutricionais estão relacionados ao ambiente de cultivo, que dependendo das condições podem proporcionar um maior crescimento e melhor desempenho dos animais. Como exemplo, temos o sistema de cultivo em água verde que possibilita aos animais a obtenção de nutrientes adicionais a partir do alimento natural presente na coluna de água (TACON *et al.*, 2002).

Diversos trabalhos já demonstraram a eficiência dos sistemas de cultivo em água verde ou com flocos microbianos quando comparados a outros sistemas (TACON *et al.*, 2002; BURFORD *et al.*, 2004; ZHEN *et al.*, 2013). Tacon *et al.* (2002) através de comparações realizadas entre sistemas de cultivo de camarões marinhos a nível experimental, verificaram taxas de crescimento semanais 3,4 vezes superiores em água verde, quanto aquelas encontradas em água clara. Resultados diferentes a esses foram encontrados por Nunes *et al.* (2011) quando compararam o desempenho zootécnico de juvenis de *L. vannamei*. Os camarões foram cultivados em água verde e clara, sob densidades de 60 e 100 camarões/m², respectivamente, e alimentados com dietas práticas com valores de metionina total variando entre 8,7 e 10,3 g/kg da dieta, proveniente apenas de fontes intactas. Nessas condições, os autores não verificaram diferenças estatisticamente significativas para os parâmetros de desempenho zootécnico entre ambos os sistemas de cultivo.

Os resultados do presente estudo mostraram que o aumento na densidade de estocagem causa prejuízos no FCA, no crescimento semanal dos camarões e no peso corporal final. No entanto, o aumento da densidade de estocagem resultou em aumentos significativos na produtividade final sem redução da sobrevivência final ou maior exigência de metionina dietética. Resultados similares a estes foram obtidos por Sookying *et al.* (2011) para cultivo de *L. vannamei* em densidades que variaram em 15, 25, 35, 45, 55 e 65 camarões/m² submetidos a dietas com altos níveis de inclusão de farelo de soja, em condições de cultivo *outdoor*, durante 10 semanas. Durante esse período, os autores observaram um efeito decrescente no ganho de peso a medida em que se aumentavam as densidades de estocagem, com maiores valores sendo alcançados na densidade de 15 camarões/m² (16,1 ± 0,41 g) e os menores valores nas densidade de 55 e 65 camarões/m² (13,4 ± 0,24 g e 13,6 ± 0,26 g, respectivamente). Em outro estudo realizado por Araneda *et al.* (2008), foram observados resultados diferentes a estes, com diminuições nas taxas de crescimento e sobrevivência desta espécie, quando cultivada em água doce (0 g/L) e submetida a três densidades de estocagem 90, 130 e 180 camarões/m², durante 30 semanas. Nessas condições, a queda na taxa de sobrevivência foi de 10,2% quando comparadas as densidade de 90 e 180 camarões/m².

No presente estudo, o peso corporal final dos camarões aumentou de acordo com o conteúdo dietético de metionina e com a suplementação de Met-Met até o nível total de 8,1 g/kg de metionina na dieta. Na densidade de 50 camarões/m², quando os níveis de metionina foram incrementados de 6,2 para 7,2 (equivalente a 1,1 e 2,1 g de Met-Met por kg de dieta, respectivamente) o peso corporal dos camarões saltou de 16,05 ± 1,65 g para 16,80 ± 1,95 g, respectivamente. Na densidade de 100 camarões/m², um mesmo padrão no ganho no peso

final foi observado para estes níveis de metionina, de $15,19 \pm 1,63$ para $15,51 \pm 1,71$ g. Entretanto, um ganho adicional no peso corporal final dos camarões foi observado sob a densidade de 75 camarões/m² quando os níveis dietéticos de metionina passaram de 7,2 para 8,1 g/kg (equivalente a 2,1 e 3,1 g Met-Met/kg de dieta, respectivamente). Neste caso, o peso corporal dos camarões aumentou de $16,11 \pm 1,80$ g para $16,59 \pm 1,88$ g. Valores excedentes a 8,1 g/kg de metionina nas dietas não proporcionaram um ganho adicional no desempenho zootécnico no camarão *L. vannamei*.

O presente estudo seguiu o método descrito no NRC (2011), denominado dose-resposta, o qual consiste em determinar as exigências de aminoácidos para camarões mediante a administração de dietas experimentais em que se incluem níveis graduais do aminoácido-teste. Com o uso dessa metodologia, buscou-se estabelecer curvas de regressão a partir dos valores de crescimento dos camarões, objetivando determinar o nível de metionina dietética para um ótimo crescimento do *L. vannamei*. No entanto, não foi possível estabelecer curvas de regressão com os dados obtidos neste trabalho. Essa impossibilidade pode ser explicada pela influência dos fatores ambientais sobre o desempenho zootécnico dos camarões. Esta condição pode ter mascarado os efeitos das manipulações nos níveis dietéticos de metionina sobre o desempenho dos camarões.

Embora não tenham sido estabelecidas curvas de regressão e valores de exigências de metionina, por meio de pontos de inflexão, para o *L. vannamei*, sob diferentes densidades de estocagem, os resultados obtidos por esse trabalho são significativos, uma vez que foram testadas dietas práticas, com níveis críticos de inclusão de farinha de peixe e inclusões elevadas de derivados de soja.

O conteúdo de metionina nas dietas reportado neste estudo refere-se a valores brutos e não digestíveis. Os níveis de metionina proporcionados através da suplementação de Met-Met são provavelmente valores digestíveis. Contudo, a metionina intacta, derivada das proteínas do farelo de soja, farinha de salmão, concentrado proteico de soja, muito provavelmente não estão totalmente biodisponíveis para o *L. vannamei*. Trabalhos anteriores mostram que a biodisponibilidade de aminoácidos através de determinados ingredientes podem variar de acordo com os processos de secagem, dentre outros fatores (EHAB; BUREAU, 2007). Para os principais ingredientes proteicos utilizados neste estudo, estima-se que a disponibilidade de metionina para *L. vannamei* encontra-se em torno 94 - 98% para farelo de soja, 89 - 96% para concentrado proteico de soja (CRUZ-SUÁREZ *et al.*, 2009) e 92 - 98% para farinha de salmão (YANG *et al.*, 2009). Considerando estes aspectos, pode-se

estimar que os níveis ótimos de metionina dietética para o *L. vannamei* em água verde, situa-se em torno de 6,5 e 7,0 g/kg da dieta.

6 CONCLUSÕES

- ✓ A suplementação de metionina e a densidade de estocagem afetam significativamente os parâmetros de desempenho zootécnico de *L. vannamei* quando cultivado em água verde a nível experimental;
- ✓ O aumento na densidade de estocagem causa prejuízos no FCA, no crescimento semanal dos camarões e no peso médio final, com aumentos significativos na produtividade final sem redução da sobrevivência final;
- ✓ O aumento nas densidades de estocagem de camarão de 50 para 75 e 100 camarões/m², não apresenta relação com os níveis crescentes de metionina nas dietas;
- ✓ Independente da densidade empregada, com água verde e perfil nutricional das dietas práticas adotadas, o nível ótimo de metionina dietética para um máximo crescimento de juvenis de *L. vannamei* ficou entre 7,2 e 8,1 g/kg da dieta.

REFERÊNCIAS

- ALAM, M. S.; TESHIMA, S.; KOSHIO, S.; et al. Supplemental effects of coated methionine and/or lysine to soy protein isolate diet for juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. **Aquaculture**, v. 248, n. 1-4, p. 13–19, 2005. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848605002267>>. Acesso em: 13/5/2014.
- ALAM, M. S.; TESHIMA, S.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M. Effects of supplementation of coated crystalline amino acids on growth performance and body composition of juvenile kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*. **Aquaculture Nutrition**, v. 10, n. 5, p. 309–316, 2004. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2095.2004.00316.x>>. .
- ARANEDA, M.; PÉREZ, E. P.; GASCA-LEYVA, E. White shrimp *Penaeus vannamei* culture in freshwater at three densities: Condition state based on length and weight. **Aquaculture**, v. 283, n. 1-4, p. 13–18, 2008. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848608004638>>. Acesso em: 4/12/2014.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16. ed. Virginia: Association of Official Analytical Chemists, 1995.
- AVNIMELECH, Y.; VERDEGEM, M. C. J.; KURUP, M.; KESHAVANATH, P. Sustainable Land-based Aquaculture: Rational Utilization of Water, Land and Feed Resources. **Mediterranean Aquaculture Journal**, v. 1, n. 1, p. 45–54, 2008.
- BAKER, D. H. Comparative Species Utilization and Toxicity of Sulfur Amino Acids. **The Journal of Nutrition**, p. 1670–1675, 2006.
- BRODY, Tom. **Nutritional Biochemistry**. 2. ed. Berkeley: Academic Press, 1998. 1006 p.
- BROWDY, C. L.; BHARADWAJ, A. S.; VENERO, J. A.; NUNES, A. J. P. Supplementation with 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid (HMTBa) in low fish meal diets for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, v. 18, n. 4, p. 432–440, 2012. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2095.2011.00912.x>>. Acesso em: 22/2/2014.
- BUREAU, Dominique; KAUSHIK, Sadasivam; CHO, Young. Bioenergetics - **Fish Nutrition**. 3. ed. San Diego: Elsevier, 2002. 824 p.
- BURFORD, M. A.; THOMPSON, P. J.; MCINTOSH, R. P.; BAUMAN, R. H.; PEARSON, D. C. The contribution of flocculated material to shrimp (*Litopenaeus vannamei*) nutrition in a high-intensity, zero-exchange system. **Aquaculture**, v. 232, n. 1-4, p. 525–537, 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848603005416>>. Acesso em: 18/12/2014.
- BUXBAUM, Engelbert. **Fundamentals of Protein Structure and Function**. 1. ed. Portsmouth: Springer, 2007. 351 p.

- CHI, S. Y.; TAN, B. P.; LIN, H. Z.; et al. Effects of supplementation of crystalline or coated methionine on growth performance and feed utilization of the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, n. 2, p. e1–e9, 2011. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2095.2009.00710.x>>. Acesso em: 13/5/2014.
- CRUZ-SUÁREZ, L. E.; TAPIA-SALAZAR, M.; VILLARREAL-CAVAZOS, D.; et al. Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. **Aquaculture**, v. 292, n. 1-2, p. 87–94, 2009. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848609002610>>. Acesso em: 29/11/2014.
- D'ABRAMO, L.R.; SHEEN, S.S. Nutritional requirements, feed formulation, and feeding practices for intensive culture of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Reviews Fisheries Science**. v. 21, p. 1–21, 1994.
- DABROWSKI, K.; ZHANG, Y.; KWASEK, K.; HLIWA, P.; OSTASZEWSKA, T. Effects of protein-, peptide- and free amino acid-based diets in fish nutrition. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 5, p. 668–683, 2010. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2109.2010.02490.x>>. Acesso em: 24/12/2014.
- DEUTSCH, L.; GRÄSLUND, S.; FOLKE, C.; et al. Feeding aquaculture growth through globalization: Exploitation of marine ecosystems for fishmeal. **Global Environmental Change**, v. 17, n. 2, p. 238–249, 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959378006000719>>. Acesso em: 29/8/2014.
- EHAB, R. E. H.; BUREAU, D. P. Comparison of the bioavailability of lysine in blood meals of various origins to that of l-lysine HCL for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 262, n. 2-4, p. 402–409, 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848606008301>>. Acesso em: 25/12/2014.
- ESPE, M.; HEVRØY, E. M.; LIASET, B.; LEMME, A.; EL-MOWAFI, A. Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture**, v. 274, n. 1, p. 132–141, 2008. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848607010319>>. Acesso em: 13/11/2014.
- FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. 2014. ed. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014. 223 p.
- FORSTER, I. P.; DOMINY, W. G. Efficacy of Three Methionine Sources in Diets for Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 37, n. 4, p. 474–480, 2006.
- FOX, J. M.; LAWRENCE, A. L.; LI-CHANB, E. Dietary requirement for lysine by juvenile *Penaeus vannamei* using intact and free amino acid sources. **Aquaculture**, v. 1, n. 94, p. 279–290, 1995.

FOX, J. M.; LAWRENCE, A. L.; PATNAIK, S.; et al. Estimation of feed level of methionine by *Litopenaeus vannamei* (Boone) using covalently-attached and crystalline sources in low-protein semi-purified diets. *In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA - AVANCES EN NUTRICIÓN ACUÍCOLA*, 10., 2010, Monterrey. **Anais...** Monterrey: SINA, 2010.

FRACALOSSO, Débora Machado; CYRINO, José Eurico Possebon. **Nutriaqua - Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. 1. ed. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012. 375 p.

GOFF, J. B.; GATLIN, D. M. Evaluation of different sulfur amino acid compounds in the diet of red drum, *Sciaenops ocellatus*, and sparing value of cystine for methionine. **Aquaculture**, v. 241, n. 1-4, p. 465–477, 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848604004612>>. Acesso em: 13/5/2014.

GU, M.; ZHANG, W. B.; BAI, N.; MAI, K. S.; XU, W. Effects of dietary crystalline methionine or oligo-methionine on growth performance and feed utilization of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed plant protein-enriched diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 19, p. 39–46, 2013. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/anu.12089>>. Acesso em: 13/5/2014.

GUEDES, R. L. M.; PROSDOCIMI, F.; FERNANDES, G. R.; et al. Amino acids biosynthesis and nitrogen assimilation pathways: a great genomic deletion during eukaryotes evolution. **BMC Genomics**, v. 12, n. 4, p. 2-13, 2011. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3287585&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 3/12/2014.

HE, J. Y.; TIAN, L. X.; LEMME, A.; et al. Methionine and lysine requirements for maintenance and efficiency of utilization for growth of two sizes of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 19, n. 4, p. 629–640, 2013. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/anu.12012>>. Acesso em: 20/11/2014.

HUAI, M. Y.; TIAN, L. X.; LIU, Y. J.; et al. Quantitative dietary threonine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) reared in low-salinity water. **Aquaculture Research**, v. 40, n. 8, p. 904–914, 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2109.2009.02181.x>>. Acesso em: 20/11/2014.

IKEUCHI, Y.; KIMURA, S.; NUMATA, T.; et al. Agmatine-conjugated cytidine in a tRNA anticodon is essential for AUA decoding in archaea. **Nature Chemical Biology**, v. 6, n. 4, p. 277–82, 2010. Nature Publishing Group. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20139989>>. Acesso em: 3/12/2014.

KIM, K. I.; KAYES, T. B.; AMUNDSON, C. H. Requirements for sulfur amino acids and utilization of D-methionine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 101, p. 95–103, 1992.

KOBLER, D. Dieta para aumentar o vigor de camarões. **Revista ABCC**, v. 16, n. 3, p. 60-64, 2014.

KRISTOFERSSON, D.; ANDERSON, J. L. Is there a relationship between fisheries and farming? Interdependence of fisheries, animal production and aquaculture. **Marine Policy**, v. 30, n. 6, p. 721–725, 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308597X05000825>>. Acesso em: 23/11/2014.

MARTÍNEZ-ROCHA, L. **Contribuciones para el estudio del requerimiento de metionina en juveniles del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*)**. 2012. 315 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de Los Garza, 2012.

MILLAMENA, O. M.; BAUTISTA-TERUEL, M. N.; KANAZAWA, A. Methionine requirement of juvenile tiger shrimp *Penaeus monodon* Fabricius. **Aquaculture**, v. 143, p. 403–410, 1996.

MILLAMENA, O. M.; BAUTISTA-TERUEL, M. N.; RAYES, O. S.; KANAZAWA, A. Requirements of juvenile marine shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius) for lysine and arginine. **Aquaculture**, v. 164, p. 95 – 104, 1998.

MURAI, T.; OGATA, H.; HIRASAWA, Y.; AKIYAMA, T.; NOSE, T. Portal absorption and hepatic uptake of amino acids in rainbow trout force-fed complete diets containing casein or crystalline amino acids. **Nippon Suisan Gakk**, v. 53, p. 1847–1859, 1987.

NRC. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. 3. ed. Washington: The National Academies Press, 2011. 376 p.

NUNES, A. J. P.; SÁ, M. V. C.; BROWDY, C. L.; VAZQUEZ-ANON, M. Practical supplementation of shrimp and fish feeds with crystalline amino acids. **Aquaculture**, v. 431, p. 20–27, 2014. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848614001690>>. Acesso em: 14/10/2014.

NUNES, A. J. P.; SÁ, M. V. C.; SABRY-NETO, H. Growth performance of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed on practical diets with increasing levels of the Antarctic krill meal, *Euphausia superba*, reared in clear- versus green-water culture tanks. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, n. 2, p. 511–520, 2011.

PALMA, J.; ANDRADE, J. P.; LEMME, A.; BUREAU, D. P. Quantitative dietary requirement of juvenile Atlantic ditch shrimp *Palaemonetes varians* for lysine, methionine and arginine. **Aquaculture Research**, p. 1–9, 2013. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/are.12335>>. Acesso em: 4/12/2014.

PEÑAFLORES, V.; VIRTANEN, E. Growth, survival and feed conversion of juvenile shrimp (*Penaeus monodon*) fed a betaine/amino acid additive. **The Israeli Journal of Aquacultura-Bamidgeh**, v. 48, p. 3–9, 1996.

PERES, H.; OLIVA-TELES, A. The effect of dietary protein replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot *Scophthalmus maximus* juveniles. **Aquaculture**, v. 250, n. 3-4, p. 755–764, 2005. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848605002905>>. Acesso em: 8/12/2014.

POPPI, D. A.; QUINTON, V. M.; HUA, K.; BUREAU, D. P. Development of a test diet for assessing the bioavailability of arginine in feather meal fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 314, n. 1-4, p. 100–109, 2011. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848611000561>>. Acesso em: 3/12/2014.

RAY, A. J.; LOTZ, J. M. Comparing a chemoautotrophic-based biofloc system and three heterotrophic-based systems receiving different carbohydrate sources. **Aquacultural Engineering**, v. 63, p. 54–61, 2014. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144860914000934>>. Acesso em: 23/11/2014.

SANMART, E.; ARBOLEYA, J. C.; VILLAMIEL, M.; MORENO, F. J. Recent Advances in the Recovery and Improvement of Functional Proteins from Fish Processing By-Products : Use of Protein Glycation as an Alternative Method. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, n. 2, p. 332–344, 2009.

SHIAU, S. Nutrient requirements of penaeid shrimps. **Aquaculture**, v. 164, p. 77–93, 1998.

SOOKYING, D.; SILVA, F. S. D.; DAVIS, D. A.; HANSON, T. R. Effects of stocking density on the performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured under pond and outdoor tank conditions using a high soybean meal diet. **Aquaculture**, v. 319, n. 1-2, p. 232-239, 2011.

TACON, A. G. J.; CODY, J. J.; CONQUEST, L. D.; et al. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 8, p. 121–137, 2002.

TACON, A. G. J.; METIAN, M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. **Aquaculture**, v. 285, n. 1-4, p. 146–158, 2008. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004484860800567X>>. Acesso em: 10/7/2014.

TESHIMA, S.; ALAM, M. S.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; KANAZAWA, A. Assessment of requirement values for essential amino acids in the prawn, *Marsupenaeus japonicus* (Bate). **Aquaculture Research**, v. 33, n. 6, p. 395–402, 2002. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2109.2002.00684.x>>. .

TULLI, F.; MESSINA, M.; CALLIGARIS, M.; TIBALDI, E. Response of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to graded levels of methionine (total sulfur amino acids) in soya protein-based semi-purified diets. **The British Journal of Nutrition**, v. 104, n. 5, p. 664–73, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20416128>>. Acesso em: 20/11/2014.

WATANABE, T. Strategies for further development of aquatic feeds. **Fisheries Science**, v. 68, n. 2, p. 242–252, 2002. Disponível em: <<http://www.blackwell-synergy.com/links/doi/10.1046%2Fj.1444-2906.2002.00418.x>>. .

WILSON, R. P.; HALVER, J. E. Protein and Amino Acid Requirements of Fishes. **Annual Reviews of Nutrition** p.143–179, 1986.

XIE, F.; ZENG, W.; ZHOU, Q.; et al. Dietary lysine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 358-359, p. 116–121, 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848612003924>>. Acesso em: 12/5/2014.

XU, W. J.; PAN, L. Q. Dietary protein level and C/N ratio manipulation in zero-exchange culture of *Litopenaeus vannamei*: Evaluation of inorganic nitrogen control, biofloc composition and shrimp performance. **Aquaculture Research**, v. 45, p. 1842–1851, 2014. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/are.12126>>. Acesso em: 23/11/2014.

YANG, Q.; ZHOU, X.; ZHOU, Q.; et al. Apparent digestibility of selected feed ingredients for white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 1, p. 78–86, 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2109.2009.02307.x>>. Acesso em: 25/12/2014.

YUAN, Y. CHAO; GONG, S. YUAN; YANG, H. JUN; et al. Effects of supplementation of crystalline or coated lysine and/or methionine on growth performance and feed utilization of the Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. **Aquaculture**, v. 316, n. 1-4, p. 31–36, 2011. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004484861100233X>>. Acesso em: 13/5/2014.

ZHEN, M.; RONG, W.; XIEFA, S.; LEI, G. The effect of three culture methods on intensive culture system of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Journal of Ocean University of China**, v. 12, n. 3, p. 434–440, 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11802-013-2321-7>>. Acesso em: 16/12/2014.

ZHOU, Q. C.; WANG, Y. L.; WANG, H. L.; TAN, B. P. Dietary threonine requirements of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 392-395, p. 142–147, 2013. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848613000410>>. Acesso em: 20/11/2014.

ZHOU, Q. C.; ZENG, W. P.; WANG, H. L.; et al. Dietary arginine requirement of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 364-365, p. 252–258, 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848612004814>>. Acesso em: 20/11/2014.

ANEXO A –DISTRIBUIÇÃO DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS DE CULTIVO

