



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA



GEUAN PEREIRA REIS

**EFEITO DIETÉTICO DA RELAÇÃO PROTEÍNA:LIPÍDEO NO DESEMPENHO
ZOOTÉCNICO E ATIVIDADE DE ENZIMAS DIGESTIVAS DO
HEPATOPÂNCREAS DE PÓS-LARVAS DO CAMARÃO-PITU *Macrobrachium
carcinus* (LINNAEUS,1758)**

RIO LARGO-ALAGOAS-BRASIL

Outubro de 2019

GEUAN PEREIRA REIS

**EFEITO DIETÉTICO DA RELAÇÃO PROTEÍNA:LIPÍDEO NO DESEMPENHO
ZOOTÉCNICO E ATIVIDADE DE ENZIMAS DIGESTIVAS DO
HEPATOPÂNCREAS DE PÓS-LARVAS DO CAMARÃO-PITU *Macrobrachium
carcinus* (LINNAEUS,1758)**

Orientador: Prof. Dr. Petrônio Alves Coelho Filho

Coorientador: Prof. Dr. Elton Lima Santos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

RIO LARGO-ALAGOAS-BRASIL

Outubro de 2019

Catalogação na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana

R375e Reis, Geuan Pereira.

Efeito dietético da relação proteína: lipídeo no desenvolvimento zootécnico e atividade de enzimas digestivas do hepatopâncreas de pós-larvas do camarão-pitu *Macrobrachium carcinus* (LINNAEUS, 1758) / Geuan Pereira Reis. – 2019.

96f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Petrônio Alves Coelho Filho.

Coorientador: Prof. Dr. Elton Lima Santos.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós- graduação em Zootecnia. Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2019.

Inclui bibliografia

1. Alimento. 2. Nutrientes. 3. Sistema digestivo. 4. Crescimento. I. Título.

CDU: 639.12

TERMO DE APROVAÇÃO

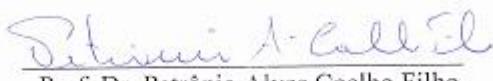
GEUAN PEREIRA REIS

EFEITO DIETÉTICO DA RELAÇÃO PROTEÍNA: LIPÍDEO NO DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E ATIVIDADE DE ENZIMAS DIGESTIVAS DO HEPATOPÂNCREAS DE PÓS-LARVAS DO CAMARÃO-PITU *MACROBRACHIUM CARCINUS* (LINNAEUS,1758).

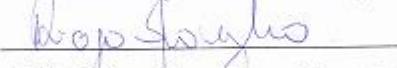
Esta dissertação foi submetida a julgamento como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Zootecnia, outorgado pela Universidade Federal de Alagoas.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

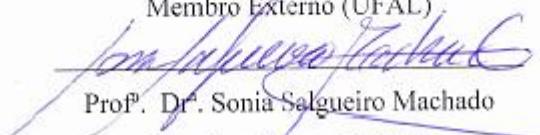
Aprovado em 16/10/2019


Prof. Dr. Petrônio Alves Coelho Filho

Orientador (UFAL/PENEDO)


Prof. Dr. Diogo Bessa Neves Spanghero

Membro Externo (UFAL)


Prof. Dr. Sonia Salgueiro Machado

Membro Interno (UFAL)

Aos meus pais **José George** (*in memoriam*), e **Maria de Lourdes**. A minha noiva, aos meus irmãos, sobrinhos, tio(as). De modo especial a minha mãe, sempre disposta a atender os pedidos, e com todo cuidado e carinho, permitiu tornar factível o sonho e continuar, me fazendo acreditar que os sonhos podem tornar possíveis quando se tem vontade e fé.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A luz maior (DEUS) que rege sobre todos e que permitiu e permite que este trabalho pudesse acontecer;

À Universidade Federal de Alagoas-UFAL;

Ao Centro de Ciências Agrárias (CECA), ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia-PPGZ; a coordenadora do PPGZ: Profa. Dra. Sandra Roseli Valério Lana; e demais professores do PPGZ, ao técnico administrativo, Marcos Antônio Lopes;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL) pela concessão da bolsa durante o curso;

Ao Centro de Recursos Pesqueiros e Aquicultura de Betume (4^aSR), da Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (CODEVASF), pela cessão do espaço e equipamentos para a realização dos trabalhos;

Ao laboratório de Carcinologia e Carcinicultura (LABCARCI), da Unidade de Ensino Penedo, da UFAL;

Ao laboratório de Enzimologia (LABENZ) do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE;

Ao Laboratório de aquicultura do CECA-UFAL;

Ao meu orientador prof. Petrônio Alves Coelho Filho, por fazer parte atuante nas atividades com apoio nos direcionamentos e decisões relacionados a este trabalho; por compartilhar ensinamentos, e da confiança, da direção, incentivo, pela preocupação do andamento e desenvolvimento dos trabalhos e, e de fato me orientando, para que junto com o coorientador prof. Elton Lima, pudéssemos incrementar e enriquecer meus conhecimentos para o cerne da pesquisa, parte importante de meu/nosso trabalho foi feito;

A Janilson Félix (LABENZ) por colaborar com meu/nosso trabalho, cedeu espaço seu lar, para que houvesse maior fluidez das atividades, momento relevante, e que também permitiu conhecer outras pessoas, Mara, Olavo e Rudã, super-receptivos, a vocês meu muito obrigado;

Aos meus amigos do LABCARCI, que me receberam tão bem e ajudaram passo a passo como funciona o laboratório, e da participação em todas as etapas do meu/nosso trabalho, Ana Deise, Rodrigo, Hany, Vanessa, Jéssica, Hiago, Marco, Aline, Andreia, Alex, Valber, Gerlane e Darli, aprendi muito com vocês, meu muito obrigado;

Aos funcionários da CODEVASF (4^aSR), possibilitaram que fosse possível este trabalho, fornecendo importantes contribuições e sugestões, Iru Guimarães; Fábio, e demais servidores, a estagiária Edinete, sempre disposta a participar, e os terceirizados que contribuíram, meu muito obrigado;

Ao meu irmão, Jurandyr, também presente no mesmo curso.

A minha noiva, Jacilene pela compreensão e apoio durante todo este período.

Aos meus amigos de curso, Camila Alves, Daniela Silva, Herbet Glisson, Luiz Arthur, Paula Cibele, Vivian Vasconcelos.

RESUMO

Esse estudo teve objetivo de determinar o efeito dietético de diferentes proporções de proteína/lipídeo no desempenho zootécnico e atividade de enzimas digestivas do hepatopâncreas de pós-larvas (PLs) do *Macrobrachium carcinus*. O trabalho de desempenho zootécnico foi conduzido no Centro Integrado de Recursos Pesqueiros e Aquicultura, pertencente a 4^a Superintendência Regional de Sergipe da Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba. Foram avaliadas seis dietas experimentais com três níveis de proteína bruta (220, 300 e 350 g kg⁻¹) e dois níveis de lipídeos (80 e 100 g kg⁻¹), sendo ofertadas para pós-larvas com peso médio (1,86mg ± 0,65) em um arranjo fatorial (3x2) com oito réplicas, distribuídas em seis diferentes relações dietéticas proteína/energia P/E: 11, 12, 16, 17, 19 e 20 mg PB KJ⁻¹ EB g⁻¹, distribuídos em 48 unidades experimentais. Foram avaliadas as variáveis zootécnicas de ganho de biomassa, índice hepatossomático e a sobrevivência. Determinou-se a atividade das enzimas digestivas através do uso dos tecidos hepatopancreático para identificar as proteases totais alcalinas, quimotripsina, tripsina, leucino-aminopeptidase e a lipase lida em espectrofotômetro. Todos os dados foram avaliados através da ANOVA *one way* e *two way* por meio do software R®. O desempenho zootécnico foi afetado pela combinação dos nutrientes empregados, e a melhor dieta (350 g PB kg⁻¹ 80 g L kg⁻¹) expressa através da relação dietética P/E 19. Não foi encontrada diferença para a sobrevivência ($p=0,5055$). As enzimas digestivas apresentaram atividade alteradas positivamente pelas dietas experimentais testadas nas PLs, exceto a atividade da leucino-aminopeptidase, que não expressou diferença ($p=0,4936$). A relação P/E de 11 apresentou maior valor para índice hepatossomático (%) entre os tratamentos. As proteases exibiram maior concentração conforme o aumento das proteínas, assim como a lipase, que expressou maior atividade independente da quantidade de proteína. Estes resultados apontam que a melhor relação P/E para PLs, deve apresentar 19 mg PB KJ⁻¹ EB g⁻¹, com base no uso da dieta (350 g kg⁻¹ 80 g kg⁻¹) que revelou sinergia e melhor se adequa as necessidades alimentares.

Palavras-chave: Alimento, Nutriente, Sistema digestivo, Crescimento

ABSTRACT

This study aimed to determine the dietary effect of protein/lipid ratio in the zootechnical performance, and activity of digestive enzymes in post-larval (PLs) painted river prawn. The work of zootechnical performance was conducted at the Center Integrate Fisheries Resources and Aquaculture, belong to the 4^a Regional Superintendency of Sergipe of Company for the Development of San Francisco and Parnaiba rivers valleys. Were evaluated six experimental diets with three levels of crude protein (220, 300 and 350 g kg⁻¹) and two levels lipids (80 and 100 g kg⁻¹) offered to (PLs) with middle weight (1.86mg ± 0.65) in a factorial arrangement (3x2) with eight replicas, distributed in six different relations dietary protein/energy (P/E):11, 12, 16, 17, 19 and 20 mg CP KJ⁻¹ GE g⁻¹ shared in 48 experimental units. The zootechnical variables of biomass gain, hepatosomatic index and survival were evaluated. The activity of digestive enzymes was determined through the use of hepatopancreatic tissues to identify total alkaline proteases, chymotrypsin, trypsin, leucine-aminopeptidase, and lipase read in spectrophotometer. All data were analyzed by means of ANOVA one way and two way through software R®. The zootechnical performance was affected by the combination employees, and great diet (350 g CP kg⁻¹ 80 g L kg⁻¹), expressed through the dietary ratio P/E 19. No difference was found for the survival (p=0.5055). The digestive enzymes presented activity changed positively by the experimental diets tested in PLs, except the activity of leucino-aminopeptidase, which not expressed difference (p=0,4936). The ratio P/E of 11 showed a higher value for hepatosomatic index (%) between the treatments. The proteases exhibited higher concentration according to the increase of proteins, as well as the lipase, who expressed greater activity regardless of the amount of protein. These results indicate that best P/E for PLs, is with 19 mg CP KJ⁻¹ GE g⁻¹ through diet (350 g PC kg⁻¹ 80 g L kg⁻¹) that presented synergy and better adjusted to the food needs.

Keywords: Feed, Nutrient, Digestive system, Growth.

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Ingredientes da formulação das dietas experimentais para pós-larvas do <i>Macrobrachium carcinus</i>	56
Tabela 2. Bromatologia das seis dietas experimentais para as pós-larvas do camarão-pitu. ..	57
Tabela 3. Valores observados dos parâmetros da qualidade da água (máximo, mínimo) e a média, avaliados durante a realização do experimento.	58
Tabela 4. Desempenho zootécnico das pós-larvas do camarão <i>M. carcinus</i> alimentadas com as respectivas dietas do tratamento.....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica do camarão-pitu indicados através de estrela amarela.	16
Figura 2. Pós-larva do camarão-pitu com o estômago repleto de alimento.	17
Figura 3. Exemplar adulto do <i>Macrobrachium carcinus</i>	17
Figura 4. Camarão-pitu com massa de ovos presa ao abdômen.....	19
Figura 5. Vista lateral do sistema digestivo de camarão <i>Macrobrachium</i> ssp.	20
Figura 5. Atividade das proteases totais alcalinas, quimotripsina, tripsina, lipase e leucino-aminopeptidase observados no hepatopâncreas das pós-larvas do <i>M. carcinus</i> . Os dados estão expressos por média ± desvio padrão (DP). Valores sobrescritos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Duncan ($p<0.05$). Two way anova.	62
Figura 6. Gráfico com os componentes principais envolvendo as dietas experimentais no desempenho zootécnico e atividade das enzimas digestivas. PL-Peso Líquido, GP- Ganho de Peso, GPD- Ganho de Peso Diário, CAA-Conversão Alimentar Aparente, S-Sobrevivência, IHS-Índice Hepatossomático, PROT-Proteases Totais, QUI-Quimotripsina, TRI-Tripsina, LEU-Leucino-aminopeptidase, LIP-Lipase.....	63

SUMÁRIO

1.CAPÍTULO 1	12
CONSIDERAÇÕES GERAIS	12
2. CAPÍTULO 2	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Cenário atual da produção de camarão de água doce.....	15
2.2 Caracterização do Macrobrachium carcinus.....	16
2.3 Ciclo de vida	18
2.4 Caracterização do sistema digestivo	19
2.5 Alimentação	22
2.6 Atividade enzimática	23
2.7 Efeito de diferentes nutrientes na atividade enzimática.....	26
2.8 Composição química de dietas experimentais.....	27
2.8.1 Proteínas:.....	27
2.8.2 Lipídeos:.....	27
2.8.3 Carboidratos:.....	29
2.8.4 Vitaminas e Minerais:.....	29
2.8.5 Energia bruta:.....	31
2.9 Formulação de dietas para camarões dulcícolas.....	31
3.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
CAPÍTULO 3	52
1.INTRODUÇÃO	53
2. MATERIAL E MÉTODOS	55
2.1 Desenho experimental.....	55
2.2 Formulação e preparação das dietas.....	56
2.3 Análise das enzimas	57
2.4 Análise estatística.....	58

3. RESULTADOS	58
3.1 Qualidade da água	58
3.2 Aspectos zootécnicos	58
3.3 Atividade das enzimas digestivas.....	61
3.4 Análise de componentes principais (PCA).....	62
4.DISCUSSÃO	63
5. CONCLUSÃO.....	67
6. Agradecimentos.....	67
7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
8.CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
9.ANEXO.....	75

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES GERAIS

A aquicultura é uma das ascendentes fontes de produção de alimentos para milhões de pessoas em todo mundo através da reprodução, crescimento e engorda de peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, répteis e vegetais que tem parte ou todo desenvolvimento dependente d'água e apresenta importância e interesse econômico (FAO, 2018). Em 2016, mais de 151 milhões de toneladas de pescado foram destinadas para a alimentação humana, tendo importante contribuição dos países em desenvolvimento com mais da metade das exportações (FAO, 2016).

Nesse sentido, a carcinicultura de água doce representa 5% de toda a produção mundial na aquicultura (FAO, 2018) e está concentrada principalmente nas espécies de camarões palemonídeos do gênero *Macrobrachium*, com destaque para *Macrobrachium nipponense* (DE HAAN, 1849) e *Macrobrachium rosenbergii* (DE MAN, 1879) (NEW e NAIR, 2012). Esta atividade, por apresentar fácil aplicação e possibilidade de ser realizada por pequenos e médio produtores (MORAES-RIODADES e VALENTI, 2004; SANTOS, 2013) tem se tornando cada vez mais atrativa, passando a ser uma das fontes contribuintes de pescado no Mundo em quantidade e em valor (NEW, 2010; MARQUES et al., 2016).

Das 243 espécies recentes do gênero *Macrobrachium*, 17 ocorrem no Brasil (DE GRAVE & FRANSEN, 2011; ROSSI & MANTELATO, 2013), das quais o *Macrobrachium amazonicum* (1862), *Macrobrachium acanthurus* (WIEGMANN, 1836) e *Macrobrachium carcinus* se destacam por apresentarem características que se adequam para as condições de cultivo (PILLEGGI & MANTELLATO, 2012), e juntas, corresponderam a cerca de 85% dos camarões de água doce pescados no Brasil (NEW, 2000; MACIEL e VALENTI, 2009). Esses camarões são capturados através de armadilhas de pesca artesanal, mantidas junto ao fundo de rios, reservatórios, açudes, lagoas, lagos e córregos, geram renda para várias famílias.

Diante da acentuada redução da captura do *M. carcinus* através da pesca extrativa, e da menor frequência de observações em seu habitat, esta espécie é classificada como vulnerável conforme o Ministério do Meio Ambiente, MMA (2004) e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis, IBAMA, (2004), desde o ano de 2004 ficou proibida a pesca desta espécie no Brasil. Agravado ainda, por aumento da poluição, sobrepesca, ações antrópicas negativas, e a intensa procura, em razão da espécie apresentar carne com sabor agradável, e do porte que atinge quando adulto, alcançando valores altos de comercialização comparados a outras espécies do mesmo gênero (TENÓRIO, 2012). Nesse contexto, sobretudo

por meio da aquicultura, surge como forte alternativa para atender a demanda comercial que existe, e de auxiliar na preservação da espécie no ambiente silvestre.

Porém, apesar da potencialidade das espécies nativas do brasil, a carcinicultura de água doce no Brasil está voltada para a espécie exótica *M. rosebergii*, conhecida vulgarmente como camarão da Malásia, gigante da Malásia ou pitu havaiano. Esse fato deve-se pela existência de várias lacunas existentes na definição de um protocolo robusto para o cultivo comercial das espécies brasileiras de *Macrobrachium*, como manejo alimentar e a produção pós-larvas (COELHO et al., 1981; CORREIA e CORDEIRO, 1981; CAVALCANTI, 1998; VIANA-LIMA, 2014).

Não há registro de produção comercial do camarão-pitu, as experiências preliminares foram realizadas em 1960 por INGLE e ELDRED (CHOWDHURY, 1971), e posteriormente por COELHO & LIMA (2003) utilizando ração comercial para camarão peneídeo, em que avaliaram a possibilidade de cultivo do pitu para fins comerciais.

A ração apropriada para camarões de água doce tem importância para dispor de condições nutricionais, possibilita que a quantidade de nutrientes disponíveis à dieta possa ser metabolizados, e convertidos em energia molecular para os processos fisiológicos e o aumento da musculatura, além de apresentar características que ajudem ao melhor consumo e conversão alimentar (D'ABRAMO e SHEEN, 1994)

A maioria das avaliações envolvendo dietas para camarões de água doce são a nível laboratorial e foram realizadas com as espécies exóticas (ZIMMERMANN, 1998). A necessidade de estudos sobre a digestão dos nutrientes, eficiência digestiva, exigência alimentar, são importantes informações que devem ser avaliadas de forma específica, pois o hábito alimentar e habitat podem diferir em animais do mesmo gênero (MCGAW & CURTIS, 2013; MÉNDES-MARTÍNEZ et al., 2018).

O *M. carcinus* é espécie onívora com tendência a carnívoria, apesar de haver amplo consumo de detritos, como semelhante em outras espécies deste gênero que aproveitam diversos itens alimentares (LIMA, GARCIA e SILVA, 2014). Devido ao seu hábito alimentar, as necessidades dietéticas contendo proteínas e lipídeos na condição de cultivo são difíceis de determinar, assim como os outros nutrientes, que necessita de estudos específicos para apresentar os requisitos nutricionais nos diferentes estágios de crescimento, sobretudo no que tange a concentração proteica e lipídica do alimento, devido o papel no crescimento e fornecimento de energia (XIAO et al., 2014; TACON & METIAN, 2015; MÉNDES-MARTÍNEZ et al., 2018).

Estudos sobre requerimentos de proteínas e lipídeos para os camarões de água doce apontam para faixa de 30 a 50% de proteína bruta (TACON, 1987; NRC, 2011; MÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2017) e 2 a 12% de lipídeos, onde a maioria dos crustáceos apresentam bom crescimento, porém não há definição apropriada quanto a quantidade específica de cada nutriente (D'ABRAMO e NEW, 2010).

Entre os insumos dietéticos empregados na formulação, destacam-se os de origem animal, oleaginosas, grãos de cereais e seus subprodutos, raízes, forrageiras, além de aditivos (ZIMMERMANN, 1998). A farinha de peixe é um dos principais insumos utilizados no fabrico para a disponibilização de proteínas em rações para animais aquáticos e o mais oneroso (AYISI et al., 2017). Assim como o óleo de origem animal, supera em rendimento o crescimento de crustáceos submetidos a esse tipo de nutriente, outras fontes, como o óleo de canola, linhaça, girassol e de soja podem produzir efeitos que atendem a necessidade lipídica (KIM et al., 2013). E, a inclusão de alimentos alternativos, complementares e subprodutos em dietas podem reduzir custos com a substituição parcial de itens convencionais e proferir desempenho zootécnico quando aplicado em quantidade apropriada para o estágio de desenvolvimento, como a inclusão de resíduos de filetamento de camarão (NUNES et al., 2016).

Nesse sentido, o conhecimento acerca da fisiologia digestiva, a partir da atividade enzimática, pode revelar a capacidade de aproveitamento dos nutrientes para as etapas específicas de crescimento, vista a importância de contribuir com a formulação de dietas cuja ação melhora a absorção de nutrientes, e capacidade de geração de células fibrilares contidas no hepatopâncreas que são responsáveis pela síntese e secreção de enzimas, e as que são incrementadas com a flora intestinal (NRC, 2011). Assim, avaliar o efeito dietético da relação proteína: lipídeo no desempenho zootécnico e atividade de enzimas digestivas do hepatopâncreas de pós-larvas do camarão-pitu, contribuirá com a determinação de um protocolo alimentar e consequente cultivo comercial da espécie.

2. CAPÍTULO 2

REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cenário atual da produção de camarão de água doce

A produção Mundial de camarão de água doce, correspondente em 2017 a 263,328 t, gerou US\$ 2.018.502, para o *M. rosenbergii*, e, 240,739t e valor de US\$ 2.091.300 para o *M. nipponense* (FAO, 2018), a primeira espécie responde por 51,7% da produção mundial, enquanto que o camarão do rio oriental, criado de forma majoritária na China, contribuiu com 47,2%; outras espécies produziram apenas 1%, e entre todos os crustáceos cultivados, representa 3 e 4% respectivamente de produção. Os países que mais produziram crustáceos de água doce no ano 2016, foram: China (92.96%), Estados Unidos (2.98%), Bangladesh (2.34%), Tailândia (0.66%), Myanmar (0.60%) e, Índia (0.45%) (FAO, 2018; TACON, 2018). No caso específico da China, o maior produtor de camarões de água doce, em 2017 a atividade esteve direcionada principalmente ao cultivo do *M. nipponense* (240,739 t) e em seguida do *M. rosenbergii* (137,360 t)

A carcinicultura de água doce no Brasil apesar de contar com investimentos, é reduzida e pouco difundida, que por sua vez, gera desordenamento em razão de ser atividade incipiente e que leva desconfiança entre os produtores, que ainda assim, produzem sem as informações adequadas (BRASIL, 2013). Desde a inclusão do *M. rosenbergii*, esta espécie é mais efetiva em projetos aquícolas no Brasil e serve de parâmetro para outras espécies do mesmo gênero, apesar da pouca tradição deste país com a criação com camarões de água doce (VALENTI, MALLASEN, BARROS, 2009). Dados da FAO indica que em 2017, o Brasil produziu volume de 100 t, 50% abaixo dos volumes anuais anteriores, de modo que este diagnóstico de produção aquícola não foi atualizado desde 2011 pelo Brasil, e que gera incerteza para este dado (FAO, 2018).

A criação de camarões de água doce ocorre em pelo menos 20 estados do Brasil, em sua maioria adota o monocultivo, sendo predominante em apenas um estado boa parte da produção (VALENTI, 2002). Conforme o Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural-INCAPER e a Cooperativa dos Aquicultores do Espírito Santo, este estado do Brasil é o maior produtor de camarões de água doce, alcançou em 2014, rendimento de cerca 82 t. neste ano e gerou faturamento de 2,5 milhões.

Apesar da existência de pelo menos 10 larviculturas no ano de 2002 espalhadas no Brasil, a preferência de criar espécies exóticas é maior, e que o comércio de pós-larvas através

de laboratórios de produção, comercializam mil exemplares de PLs, na região nordeste ao preço médio R\$150 (VALENTI, 2002).

2.2 Caracterização do *Macrobrachium carcinus*

Decápoda conhecido como Pitu ou camarão-pitu do Nordeste do Brasil, noutras regiões como “lagosta de São Fidelis”, “lagostinha do Ribeira”, e em alguns países, por bigclaw river prawn or painted river prawn (SANTOS et al., 2007). Encontrado em ambientes de água doce e próximo a estuários, tem a sua distribuição espacial desde a Flórida, nos EUA até porção sul do Brasil (MELO, 2003; SANTOS et al., 2017).

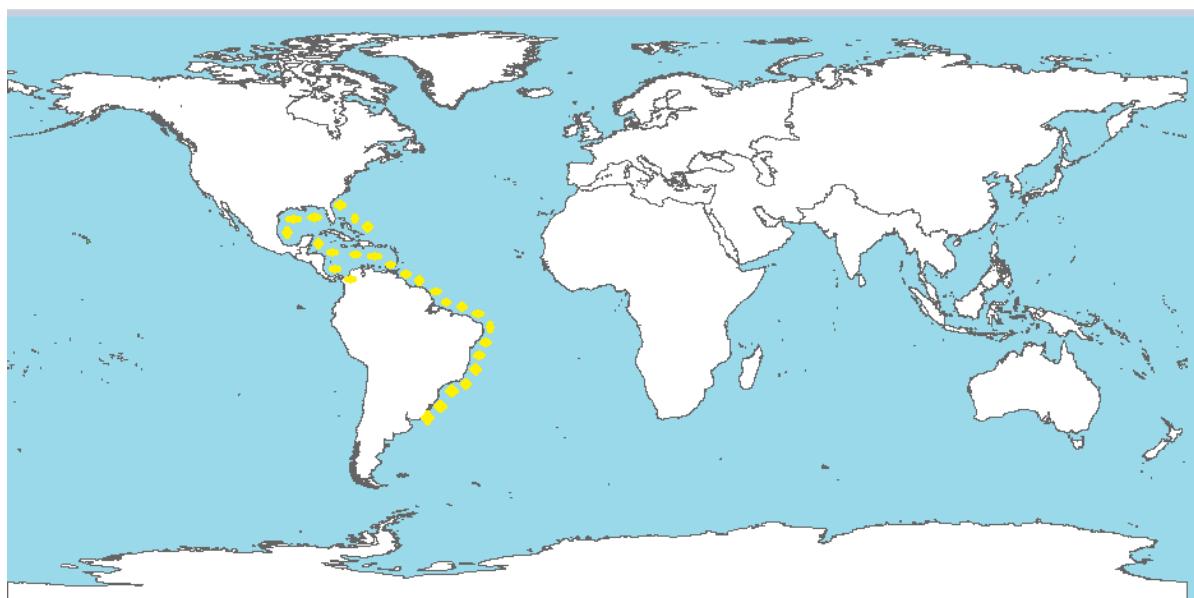


Figura 1. Distribuição geográfica do camarão-pitu indicados através de estrela amarela.

Fonte: <https://www.discoverlife.org/20/q?search=Macrobrachium+carcinus&b=FB25303>. Adaptada.

As larvas exibem manchas com coloração avermelhada que se alteram com crescimento, e quando alcançam o último estágio, realizam metamorfose à pós-larvas (Fig. 2), tendo o comprimento médio de 1cm, momento em que tornam-se bentônicas e apresentam natação constante, utilizam seus pereiópodes para manuseio dos alimentos e competição por espaço o corpo revestido por exoesqueleto translúcido.

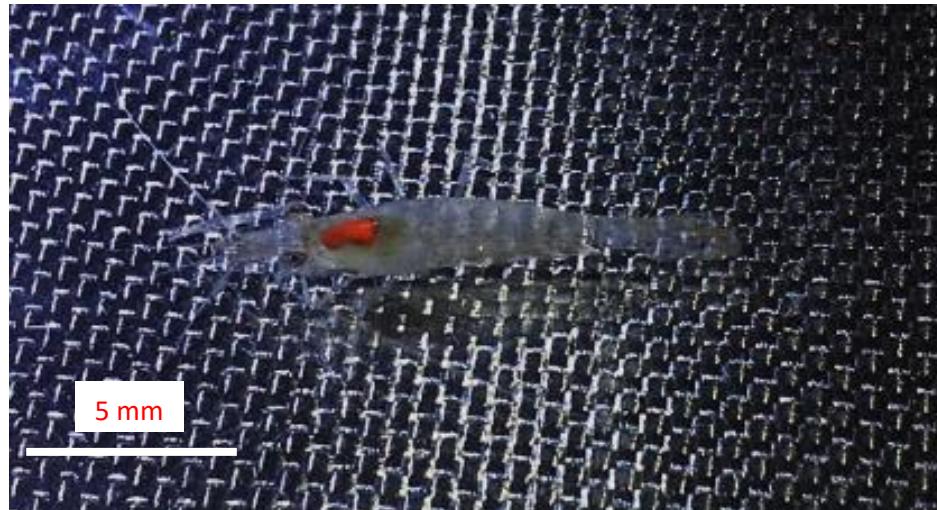


Figura 2. Pós-larva do camarão-pitu com o estômago repleto de alimento.
Fonte: Geuan Reis, 2018.

Os adultos (Fig. 3) são reconhecidos distintamente pela coloração em sua carapaça, por faixas cremes longitudinais ao longo do exoesqueleto (COELHO et al., 1982; MELO, 2003; SANTOS et al., 2017). O rostro curvado de forma suave para cima, apresenta 11 a 14 dentes afilados, dispostos regularmente na margem dorsal, e 3 a 5 dentes ventrais, com 4 a 5 dentes pós-orbitais. Apresenta cinco pares de apêndices locomotores, o segundo par é mais robusta que os demais e apresenta pequenos espinhos na superfície (VALÊNCIA e CAMPOS, 2007). Os machos adultos são maiores, pode alcançar até 30cm de comprimento total, enquanto as fêmeas atingem comprimento médio de 17cm. E pesa até 250g, quando adulto (COELHO & LIMA, 2003).



Figura 3. Exemplar adulto do *Macrobrachium carcinus*
Fonte: Geuan Reis, 2018.

Na natureza prefere locais com águas lóticas, fundo arenoso e rochoso com vegetais aquáticos, e abrigos constituídos por rochas ou madeiras (HOLTHUIS, 1980; GOMES et al., 2016). O *Macrobrachium carcinus* (LINNAEUS, 1758) é uma espécie de camarão de água

doce, quando no estado larval o melhor crescimento ocorre em água salobra (24 g) e temperatura de 28°C (COELHO-FILHO, GONÇALVES e BARROS, 2017). Enquanto a salinidade da água para pós-larvas e adultos é entre 0 a 5 g/L⁻¹ (VALENTI et al., 1985; HERMAN et al., 1999). A melhor faixa de pH situa entre 7,5 a 8,5, nível de pH, que possibilitou maior sobrevivência, encontrado por CHEN E CHEN (2003), com 8.2, em avaliação experimental durante 56 dias com *M. rosenbergii*. De acordo Gomes et al (2016) os valores que as larvas resistem a amônia total sem causar estresse é 0.834 mg L⁻¹ e para nitrito 0.328 mg L⁻¹. o teor de oxigênio dissolvido entre 2.27 a 7.5 mg L⁻¹, como praticado por COELHO-FILHO, GONÇALVES e BARROS (2017). De acordo com BOYD e ZIMMERMANN (2010) a concentração de CaCO₃ da água ao redor de 90mg L para a dureza total e alcalinidade entre 50 e 60 mg/L, é o suficiente para bom crescimento.

Esta espécie é territorialista, com comportamentos agressivos (KUTTY et al., 2000; SANTOS et al., 2007; GOMES et al., 2016). Mas este conceito é imerecido, pelo fato de decorrer da robustez e agilidade, o que não indica agressividade, o que é necessário desenvolver pesquisas que proporcione bem-estar em situação de cativeiro, além de estudos genéticos (COELHO e LIMA, 2003). Tentativa de hibridização entre o *M. carcinus* e *M. rosenbergii*, chegou até a fase de gástrula sem sucesso que visava combinar as características de ambas as espécies (GRAZIANI et al., 2003).

2.3 Ciclo de vida

Esta espécie pode iniciar a reprodução com 55g e 60mm de comprimento (VALENTI et al., 1994; ARAUJO, 2002). O macho exibe comportamento territorialista mais acentuado em períodos reprodutivos, com eventual disputa com outros machos, e com desprendimento de movimentos de corte, através do “abraço nupcial” em que ocorre a transferência do esperma para receptáculo feminino, o espermatóforo. As fêmeas (Fig. 4) têm pleuras abdominais arqueadas para manter a massa de ovos (VALENTI et al., 1989; TENÓRIO, 2012). Embora as fêmeas ovígeras realizem a migração para áreas costeiras abrigadas, é possível que as condições ambientais interfiram neste processo natural (CHÁVEZ-ALARCÓN e CHÁVEZ, 1976; SILVA et al., 1981; VIANA-LIMA, 2014). Posteriormente com a fecundação dos óvulos, a massa de ovos fica na câmara abdominal aderidas aos pleópodes (COELHO et al., 1982; GRAZIANE et al., 1993; SANTOS et al., 2007).



Figura 4. Camarão-pitu com massa de ovos presa ao abdômen.

Fonte: <http://aquiflora.blogspot.com/2014/05/tecnicos-selecionam-novas-matrices-de.html>

O número de ovócitos produzidos é entre 14.000 a 240.000 ovócitos, depende do tamanho da fêmea e estado nutricional (HOLTHIUS, 1980; COELHO, RAMOS-PORTO & SOARES, 1982; SANTOS et al., 2007; LARA E WEHRTMANN, 2009). O tempo de incubação dos ovos é de 20 dias, com ocorrência perceptível da mudança do padrão de coloração de alaranjada para cinza-esverdeado, decorrente do consumo do vitelo pelos embriões (COELHO, RAMOS-PORTO & SOARES, 1982; TENÓRIO, 2012).

Os ovos eclodem como zoéa em água doce ou salobra, sofre 12 estágios com mudanças morfológicas ao intervalo médio de 4 dias em cada estágio ao longo de seu crescimento com alterações fenotípicas até alcançar pós-larvas (GOMES et al., 2016). São carreadas pelo movimento das marés ao estuário, local em que crescem e depois realizam deslocamento inverso (LEWIS et al., 1966; DUNGAN e FRAKES, 1973; DUNGAN et al., 1975; OBA et al., 1980; GAMBA, 1982; VIANA-LIMA, 2014). Em condições laboratoriais a duração dos estágios larvais é em média de 45 dias (COELHO, 1982; HERMAN et al., 1999; TENÓRIO, 2012). No ambiente silvestre o tempo de existência deste palaemonidae é entre 6 a 8 anos (BROWN, NEW e ISMAEL, 2010; TENÓRIO, 2012).

2.4 Caracterização do sistema digestivo

O sistema digestivo (fig. 5) dos decápodes é dividido em três distintas partes (intestino anterior, médio e posterior). A parte anterior compreende a boca, localizado na posição ântero-ventral que liga-se ao esôfago encerrado com a abertura do estômago, a região média inclui o hepatopâncreas, cecos, divertículos, ou glândula digestiva, como é denominado esta massa bilobada, fica logo acima das brânquias; intestino posterior, com formato de tubo alongado, comporta o reto, e o ânus na base do télson (BROWN, NEW e ISMAEL, 2010).

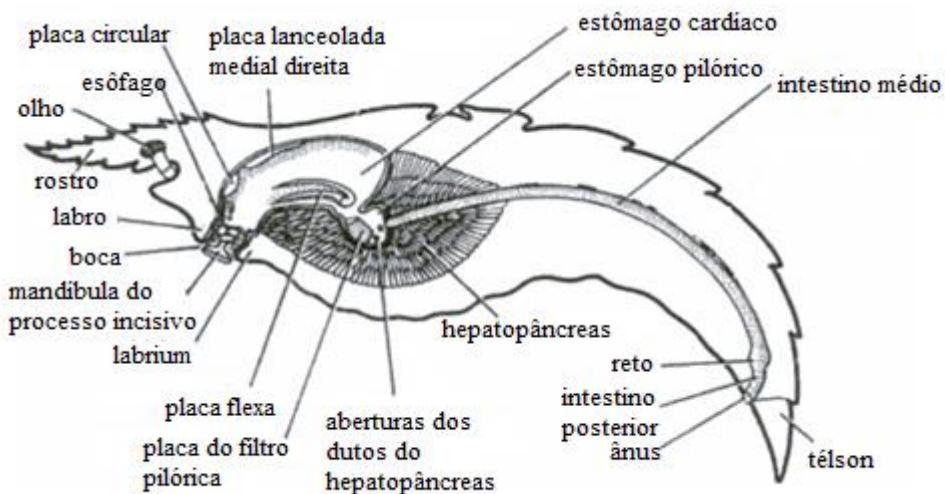


Figura 5. Vista lateral do sistema digestivo de camarão *Macrobrachium* ssp.

Fonte: adaptado de R. L. Kotpal, 2012.

A boca interliga-se com o esôfago curto e distensível, cujas paredes possuem glândulas tegumentares que produz muco que auxilia no empacotamento e lubrificação da comida, enquanto os músculos empurram através de movimentos ondulares (movimentos peristálticos) que direcionam para o estômago (MCGAW e CURTIS, 2013). O estômago tem formato de pera e apresenta duas câmaras distintas, de maior volume e a pilórica, conecta-se ao intestino proximal, que apresenta-se translucido, com paredes finas, interligado a cavidade bucal, o esôfago, expande-se para região posterior do céfalo-tronco, com ausência de moinho gástrico, abriga placas quitinosas que fornecem apoio na Trituração dos alimentos (LIMA, GARCIA e TAVARES, 2016). A primeira câmara detém uma função principal, classificação dos alimentos para posterior transporte a região do intestino médio (MCGAW e CURTIS, 2013).

A distribuição da rede neural tem importância nos impulsos nervosos sobre os movimentos musculares desencadeados no saco gástrico e pilórico, ao passo que a espécie e as condições ambientais interfere no deslocamento do alimento (WEIMANN et al., 1991; WEIMANN e MARBER, 1994; THUMA et al., 2003). Estes movimentos impulsionam, mas tem pequena representatividade para os pequenos dentes acessórios, mas auxilia na distribuição da superfície destes, proferindo maior eficiência com quebra e trituração dos alimentos (HEINZEL, 1993; MCGAW e CURTIS, 2013). Conforme os mesmos autores supraditos, estes dentes localizam-se próximo a válvula cardiopilórica e regula o movimento da passagem do alimento.

Nos crustáceos decápodes há um tipo de revestimento que recobre as superfícies externas que também recobre parte do intestino anterior e posterior que possuem os mesmos componentes que compõe a carapaça (BROWN, NEW e ISMAEL, 2010). Esse tipo de

revestimento proporciona que os camarões consigam compensar a ausência de moinho gástrico, essa característica pode funcionar como pseudomoinho, com a ingestão de sedimentos, contribuindo com a maceração dos alimentos (LIMA, GARCIA e TAVARES, 2016).

As placas posicionam-se em pontos específicos no estômago para auxiliar na seleção e com a trituração de determinados grupos de alimentos. No *M. carcinus* há duas placas presente no esôfago e estômago cardíaco, mencionado por LIMA et al (2016)

Apesar das características do trato digestivo serem comparável a outros crustáceos pertencente à família Palaemonidae (RAFINESQUE, 1815), no *M. carcinus* há aspectos peculiares, assim como em outras espécies devam ser diferentes, como possuir 21 ossículos no estômago, dividido em sete grupos com diferentes funções. Essas estruturas junto com as cerdas, fornecem apoio com a triagem das partículas para serem digeridas (LIMA et al., 2016).

O início do intestino médio se une ao trato principal onde localiza-se o hepatopâncreas porção em que ocorre maior absorção de nutrientes, comum aos demais camarões de água doce deste gênero (BROWN, NEW e ISMAEL, 2010).

Conforme a NRC (2011), o processo digestivo decorre como em peixes, mesmo os camarões não dispõem de estômago com glândula secretora, onde inicia a digestão de nutrientes, o papel parece ser do hepatopâncreas, com a secreção de suco gástrico. É considerado um dos principais órgãos do sistema digestivo dos decápodes, envolvido com as funções metabólicas, é composto de duas secções de lóbulos bem distribuídos, associados com os tecidos conectivo, através dos dutos laterais ligado ao estômago que formam massa glandular (CECCALDI, 1989). Pode apresentar diferentes colorações que depende das reservas a base de caroteno, zeaxantina e astaxantina (BROWN, NEW e ISMAEL, 2010).

O processo da mistura dos alimentos com enzimas é bastante complexo e transmitida pela glândula digestiva, através dos músculos que movem as paredes do proventrículo, atuando como uma espécie de pseudomoinho (DALL & MORIARTY, 1983; BROWN, NEW e ISMAEL, 2010). Conforme MCGAW e CURTIS (2013) partículas inertes de até 100nm e o líquido entram na glândula digestiva. O aumento da digestibilidade, exige além da qualidade nutricional, tamanho dos péletes adequados a idade do animal, pelo fato de ser necessário passar em filtro que protege a glândula digestiva (BROWN, NEW e ISMAEL, 2010).

A frequência da oferta de alimentos pode interferir na permanência de resíduos de alimentos no intestino posterior até que haja uma próxima refeição (HOPKIN e NOTT, 1980; MCGAW e CURTIS, 2013). A despadronização da oferta de alimentos regulares afeta a atuação do sistema nervoso em que por sua vez altera o perfil dos movimentos musculares (CLEMENS et al., 1998; MCGAW e CURTIS, 2013).

O intestino posterior liga-se através de uma junção ao ceco digestivo, percorre todo o abdômen até o ânus, este segmento do trato digestivo comporta glândulas tegumentares que produzem muco e facilita na evacuação das fezes (GIBSON, 1983; MCGAW e CURTIS, 2013).

Há alguns processos relacionados com a quantificação, avaliação, taxa de passagem do alimento pelo trato digestivo dos decápodes, apesar de servir para analisar ingestão, as taxas de trânsito e evacuação, é considerado limitado por que considera para efeito de análises a fase sólida na digestão por MCGAW e CURTIS (2013).

Alimentos que apresentam diferentes condições nutricionais tem seu trânsito pelo trato digestivo alterado, os que detêm mais nutrientes percorrem de forma lenta enquanto que as dietas pobres, seguem mais rápida (MITRA e FLYNN, 2007; MCGAW e CURTIS, 2013).

2.5 Alimentação

As larvas do camarão *M. carcinus* obtém os alimentos através de comportamentos distintos, com emprego da natação errante na coluna d'água, posicionando o tórax voltado para baixo e os pereiópodes para parte superior, estes apêndices são usados para formar uma corrente de água, apreender a comida e conduzir a boca (SANTOS et al., 2007; GOMES, et al., 2016).

Os primeiros estágios larvais, do segundo até o quinto existe a preferência por alimento vivo, como zooplâncton, microrganismos que auxiliam nas condições nutricionais capaz de atender as necessidades dietéticas, e em laboratório, utiliza-se com frequência náuplios de *Artêmias*, com adoção de 5 náuplios/mL⁻¹ (COELHO-FILHO, GONÇALVES e BARROS, 2017).

O desenvolvimento das larvas é contínuo, quando na fase pós-larvas e jovens necessitam trocar regularmente seu revestimento, ação que influencia na sua alimentação, ou seja, aproveitando menos o material alimentar externo, sendo provável que ocorra a transferência de reservas energéticas através das células hepáticas, como glicogênio para os processos metabólicos (TENÓRIO, 2012). Adicionalmente, células R, deslocam fonte de energia sob a forma de gorduras para atender as necessidades metabólicas durante o período de jejum obrigatório (ZIMMERMANN, 1998).

Durante o período de alimentação dos camarões, o número de células M do hepatopâncreas, aumentam, e quando reduz, antes e depois da muda, esse material é usado para a manutenção da célula. Entretanto, mais estudos morfométricos envolvendo os diferentes momentos do ciclo de muda da espécie são necessários para elucidar completamente a função da célula M (BRUNET et al., 1994; SILVA et al., 2018).

A oferta de farelo de filé de peixe é boa alternativa em fornecer proteínas em conjunto com alimento artificial comercial, sobretudo para pós-larvas. O tamanho e a quantidade de alimento não tem padrão consolidado, mesmo havendo a ocorrência de maior preferência por grânulos de alimentos maiores e possíveis de serem carregados pelos camarões (SANTOS et al., 2007). O que pode provocar aproveitamento irregular e desperdício energético pelo animal para reduzir e captar as porções.

Os reprodutores requerem dietas contendo proteínas bruta e lipídeos em maiores quantidades sobretudo de lipídeos (35% PB:13% L) em relação aos demais estágios ontogenéticos nesta espécie (BENÍTEZ-MANDUJANO e PONCE-PALAFOX, 2014). Ao passo de ser maior a quantidade de proteínas para reprodutores de *M. rosenbergii* (40% PB), destacado por (D'ABRAMO e NEW, 2010).

A visão é considerada um dos passos iniciais para o encontro do alimento, porém não tão importante nesse sentido, já que os crustáceos são bentônicos e utilizam os apêndices locomotores dotadas de cerdas mecanorreceptoras e quimiorreceptoras para forragear, selecionar e conduzir o alimento mais próximo até a boca (KAWAMURA et al., 2018). De acordo com COELHO et al (1982) e TENÓRIO (2012) o *M. carcinus* utilizam os quelípodos para a condução dos alimentos, assim como o *M. rosenbergii* em que utiliza os pereiópodes quelados que apresentam funções adicionais, segurando a partícula, examinando-a e direciona as partes bucais, maxilípedes, maxilas e maxilulas (ASHELBY et al., 2015; KAWAMURA et al., 2018).

Informações até o momento acerca de como funcionam os dentes nos *Macrobrachium* são escassas, sabe-se que os movimentos dos dentes laterais atuam pressionando o alimento ao moverem-se a parte media até encontrar o dente medial que é retraído (MCGAW e CURTIS, 2013). Esse movimento consegue cortar e quebrar itens rígidos com a ocorrência da liberação dos fluidos contidos nestes itens alimentares (HEINZEL, 1988; MCGAW e CURTIS, 2013).

Essas informações auxiliam na formulação e preparo de péletes com características, como: rigidez, textura, peso e tamanho adequado ao aparato bucal, a fim de garantir o consumo eficiente, sem desperdícios de ração para a água de cultivo (ZIMMERMANN 1998).

2.6 Atividade enzimática

As enzimas são biomoléculas que fornecem condições importantes para a manutenção dos organismos vivos a partir do aumento das velocidades das reações químicas para disponibilidade de energia em quantidades suficientes para manter em constante atividade as

células (HARVEY et al., 2009). Todas as enzimas conhecidas são proteínas e atuam de forma específica ao seu substrato, exceto pequenos grupos de moléculas de RNA catalíticas (NELSON e COX, 2014). De acordo com os autores mencionados anteriormente, algumas enzimas necessitam de íons metálicos, os cofatores, ou moléculas orgânicas, provindas de vitaminas, as coenzimas, para completar suas atividades.

O principal local da síntese de enzimas extracelulares é na glândula do intestino médio (hepatopâncreas) que contém células fibrilares com a função de produzir, e estocar nas células B (NRC, 2011).

O intestino médio é o local em que é predominante a ação das enzimas e da maior absorção de nutrientes em decápodes (DALL & MORIARTY, 1983; BROWN, NEW e ISMAEL, 2010). Além de regular a passagem das partículas dos alimentos (MÉNDEZ-MARTÍNZE et al., 2018). É um órgão referencial do sistema digestivo dos decápodes para a nutrição e pode representar entre 2 a 6% do peso total corporal (NUNES et al., 2014; SILVA et al., 2018).

No hepatopâncreas, as células epiteliais R, estão envolvidas com armazenamento de lipídeos e outros materiais excedentes, como glicoproteínas em menores volumes, essas reservas são utilizadas pelos animais para reserva de energia e redução de fome durante a muda (MENDEZ-MARTINEZ et al., 2018).

Os nutrientes podem ser parcialmente hidrolisados quando alcançam o suco gástrico do hepatopâncreas que contém proteases, lipases e amilases (NRC, 2011). Muitas enzimas que atuam na catalise, estão envolvidas em reações bioquímicas, geram influência no transporte com a entrada e saída de moléculas através das células, e atuam, ainda na sinalização, respostas imunes, adesão celular e ciclo de mudas (BUXBAUM, 2007; NRC, 2011).

O conhecimento acerca do funcionamento do metabolismo das enzimas digestórias é muito importante para introdução de diversos ingredientes em quantidade específicas para elaboração de ração capaz de ser aproveitada de forma eficaz (SILVA, 2013). Assim como as proteínas, os lipídeos tem digestão parecida em vertebrados, a partir da ação do hepatopâncreas, nos estágios iniciais, a capacidade de digestão lipídica é maior, e estar relacionada no fornecimento de energia e o resguardo das proteínas na formação e reparo dos tecidos (RIVERA-PÉREZ et al., 2010; NRC 2011).

As principais proteases, a tripsina e quimotripsina é presente na maioria dos crustáceos (NRC, 2011). São as mais abundantes nos tecidos dos decápodes (GARCÍA-CARREÑO et al., 1994; FERNÁNDEZ-GIMENEZ et al., 2002; SILVA, 2013). Entre os grupos de enzimas mais comuns nos tecidos do *M. rosenbergii* são: tripsina, carboxipeptidases A e B, leucino-

aminopeptidase, amilase, colagenase, esterase, além da lipase (LEE et al., 1980; D'ABRAMO, 1998).

Em adultos de *M. carcinus* foi caracterizada as enzimas proteolíticas a partir de dietas experimentais e foi destacada que a temperatura 45°C e o pH ao redor 8 tem maior ação sobre os substratos (MANRÍQUEZ-SANTOS et al., 2011).

A tripsina apresenta maior atividade em pH entre 8 e 11, e em temperaturas entre 35 a 45°C (SILVA, 2013). Ela atua fortemente clivando ligações peptídicas no lado das carboxilas de resíduos arginina e lisina (KLOMOKLAO et al., 2007). Enquanto que a quimotripsina atua nas ligações peptídicas adjacentes a resíduos de aminoácidos aromáticos da tirosina, fenilalanina e triptofano, apresenta duas fases distintas: com a formação de uma ligação éster entre o átomo do carbono da carbonila da ligação peptídica e a enzima, na outra fase, a ligação éster é hidrolisada e a enzima é regenerada (NELSON e COX, 2014). Ambas são endopeptidases, rompem ligações peptídicas no interior celular (GONZALEZ e ROBERT-BAUDOUY, 1996; CANDIOTTO, 2013).

A quimotripsina tem rendimento melhor com pH 7 a 8 e temperatura entre 40°C, verificados por (TSAI, CHUANG e CHIANG, 1986; MANRÍQUEZ-SANTOS et al., 2011) para camarões de água doce, enquanto que com o *L. vannamei*, o pH.8 e a temperatura de 27 a 35°C, promovem melhores condições (HERNÁNDEZ-CÓRTES, WHITAKER, GARCIA-CARREÑO, 1997).

As enzimas aminopeptidases são responsáveis pela liberação de aminoácidos livres, além de peptídeos através da hidrolise das ligações peptídicas na posição N-terminal de proteínas (GONZALEZ e ROBERT-BAUDOUY, 1996; SILVA, 2013).

A leucino-aminopeptidase é uma exopeptidase que catalisa a hidrolise de resíduos de leucina na posição terminal N de peptídeos e proteínas (BUARQUE et al., 2010., SERRANO-JUNIOR, 2015). Apresenta maior estabilidade numa faixa de pH entre 7 a 8.5, e a melhor com 8, e temperatura ao redor de 45°C e 55°C para jovens e adultos de *Farfantepenaeus subtilis* (PÉREZ FARFANTE, 1967) (BUARQUE et al., 2009).

A lipase catalisa a hidrolise de triacilgliceróis promovendo a liberação de ácidos graxos e gliceróis para serem transportados para locais onde há necessidade de combustível para os tecidos (NELSON e COX, 2014). A dieta contendo triacilgliceróis são usados em sua maioria para a produção de energia (RIVERA-PÉREZ et al., 2010; MARQUES, 2014). Na pesquisa de Rivera-Pérez et al. (2010) encontraram no hepatopâncreas do *L. vannamei* uma faixa ótima de atuação com o pH de 7 a 8, e temperatura entre 30 a 40°C. Existe uma vantagem quando se compara reservas por glicose por ácidos graxos, capacidade de produzir quase o dobro de

energia, e que não precisa ser hidratados, como ocorre com o amido, tendo menor peso (NELSON e COX, 2014).

Em pós-larvas do camarão gigante de água doce a digestão tem início por uma protease ácida, posteriormente por enzimas alcalinas combinadas, tripsina, quimotripsina e metaloproteases (CHISTY, HASHIM E SHU-CHIEN CHONG, 2009).

A atividade enzimática é maior no hepatopâncreas do que tecido muscular SRIKET, BENJAKUL e VISESSANGUAN (2011). De acordo com NEWMAN et al. (1982); D'ABRÁMO e NEW et al. (2010), enzimas são evacuadas na porção inicial do intestino médio, onde ocorre a maior parte da digestão intra-lúmen.

A aplicação de determinados grupos de alimentos pode alterar o perfil enzimático e causar a redução de algumas enzimas mais importantes para os organismos aquáticos, apesar de destes animais poderem modular seu perfil digestivo frente a disponibilidade alimentar, habilidade desprendida pelos onívoros (STECH, CARNEIRO e JÚNIOR, 2009).

2.7 Efeito de diferentes nutrientes na atividade enzimática

A maioria dos nutrientes são absorvidos pelos túbulos do hepatopâncreas, apesar de uma pequena quantidade ser absorvida através das paredes do intestino médio (MCGAW e CURTIS, 2013).

A capacidade de digestibilidade de alimentos vegetais proteicos tem fraco desempenho quando comparado com de origem animal, devido a presença de oligossacarídeos não digeríveis, reduzidos níveis de aminoácidos e fatores antinutricionais (LANGER, BAKHTIAR E NAKHNOTRA, 2011).

Na natureza devido seu hábito alimentar, os camarões *Macrobrachium* inclui a sua dieta detritos orgânicos vegetais, e podem apresentar quantidade maior de bactérias e fungos que degradam a celulose, podendo proporcionar maior hidrolise desta fonte e elevar a concentração destas enzimas (D'ABRAMO e NEW, 2010).

As bactérias benéficas, dos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Saccharomyces* são capazes de estimular e aumentar a atividade de enzimas, protease, lipase e amilase, importantes para a degradação de substratos para disponibilização de nutrientes e consequente aumento do ganho de comprimento e peso, destacada por SHAILENDER., KRISHNA e SUEWAH, (2012); NEGRINI, (2014); SEENIVASAN et al. (2016); GUPTA, VERNA e GUPTA (2016); KARTHIK, BHAVAN e MANJULA (2018).

2.8 Composição química de dietas experimentais

2.8.1 Proteínas:

Proteínas são macromoléculas formadas por polímeros de aminoácidos, tendo os resíduos de cada aminoácido unido ao seu vizinho por ligação covalente (NELSON e COX, 2014). Em camarões de água doce como os demais crustáceos necessitam de 10 aminoácidos essenciais, como: arginina, histidina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina (D'ABRAMO e NEW 2010). Enquanto que ZIMMERMANN (1998), diz ser 12, a quantidade de aminoácidos a exigência para os camarões de água doce, entretanto este perfil pode sofrer com alteração da alimentação e sua idade.

A alimentação comercial para camarão de água doce, apresenta uma faixa de proteína bruta de 23,8-38,5% como praticado no Havaí, conforme alguns pesquisadores sugerem (CORBIN et al., 1983; D'ABRAMO e NEW, 2010), 28 a 36% em Taiwan (HSIEH et al., 1989; D'ABRAMO e NEW, 2010), e 22 a 30% na Tailândia (NEW, 1990; D'ABRAMO e NEW, 2010). E quando há disponibilidade de alimento natural, a dieta artificial deve conter menor nível de proteína, entre 13-25% (D'ABRAMO e NEW, 2010).

O excesso ou ausência de proteínas às rações é prejudicial ao desenvolvimento dos crustáceos, pois, a capacidade de metabolização de derivados nitrogenados, interfere o equilíbrio osmótico e o transporte de oxigênio para os tecidos (SCHMITT e SANTOS, 1998; GUZMAN et al., 2001; ROSAS et al., 2001; MÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2018).

2.8.2 Lipídeos:

Os lipídeos representam uma classe heterogênea de substâncias com reduzida solubilidade ou insolúvel em água, solúvel em éter etílico, clorofórmio ou benzeno (NELSON e COX, 2014). É componente indispensável em dietas para fornecimento de energia para a pronta utilização, está presente em estruturas de biomembranas, carreadores de vitaminas lipossolúveis, precursores de processos enzimáticos e depressor da fome (ZHAO et al., 2015; AYISI et al., 2017). De acordo com ZIMMERMANN (1998) a forma de lipídeos mais presente na hemolinfa dos crustáceos são os fosfolipídeos, seguido por diacilgliceróis.

A quantidade necessária de ácidos graxos é baseada na satisfação dos animais e do fornecimento adequado de fontes de energias para economizar as proteínas dietárias (D'ABRAMO e NEW, 2010). Dietas com elevado teor de proteínas requer baixa quantidade de lipídeos, devido o balanço energético das proteínas, e os mecanismos fisiológicos compensatórios adotados para reduzir a quantidade de proteínas utilizadas, e disponibilização

de energia por carboidratos, com baixa captação (D'ABRAMO & SHEEN 1994; D'ABRAMO e NEW, 2010).

Níveis superiores a 10% de lipídeos parece ser prejudicial ao crescimento, devido ao excesso de energia, devido o limite da capacidade de metabolização, com efeito em menor crescimento (D'ABRAMO e NEW, 2010). Por outro lado, industrias de produção de rações tendem a acrescentar mais este componente às preparações, alcançando faixa entre 10 e 12%, contendo mais ácidos graxos do tipo ω -6 que o ω -3 (ZIMMERMANN, 1998).

Os lipídeos adicionados à ração podem lubrificar o trato gastrointestinal, o que facilita a passagem de alimentos, expande a palatabilidade e redução de poeiras nas rações peletizadas (TACON, 1987; ZIMMERMANN, 1998). Seja provável que a temperatura da água tenha efeito significativo na utilização de lipídeos pelo animal para uso de energia, devido crustáceos não acumular gordura, apenas o glicogênio, como principal reserva. Apesar de não haver nível específico de exigência de lipídeos para fases de crescimento sob diversas condições ambientais, o excesso de energia diminuirá a eficiência da dieta, e quando baixa, utiliza as proteínas para energia (MÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2018).

A adição de óleo de soja a dietas permite converter os fitoesteróis à colesterol, disponibilizando energia as funções fisiológicas dos crustáceos, quando proporção de 1:4 de lipídeos para carboidratos gera bons resultados em juvenis de *M. rosenbergii* observada por (CLIFFORD & BRICK 1978; D'ABRAMO e NEW, 2010). Estudo de com várias fontes de óleos, destacaram que a adição de 1% de óleo de soja gera melhor impacto com o ganho de peso as pós-larvas KANGPANICH, PRATOOMYOT e SENANAN (2017).

A substituição parcial do óleo de peixe e de lula por óleos vegetais dietéticos, óleo de palma, canola, girassol e de linhaça, em dietas para camarões jovens gigante da Malásia, foi demonstrado que o óleo de lula supera os demais óleos em desempenho, incluído o óleo de peixe, adicionalmente, entre as fontes vegetais, óleo de canola e de linhaça, foram superiores entre as fontes vegetais, e excedeu a fonte derivada de peixe (KIM et al., 2013).

De acordo com ZIMMERMANN (1998), os camarões possuem habilidade de sintetizar glicose a partir da conversão de proteínas e lipídeos através da gliconeogênese, satisfazendo desta forma as suas necessidades energéticas com o catabolismo proteico e lipídico. Mesmo a glicose sendo derivada deste processo a partir de outros nutrientes disponíveis, a economia de proteínas e lipídeos tem importância para a manutenção das atividades fisiológicas.

2.8.3 Carboidratos:

Representam o terceiro composto orgânico mais abundante no corpo animal, formados através da sacarose, frutose, amido, glicose, lactose, celulose, quitina e glicogênio, de forma que as cadeias compostas são mais assimiladas pelos *Macrobrachium* (FAO, 2016).

Níveis de carboidratos dietéticos para os crustáceos tem importância na capacidade digestiva que é refletido pela quantidade de carboidrato usada, e nas concentrações elevadas de amilase observadas em *M. rosenbergii*, deve estar atrelada a onivoria, e alteram o desempenho com os polissacarídeos em dietas para juvenis desta espécie (D'ABRAMO e NEW, 2010).

Poucos estudos envolvendo níveis de adição carboidratos em dietas foram direcionados aos camarões de água doce quanto a mistura com outros itens alimentares. MOHAN et al. (2016) analisaram os efeitos zootécnicos, composição química muscular, atividade enzimática, e estado antioxidante, metabólico com inclusão de (*Ganoderma lucidum*), como fonte de polissacarídeos em diferentes faixas, e concluíram que a suplementação de $2,5\text{g/kg}^{-1}$ melhora o desempenho. No trabalho de DÍAZ e NAKAGAWA (1990) observaram que o amido de batata produziu efeitos melhor sobre desempenho, comparado a outras fontes de carboidratos. Na pesquisa de GONZÁLEZ-PEÑA et al. (2002) destacam que a celulose na dieta do *M. rosenbergii*, é uma fonte de energia digestível e metabolizável.

2.8.4 Vitaminas e Minerais:

As vitaminas provenientes de fontes naturais são mais saudáveis do que as sintéticas, ou seja, vitaminas disponíveis no ambiente é mais saudável para os camarões (NELSON e COX, 2014). De acordo com ZIMMERMAN (1998) são necessárias 17 vitaminas em dietas para os camarões de água doce. Dentre as vitaminas essenciais, vitamina C e E tem importância no crescimento, defesa e a reprodução, são consideradas importantes em dietas para os animais (CONKLIN, 1997; MURALISANKAR et al., 2018).

D'ABRAMO e CONKLIN (1995), e ZIMMERMANN (1998) referem que são necessárias 104 mg/L de ácido ascórbico (ascorbil-2-monofosfato ou ascorbil-6-palmitato) na dieta de *M. rosenbergii*. Porém, assim como não se pode saber ainda quando ocorre deficiência de proteínas, lipídeos e carboidratos para camarões de água doce, a mesma situação ocorre para as vitaminas.

As vitaminas do grupo B, são indispensáveis aos crustáceos, assim como vitamina A e E, compõem os lipossolúveis, com D e K, são transportados pelos lipídeos (ZIMMERMANN, 1998). A astaxantina é encontrada naturalmente em microalgas, como *Haematococcus pluvialis* e levedura, *Phaffia rhodozyma* (SEABRA e PEDROSA, 2010). Segundo os mesmos autores,

a astaxantina é derivada do β -caroteno por hidroxilação e quelação, reações catalisadas pela β -caroteno-hidroxilase e β -caroteno-cetolase, respectivamente.

A carapaça dos crustáceos dispõe de pigmentos que lhe conferem cor específica, que está associada à sua alimentação, apresentando coloração alaranjada, quando impõe tratamento térmico decorrente da desnaturação da astaxantina. Esses animais não podem biossintetizar os pigmentos que contêm astaxantina (D'ABRAMO, 1998).

De acordo com ZIMMERMANN (1998), a promoção da pigmentação pela astaxantina, tem contribuintes como beta-caroteno, xantaxantina, cantaxantina, luteína e zeaxantina, (SIMPSON 1982; PARISENTI, 2011), e que a quantidade de 30 a 70 mg/L deste produto para dietas convencionais ajuda os camarões utilizarem e manterem as funções adequadas com ação destes pigmentos, mantendo nível adequado quando não há óleo de peixe e farinha de camarão.

O betacaroteno natural, apresenta propriedades antioxidantes superiores ao sintético (LEVIN, YESHURUN, MOKADY, 1997; LIRA et al., 2017) e que seu uso na alimentação representa uma alternativa de agregação de valor (LIRA et al., 2017).

Conforme a NRC (2011), os pigmentos carotenoides apresentam algumas funções fisiológicas, (1) pigmento acessório para a fotossíntese, (2), proteção contra a fotossensibilização, (3), fonte de provitamina A, e (4), comunicante entre os organismos aquáticos.

Os minerais são extremamente importantes no carreamento de grupos funcionais específicos de compostos que participam das atividades fisiológicas, especialmente o cobre e o zinco, por compor e contribuir com a defesa de crustáceos (SANTOS, 2005).

Parece que os minerais disponíveis no meio aquático podem ser incorporados ao tecido animal, via ingestão, brânquias e/ou carapaça (BOONYARATPALIN, 1996). A ração deve conter pelo menos 15 minerais, porém não se conhece a quantidade específica de cada mineral que devia ser ofertada aos estágios de desenvolvimento, sexo, e as condições de criação (ZIMMERMAN, 1998).

O cálcio e o fósforo representam maiores constituintes inorgânicos presentes em dietas, apresentando funções estrutural e rigidez do exoesqueleto, o primeiro mineral, está envolvido na transmissão de impulsos, osmorregulação e cofator para os processos enzimáticos, enquanto que o fósforo, é constituinte de nucleotídeos, fosfolipídeos, ácido desoxirribonucleico (DNA), e a parte inorgânica, auxilia na manutenção do pH do fluidos intra e extracelular (ZUBAY, 1983; NRC, 2011).

O magnésio é essencial para a manutenção da homeostase em crustáceos (NRC, 2011). A inclusão de cloreto de magnésio entre 150 a 300 mg/kg melhorou o ganho de peso em *L. vannamei* (ROY et al., 2007; NRC, 2011).

Conforme Rainbow (1997) e Santos (2005) os metais em crustáceos seguem sobretudo duas rotas principais, uma passiva e outra dependente do transporte ativo, na primeira situação os metais ligam-se as proteínas da superfície da membrana epitelial, e são carregados através de cascata termodinâmica.

Os autores MITRA, CHATTOPADHYAY e MUKHOPADHYAY (2005), sugeriram baseado em ensaios laboratoriais, níveis de cálcio/fósforo entre 1.5-2.0:1, e zinco entre 50 a 90 mg/kg⁻¹ sem especificação de estágio, 100 mg/kg⁻¹ vitamina C, destinada a dietas empregada ao crescimento. De acordo com BOONYARATPALIN (1996), a inclusão de cloreto de sódio a dieta oportuniza a absorção de aminoácidos e satisfaz outras necessidades metabólicas resultando em aumento de crescimento.

2.8.5 Energia bruta:

O princípio da energia bruta indica a capacidade de produzir calor (Kcal/kg) ou (Kcal/g) de determinado alimento, oxidado na presença em ambiente rico em oxigênio (25 a 30 atm de oxigênio) (SILVA e QUEIROZ, 2005). De acordo com ZIMMERMANN (1998) os grupos de nutrientes mais ricos em termos de energia bruta (lipídios, 9,5 kcal/g; proteína, 5,6 kcal/g; carboidrato, 4,1 kcal/g). podem ser adicionados as dietas como fonte de energia para economizar proteínas para o crescimento dos animais.

O conhecimento acerca da energia contida em cada nutriente permite que possa gerar economia de item mais oneroso e indispensável ao tecidos animal, como a proteína, que no caso os carboidratos junto com lipídeos podem poupar a energia das proteínas, além de que a melhor maneira para determinar a exigência de proteína bruta em animais aquáticos dar-se pela relação P/E (NRC, 2011; MÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2018)

A quantidade indicada por MITRA, CHATTOPADHYAY e MUKHODEPADHYAY (2005) de energia bruta para reprodutores (3700,00 a 4000,00 kcal/kg) e outras fases (2900,00 a 3200,00 kcal/kg). Enquanto valor mais praticado gira em 4.418,65 kcal/kg em dieta experimental é a mais adequada para pós-larvas do gigante da Malásia GODA et al (2008), ratificado por CHOWDHURY et al., 2008.

2.9 Formulação de dietas para camarões dulcícolas

A ração que é ofertada aos camarões de água doce é desconhecida do ponto vista nutricional e que o processo de fabricação e grau de moagem dos ingredientes tem importância à disponibilização dos nutrientes e atividade das enzimas, alguns trabalhos reportaram que usaram partículas entre 200 a 250 μm para a preparação das dietas (ZIMMERMANN, 1998). Como não se conhece o tamanho dos péletes que sejam adequados para as pós-larvas, alguns trabalhos ofertaram com tamanho variável com 0.7, 1 e 4mm, verificado em ensaios por ANH et al., (2009), CHISTY, HASHIM e CHONG, (2009), AZAM e KOROI (2013).

Os principais insumos dietéticos envolvidos na formulação de rações na aquicultura, são farinha de peixe, farelo de milho, farelo de soja, farelo de trigo, e outros que apresentam importância e são indispensáveis para a qualidade da ração e equilíbrio dos nutrientes necessários ao desenvolvimento do animal, haja vista a necessidade de redução de custos (LAVENS et al., 2000).

Zimmermann (1991) enumerou seis classes de alimentos e um adicional, os mais comuns e os aditivos empregados na formulação e preparo de rações para camarões de água doce no Brasil:

1. fonte animal: farinha de peixe e camarão, farinha de carne e ossos, farinha de sangue, farinha de fígado, farinha de conchas de ostras (suplemento mineral), farinha de sobras e resíduos do processamento de abate de aves, farinha de penas, incluindo até cerdas, óleos, como fonte de energia
2. sementes e oleaginosas: farelo de soja, amendoim, algodão, girassol. São vegetais empregados como suplementos proteicos, produtos resultantes da extração de óleos.
3. grãos de cereais e subprodutos: farelo de trigo, farelo de milho, farelo de arroz, cevada, sorgo, centeia, aveia, linhaça, chia. São alimentos ricos em carbonos, fonte de energia e constituídos de amilose e amilopectina, apresentando conteúdo mineral.
4. raízes: mandioca, polvilho, raspas, batata-doce, beterraba e cenouras (fonte de caroteno), como anterior, são constituídos de carboidratos, com baixas quantidades de proteínas, vitaminas, cálcio e fosforo.
5. Forrageiras: farinha de gramíneas e leguminosas, secas e moídas, são alimentos ricos em carboidratos, vitaminas, minerais e, em alguns casos, proteína;
6. proteínas celulares: leveduras desidratadas provenientes de fermentação, algas filamentosas, fungos e bactérias. Ricos em proteínas, vitaminas, fosforo.
7. aditivos: anti-oxidantes, emulsificantes, imunoestimulantes (antibióticos, hormônios), atrativos, corantes, calcário calcítico, fosfatos, farinha de conchas (minerais), pré-misturas vitamínico-mineral e aglutinantes como o glúten, a celulose

e os Lignosulfonatos. São adicionados em pequenas quantidades, pré-bioticos, pró-bioticos e ácidos orgânicos.

Além destes, subprodutos e descartes de indústrias alimentícias, polpas e sementes de frutos; especiarias, folhas e minerais, podem ser incrementados em determinadas concentrações a dietas para ajudar no barateio e na melhora do desempenho dos camarões.

A farinha de peixe, item comumente empregado em rações para animais terrestres e aquáticos, em 2016, mais 20 milhões de toneladas foram destinadas ao fabrico de farinha e óleo de peixe, conforme URIEL (2017). No ano 1998, 80% da produção mundial desta farinha foi usada para suínos e aves e só 10% foi usado para aquicultura e, em 2008, 60,8% foi usado na piscicultura, o restante foi destinado para nutrição de animais terrestres (FELTES et al. 2010; URIEL, 2017). Em 2012, 68% de farinha, e 74% de óleo de peixe foram destinadas a aquicultura (TACON e METIAN, 2015). Porém, nas últimas duas décadas, os produtos pesqueiros convertidos a farinha de peixe têm sido reduzidos. A farinha de peixe é um dos principais produtos obtidos a partir da produção e captura dos peixes (TACON & METIAN 2008).

É um produto comercial principalmente usado nas rações para animais, maiormente aquelas usadas nas espécies aquáticas (PIKE & JACKSON 2010). É estimado que quase 4 milhões de toneladas de farinha de peixes são consumidas só pelas atividades relacionadas com a piscicultura (TACON & METIAN 2008).

Projeções da FAO (2018) indicam que 16% da produção da pesca serão transformadas em farinha de peixe. A produção de farinha e óleo de peixe devem atingir 5,3 milhões de toneladas e 1 milhão de tonelada respectivamente e, em 2030, a produção de farinha de peixe deve ser 19% superior a 2016, deste volume, 54% resultará de incremento por resíduos de peixes, sobras e aparas provenientes do processamento; a farinha a partir dos subprodutos serão de 34% da produção mundial em 2030.

De acordo com AYISI et al. (2017), a proteína é a molécula mais cara a partir da farinha de peixe em dietas para camarões, e convencionalmente utilizada em rações comerciais.

O setor de produção de farinha e óleo de peixe terão ligeiro aumento dos preços sobre dos produtos em função do crescimento populacional, renda, preço da carne, de modo que, a desaceleração da produção pesqueira e aquícola na China impulsionará preços mais altos (FAO, 2018). Segundo a organização supracitada, o peixe de cultivo apresentará maior valor do que os capturados de forma extrativa, influenciado diretamente pelo aumento da demanda por peixes para consumo humano, e estimulará aumento de até 25% do peixe comercializado internacionalmente até 2030 em relação a 2016.

Os altos preços dos alimentos, incluindo a farinha de peixe, poderão gerar impacto sobre a composição de espécies na aquicultura, provocando mudança de espécies que requerem menos gastos ou que utilizem menores quantidade de ração (FAO, 2018).

Entre os demais itens que são usados para a preparação de rações, o Brasil ocupa a terceira posição na produção de milho no mundo, conforme dados da Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), a produção mundial de milho deverá ser 1,054 bilhão de tonelada na safra do biênio 2018/2019, com leve queda ao ano anterior, no Brasil será de 240,7 milhões de toneladas. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento-CONAB, este cereal deixou de ser apenas um produto para alimentação animal, para commodity exportável, além de servir para a produção de etanol, e de ser utilizado frequentemente como fonte de energia e vitaminas em dietas para os animais (CONAB, 2018).

De acordo com o (USDA), e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), foi produzido no Mundo em 2018, volume de 336,699 milhões de toneladas de soja, o Brasil é segundo maior produtor deste grão, produziu 116,996 milhões de toneladas, este cereal, é uns dos importantes complementos proteicos.

A produção mundial de trigo no mundo em 2018 e 2019 conforme projeções, foi de 733,004 milhões de toneladas, de acordo com dados da USDA (2019). O país que mais produz é a China, o Brasil, devido a demanda, importa trigo da Argentina para complementar as necessidades.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANH, N. T. N., HIEN, T. T. T., MATHIEU, W., HOA, H. V., SORGELOOS, P. Effect of fishmeal replacement with Artemia biomass as a protein source in practical diets for the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture Research**. v.40. p. 669-680. 2009.

ASHELBY, C.H., GRAVE, S.D. e JOHNSON, M.J. Preliminary observation on the mandibles of palaemonoid shrimp (Crustacea: Decapoda: Caridea: Palaemonidea). **PeerJ**. 2015.

AYISI, C. L., HUA, X., APRAKU, A., AFRIYIE, G., KYEI, B. A. Recent studies toward the development of practical diets for shrimp and their nutritional requirements. **HAYATI Journal of Biosciences**. v.24.p.109-117. 2017.

AZAM, K e KOROI, T. Formulation of cost effective grow out feeds for *Macrobrachium rosenbergii* culture in Fiji. **Journal of Oceanography and Marine Research.** v.1. 2013.

BENÍTEZ-MANDUJANO, M. e PONCE-PALAFOX, J. Effects of different dietary of protein and lipid levels on the growth of freshwater prawns (*Macrobrachium carcinus*) broodstock. **Rev. MVZ Córdoba.** v.19. p.3921-3929. 2014.

BOONYARATPALIN, M. Nutritional requirements of commercially important shrimps in the tropics. In: C.B. Santiago, R.M. Coloso, O.M. Millamena & I.G. Borlongan (Eds.). Feeds for Small-Scale aquaculture. Proceedings of the National Seminar-Workshop on Fish Nutrition and Feeds (pp. 10-28). Tigbauan, Iloilo, Philippines: SEAFDEC Aquaculture Department. 1996.

BOYD, C e ZIMMERMANN, S. Grow-out systems water quality and soil management. In: NEW, M. B., VALENTI, W. C., TIDWELL, J. H., D'ABRAMO, L. R., KUTTY, M.N.(Eds). Freshwaters prawns: biology and farming. Oxford. **Willey-Blackwell.** p.239-255. 2010.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico de pesca e aquicultura do Brasil** 2011. Brasília: República Federativa do Brasil, 2013.

BROWN, J. H; NEW, M. B; ISMAEL, D. Culture of other freshwater prawn species. In: NEW, M.B., VALENTI, W.C., TIDWELL, J.H., D'ABRAMO, L.R. & KUTTY, M.N. (Eds.). Freshwater prawns: biology and farming. **Wiley-Blackwell**, Oxford, England. 19 pp. 2010.

BUARQUE, D. S., CASTRO, P. F., SANTOS, F. M. S., AMARAL, I. P. G., OLIVEIRA, S. M., ALVES, K. B., BEZERRA, R. S. Digestive peptidases and proteinases in the midgut gland on the pink shrimp *farfantepenaeus paulensis* (Crustacea, Decapoda, Palaeominidae). **Aquaculture Research.** v. 40. p.861-870. 2009.

BUARQUE, D. S., CASTRO, P. F., SANTOS, F. M. S., AMARAL, I. P. G., OLIVEIRA, S. M., ALVES, K. B., BEZERRA, R. S., 2010. Digestive proteinases and peptidases in the hepatopancreas of the southern brown shrimp (*Farfantepenaeus subtilis*) in two sub-adult stages. **Aquaculture Nutrition.**v.16. 359-369. 2010.

BUXBAUM, E. Fundamentals of Protein Structure and Function. New York: **Springer**. 2007.

CANDIOTTO, F. B., Caracterização de enzimas digestórias do linguado (*Paralichthys orbignyanus*). 2013. 72f. Dissertação (Mestrado em aquicultura). Universidade Federal do Rio Grande. Março, 2013.

CAVALCANTI, L. B. Histórico. In. VALENTI, W. C. (Eds). Carcinicultura de água doce: tecnologia de produção de camarões. Brasília: IBAMA; FAPESP. p.17-20.1998.

CECCALDI, H. J. Anatomy and physiology of digestive tract of Crustaceans Decapods reared in aquaculture. **Advances in Tropical Aquaculture**. p.243-259. 1989.

CHÁVEZ-ALARCON, Z., CHÁVEZ, E.A. Introduction al conocimiento de la biología del langostino *Macrobrachium carcinus* (L.) en el Estado de Veracruz. In: Simposio sobre Biología y Dinámica Poblacional de camarones, 1°, México. Memórias. p. 13-23. 1976.

CHEN, S. M., CHEN, J. C. Effects of pH on survival, growth, molting and feeding of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**. v.218. p.613-623. 2003.

CONKLIN, D. E. Vitamins. In Crustacean nutrition, advances in world aquaculture, vol. 6, ed. L.R. D'Abramo, D.E. Conkin, and D.M. Akiyama, 123–149. Baton Rouge: **The World Aquaculture Society**. 1997.

COELHO, P.A., PORTO, M.R., SOARES, C.M.A. Cultivo de camarões do gênero *Macrobrachium* Bate (Decapoda, Palaemonidae) no Brasil. **EMPARN** (Boletim Técnico 6), Natal, pp. 66. 1981.

COELHO, P.A., PORTO, M.R., SOARES, C.M.A. Biologia e cultivo de camarões de água doce. Departamento de Oceanografia – UFPE, **Série Aquicultura nº 1**. Recife: UFPE, 53p. 1982.

COELHO, P. A. e LIMA, I. A. Cultivo do camarão-pitu *Macrobrachium carcinus* (LINNAEUS, 1758) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) em viveiros comerciais. **Bol. Tec. Cient.** CEPENE. v.11. p.233-244. 2003.

COELHO-FILHO, P. A., GONÇALVEZ, A. P., BARROS, H. P. Artemia nauplii intake by *Macrobrachium carcinus* at different larval stages in laboratory. **Aquaculture**. v.484. p.333-337. 2017.

CORREIA, E. S.; CORDEIRO, E. A. Estudo comparativo do crescimento de camarões de água doce no estado de Pernambuco. In: II Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca, 1981, Recife, PE. *Anais...* Recife, PE: AEP-PE, p. 155-160. 1981.

CORBIN, J.S., FUJIMOTO, M.M. & IWAI, T.Y. Feeding practices and nutritional considerations for *Macrobrachium rosenbergii* culture in Hawaii. In *CRC Handbook of Mariculture, Vol. I: Crustacean Aquaculture*, (Ed. by J.P. McVey & J.R. Moore), pp. 391–412. CRC Press, Boca Raton. 1983.

CHISTY, M. A. H., HASHIM, R., CHIEN-CHONG, A. S. Identification and partial characterization of selected proteolytic enzymes in the digestive system of giant freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) Postlarvae. **Aquaculture Research**. v.40 p. 519-525. 2009.

CHOUDHURY, P.C. Complete larval development of the Palaemonid shrimp *Macrobrachium carcinus* (LINNAEUS, 1758) reared in the laboratory. (Decapoda, Palaemonidae). v.20. p.51-69. 1971.

CHOWDHURY, M. K., GODA, A. M. A. S., EL-HAROUN, E. R., WAFA, M. A., EL-DIN, S. A. S. Effect dietary protein feeding time on growth performance and feed utilization post-larval freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (DE MAN, 1979). **Journal Fisheries and Aquatic Science**. v.3. p.1-11. 2008.

CLEMENS, S., MASSABUAU, J. C., LEGEAY, A., MEYRAND, P., SIMMERS, J. In vivo modulation of interacting central pattern generators in lobster stomatogastric ganglion: influence of feeding and partial pressure of oxygen. **Jneurosci**. v.18. p.2788-2799.1998.

CLIFFORD, H.C. & BRICK, R.W. Protein utilization in the freshwater shrimp, *Macrobrachium rosenbergii*. **Journal of the World Aquaculture Society**. v.9. p.195–208. 1978.

Dados de estimativa da produção de soja: disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>> acesso em: 07 de abril de 2019.

Dados de estimativa da produção de milho: disponível em: <<http://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2018-08/producao-e-exportacao-de-milho-devem-crescer-na-safra-20182019>>acesso em: 07 de abril de 2019.

Dados de estimativa de produção de trigo: disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/releases/trigo-perspec-2019-menor-estoque-e-necessidade-de-importacao-podem-elevar-precos.aspx>> acesso em: 07 de abril de 2019.

D'ABRAMO, L. R., CONKLIN, D. E. New developments in the understanding of the nutrition of penaeid and caridean species of shrimp. Páginas 95-107, in: C.L. Browdy e J.S. Hopkins (Eds), Swimming through troubled water (Proceedings of the special session on shrimp farming, **World Aquaculture Society**. 1-4 de Fevereiro de 1995, San Diego, Estados Unidos. 1995.

D'ABRAMO, L. R. Nutritional requirements of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: comparisons with species of penaeid shrimp. **Reviews in Fisheries Science**. v.6.p.153–163. 1998.

D'ABRAMO, L. R. e NEW, M. B. Nutrition, Feeds and feeding. In: NEW, M. B., VALENTI, W. C., TIDWELL, J. H., D'ABRAMO, L. R., KUTTY, M.N.(Eds). Freshwaters prawns: biology and farming. Oxford. **Willey-Blackwell**. p.218-238. 2010.

D'ABRAMO, L.R. & SHEEN, S.S. Nutritional requirements, feed formulation and feeding practices for intensive culture of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Reviews in Fisheries Science**. v. 2. p.1–21.1994.

DALL, W. e MORIARTY, D.J.W. Nutrition and digestion. In *The Biology of Crustacea, Vol. 5: Internal Anatomy and Physiological Regulation*, (Ed. by L.H. MANTEL), **Academic Press**, New York. pp. 215–61. 1983.

DÍAZ, G. G. e NAKAGAWA, H. Effects of dietary carbohydrates on growth and body components of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Aqua. Living Resource**. v. 3. p.99-105. 1990.

DUNGAN, C. C., FRAKES, T. A., Culture of brackish-freshwater shrimp *Macrobrachium acanthurus*, *M. carcinus* and *M. ohione*. **Proceedings the world Mariculture Society**. v.3. p. 185-191. 1973.

DUNGAN, C. C., HAGOOG, R. W., FRAKES, T. A. Development of spawning and mass larval rearing techniques for blackish-freshwater shrimps of the genus Macrobrachium (Decapoda, Palaemonidae). **Florida Marine Research Publications**. v.12. p. 1-28. 1975.

FAO. Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Branch, 2017. Global Aquaculture Production 1950–2017. **Global Aquaculture Production** (online Query). Rome. FAO. 2017.

FAO. **FishstatJ**, version 2.11.4. Rome: FAO. 2015.

Food and Agriculture of the United Nations-FAO. **Fishery and Aquaculture Statistic**. Rome 104pp. 2016. ISSN 2070-6057.

Food and Agriculture of the United Nations-FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2018**. Meeting the sustainable development goals. Rome. 2018. ISBN 978-92-5-130562-1.

FELTES, M. M. C., CORREIA, J. F. G., BLOCK, J. M., NINOW, J. L., SPILLER, V. R. Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. **Rev. Bras. Eng. Agri. Amb.** v.14.p.669-677. 2010.

FERNÁNDEZ GIMENEZ, A. V., GARCÍA-CARREÑO, F. L., NAVARRETE DEL TORO, M. A., FENUCCI, J. L. Digestive proteinases of *Artemesia longinaris* (Decapoda, Penaeidae) and relationship with molting. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology** v. 132. p. 593-598. 2002.

GAMBA, A. L., *Macrobrachium*: its presence in estuaries of the northern Venezuelan cost (Decapoda, Palaeomonidae). **Caribbean Journal of Science.** v.18. p. 23-25. 1982.

GARCÍA-CARREÑO, F. L., HERNÁNDEZ-CORTÉZ, M. P., HAARD, N. F. Enzymes with peptidase and proteinase activity from the digestive systems of a freshwater and a marine decapods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** v.42. p.1456-1461. 1994.

GIBSON, R. Feeding and digestion in decapod crustaceans. In: PRUDER G, LANGDON CJ, CONKLIN DE (eds) Proceedings of the 2nd international conference on aquaculture nutrition: Biochemical and physiological approaches to shellfish nutrition. Louisiana State University, Baton Rouge, pp 59–70.1983.

GOMES, R. S., LIMA, J. P. V., CAVALLI, R. O., CORREIA, E. S. Acute toxicity of ammonia and nitrite to painted river prawn, *Macrobrachium carcinus*, larvae. **Journal of the world aquaculture society.**v.47. p. 239-247. 2016.

GONZALEZ, T. & ROBERT-BADOUY, J. Bacterial aminopeptidases: Properties and functions. **Microbiology Reviews.** v. 18. p.319-344.1996.

GONZÁLEZ-PEÑA, M., ANDERSON, A. J., SMITH, D. M., MOREIRA, G. S. Effect of dietary cellulose on digestion in the prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture.** v.211. p. 291-303. 2002.

GODA, A. M. A. S. Effect of dietary protein and lipid levels and protein–energy ratio on growth indices, feed utilization and body composition of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man 1879) post larvae. **Aquaculture Research.** v. 39. p. 891.901. 2008.

GRAZIANE, C. A., CHUNG, K. S., DONATO, M. Comportamiento reproductivo y fertilidad de *Macrobrachium carcinus* (Decapoda:Palaemonidae) em Venezuela. **Rev. Biol. Trop.** v.43.p.657-665. 1993.

GRAZIANI, C., MORENO, C., VILARROEL, E., ORTA, T., LODEIROS, C., DONATO, M. Hybridization between the freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) and *M. carcinus* (L.). **Aquaculture.** v.217. p.81-91.2003.

GUPTA, A., VERMA, G., GUPTA, P., Growth performance, feed utilization, digestive enzyme activity, innate immunity and protection against *Vibrio harveyi* of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* fed diets supplemented with *Bacillus coagulans*. **Aquacult. Int.** v.24. 1379-1391. 2016.

GUZMAN, C., GAXIOLA, G., ROSA, C., TORRE-BLANCO, A. The effect of dietary protein and total energy content on digestive enzyme activities, growth and survival of *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767) postlarvae. **Aquac. Nutr.** v.7, p.113–122. 2001.

HARVEY, R. A., CHAMPE, P. C., FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 4^a ed.: Artmed. 2009.

HEINZEL, H. G. Gastric mill activity in the lobster. I. Spontaneous modes of chewing. **J Neurophysiol.** 59 p.528–550. 1988.

HEINZEL, H.G., WEIMANN, J.M., MARDER, E. The behavioral repertoire of the gastric mill in the crab, *Cancer pagurus*: an in situ endoscopic and electrophysiological examination. **J. Neurol.** v.13, p.1793–1803. 1993.

HERMAN, F., E. FIÈVET e P. BOUCHER. Potentialités et intérêts de l'élevage larvaire de la crevette d'eau douce indigène *Macrobrachium carcinus* (Palaemonidae) aux Antilles françaises. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture. v.352. p.81-90. 1999.

HERNÁNDEZ-CÓRTES, P., WHITAKER, J. R., GARCIA, CARREÑO, F. L. Purification and characterization of chymotrypsin from *Penaeus vannamei* (Crustacea:Decapoda).1997.

HOLTHUIS, L. B. Shrimps and prawns of the World. An annotated catalogue of species of interest to fisheries. FAO Fish Synopses (125/1). FAO, Rome, Italy. 1980.

HOPKIN, S.P., NOTT, J.A. Studies on the digestive cycle of the shore crab *Carcinus maenas* with special reference to the B cells of the hepatopancreas. **J. Mar. Biol. Assoc. UK.** v.60, p.891–907. 1980.

HSIEH, C.H., CHAO, N.H., GOMES, L.A.O. & LIAO, I.C. Culture practices and status of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, in Taiwan. In *Anais do III Simpósio Brasileiro sobre Cultivo de Camarão, 15–20 outubro 1989, João Pessoa, Vol. 2: Camarão de Água Doce e Outros*, (Ed. by M.M.R. Martins, E.S. Correia & J.M. Cavalheiro), pp. 85–109. MCR Aquacultura, João Pessoa.1989.

Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis-IBAMA. Instrução normativa nº 5, de 21 de maio de 2004.

Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural-INCAPER. Dado de produção de camarão de água no Espírito Santo. Disponível em: <<https://incaper.es.gov.br/carcinicultura>> acesso em: 25 de julho de 2019.

INGLE, R. M., e BONNIE, ELDRED. Notes on the artificial cultivation of freshwater shrimp. **West indies fish. Bull.**p.1-5. 1960.

Integrated Taxonomic Information System-ITIS. Classificação zoológica do camarão-pitu. Disponível em: <https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=96227#null>. Acesso em: 25 de julho de 2019.

KANGPANICH, C., PRATOOMYOT, J., SENANAN, W. Effects of alternative oil sources in feed on growth and fatty acid composition of juvenile giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). **Agriculture Natural and Resources**. v.51, p. 103-108. 2017.

KARTHIK, M., BHAVAN, S.P., MANJULA, T., Growth promoting potential and colonization ability of probiotics (*Bacillus coagulans* and *Bacillus subtilis*) on the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* post-larvae. **Insights Biol. Med.** v.2. p.007-0018. 2018.

KAWAMURA, G., BAGARINAO, T. U., SENIMAN, N. S., YONG, A. S. K. LIM. L. S. Comparative morphology and function of feeding appendages in food intake behaviour of the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, and the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Borneo Journal of Marine Science and Aquaculture**. v.2. p.26-39. 2018.

KIM, Y. C. N. R., LEE, K. S. C. Y.T., NG, W. K. Effects of replacing dietary fish oil and squid liver oil with vegetable oils on the growth, tissue fatty acid profile and total carotenoids of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture Research**. v.44. p.1731-1740. 2013.

KOTPAL, R. L. Modern text book of zoology invertebrates: animal diversity I. Tenth revised edition. 2012.

KLOMKLAO, S., BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W., KISHIMURA, H., SIMPSON, B. K. Purification and characterisation of trypsins from the spleen of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). **Food Chemistry**. v. 100. p. 1580–1589, 2007.

KUTTY, M.N., HERMAN, F., LE MEN, H. Culture of other prawn species. In: NEW, M.B.; VALENTI, W.C. (Ed.). Freshwater prawn culture: the farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Oxford: Blackwell Science, cap. 21, p. 393-410. 2000.

LARA, L. R e WEHRTMANN, I. S. Reproductive biology of the freshwater shrimp *Macrobrachium carcinus* (L.) (Decapoda: Palaemonidae) from Costa Rica, Central America. v. 3. p. 343-349.2009.

LANGER, S., BAKHTIYAR, Y., LAKHNOTRA, R. Replacement of fishmeal with locally available ingredients in diet composition of *Macrobrachium dayanum*. **African Journal of Agricultural Research**. v. 6. p.1080-1084. 2011.

LAVENS, P., THONGROD, S. e SORGELOOS, P. Larval prawn feeds and dietary importance of Artemia. In: New, M. B., Valenti, W. C (Eds), Freshwater Prawn Culture, Blakwell, Oxford, pp. 91-111. 2000.

LEVIN, G.; YESHURUN, M.; MOKADY, S. *In vivo* peroxidative effect of 9-cis-β-carotene compared with that of the all-trans isomer. **Cancer et Nutrition**. v. 27, p. 293-297. 1997.

LEWIS, J. B., WARD, J., MCIVER, A. The breeding cycle, growth and food of fresh water shrimp *Macrobrachium carcinus* (Linnaeus, 1758). Crustaceana. v.10. p.48-52. 1966.

LIMA, J. P. V. Determinação da salinidade letal e larvicultura do camarão pitu *Macrobrachium carcinus* (LINNAEUS, 1758) sob diferentes sistemas de cultivo. 2014. 147F. tese (Doutorado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura). Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife. 2014.

LIMA, J. F., GARCIA, J. S., SILVA, T. C. Natural diet and feeding habitats of a freshwater prawn (*Macrobrachium carcinus*: Decapoda, Palaemonidae) in the estuary of the amazon river. **Acta Amazonica**. v.44. p.235-244. 2014.

LIMA, J. F., GARCIA, J. S., SILVA, T. C. Foregut morphology of *Macrobrachium carcinus* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). **Acta Amazonica**. v.46. p.209-218. 2016.

LIRA, G. M., LOPEZ, A. M. Q., FIRMINO, G. O., SANTOS, S. D., BEZERRA, R. S. Total carotenoids and antioxidant activity of fillets and shells (*in natura* or cooked) of “Vila Franca” shrimp (*Litopenaeus Schmitti*) in different intervals of storage under freezing. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 41. p.94-103. 2017.

MACIEL, C. R., e VALENTI, W. C. Biology, fisheries, and aquaculture of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*: a review. **Nauplius**. v.17.p.61-79. 2009.

MANRÍQUEZ-SANTOS, T. J., ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, C. A., ARIAS-RODRÍGUEZ, L. GUERREIRO-OLARAZÁN, M. VIADER-SALVADO, J.M., AGUILAR-BRISENO, J. A. Caracterización de Enzimas Digestivas, Digestibilidad *in vitro* y Síntesis de ADNc del Gen de Tripsina en Adultos de la Pigua *Macrobrachium Carcinus*. Avances en Nutrición Acuícola XI - Memorias del Décimo Primer Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, p. 143-171. 2011.

MARQUES, M. R. F. Bioquímica. Florianópolis. Ed: CED/LANTEC, 1. p.182. 2014.

MARQUES, H. L. A., NEW, M. B., BOOCK, M. V., BARROS, H. P., MALLASEN, M., VALENTI, W. C. Integrated freshwater prawn farming: state-of-the-art and future potential. **Reviews in fisheries science & aquaculture**. v.16. p. 264- 293. 2016.

MCGAW, I.J., CURTIS, D.L. A review of gastric processing in decapod crustaceans. *J. Comparative Biochemistry and Physiology*. v.183, p.443–465. 2013.

MELO, G.A.S. Manual de Identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil. São Paulo, **Ed. Loyola**. 429p. 2003.

MÉNDEZ-MARTÍNEZ, Y., GARCIA-GUERRERO, M. U., ARCOS-ORTEGA, F. G., MARTÍNEZ-CÓRDOVA, RIVAS-VEGAS, E. M., PÉREZ-RODRÍGUES, J. C. CÓRTEZ-JACINTO, E. Effect of dietary protein content on growth rate, survival and body composition of juvenile cauque river prawn, *Macrobrachium americanum* (Bate 1868). **Aquaculture Research**. p.1-11. 2017.

MÉNDEZ-MARTÍNEZ, Y., GARCIA-GUERRERO, M. U., ARCOS-ORTEGA, F. G., MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R., YAMASAKHI-GRANADOS, S., PÉREZ-RODRÍGUES, J. C. CÓRTEZ-JACINTO, E. Effect of different ratios of dietary protein-energy on growth, body proximal composition, digestive enzyme activity, and hepatopancreas histology in *Macrobrachium americanum* (Bate, 1868) prawn juveniles. **Aquaculture**. v. 458. p.1-11.2018.

MITRA, G., CHATTOPADHYAY, D. N e MUKHOPADHYAY, P. K. Nutrition and Feeding in freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) farming. **Aqua feeds: Formulation and Beyond**. v.2. p. 17-19. 2005.

MITRA, A e FLYNN, K. J. Importance of interaction between food quality, quantity and gut transit time on consumer feeding growth and trophic dynamics. **Am Nat.** v. 169, p.632–646. 2007.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa n 5, de 21 de maio de 2004. In: diário oficial da união, 28/05/2004, seção 1.pp. 136. 2004.

MORAES-RIODADES, P. M.C., VALENTI, W. C. Morphotypes in male Amazon river prawns *Macrobrachium amazonicum*. **Aquaculture**.v.236, p. 297-307. 2004.

MOHAN, K., PADMANABAN, A. M., UTHAYAKUMAR, V., CHANDIRASEKAR, R. MURALISANKAR, T., SANTHANAM, P. Effect of dietary *Ganoderma lucidum*

polysaccharides on biological and physiological responses of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**. v.464. p.42-49. 2016.

MURALISANKAR, T., BHAVAN, P. S., RADHAKRISHNAN, S., SANTHANAM, P. Dietary Supplement of Medicinal Herbal Leaf Powder on Growth Performance, Digestive Enzymes Activities, Energy Utilization and Vitamin Levels of the Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Proc Zool Soc**. v. 71. p.265–271. 2018.

NEGRINI, C. **Criação de juvenis de camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* em diferentes densidades de estocagem em sistemas de bioflocos**. 2014.41f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável). Universidade Federal do Paraná, PR. 2014.

NELSON, D. L e COX, M. M. Princípios de bioquímica de Lehninger. Ed. **Artmed**. 6^a edição. Porto Alegre. 2014. ISBN 978-85-8271-073-9.

NRC. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. **National Research Council**, National Academies Press, Animal Nutrition Series, Washington, DC. pp. 70–71, USA. 2011.

NEWMAN, M. W., LUTZ, P.L. e SNEDAKER, S.C. Temperature effects on feed ingestion and assimilation efficiency of nutrients by the Malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Journal of the World Aquaculture Society**. v.13, p. 95–103.1982.

NEW, M.B. Freshwater prawn culture: a review. **Aquaculture**. v. 88, p. 99–143. 1990.

NEW, M. B. History and global status of freshwater prawn farming. pp. 1–11. In: Freshwater prawns: biology and farming. (Eds. NEW, M. B., W. C. VALENTI, J. H. TIDWELL, L. R. D'ABRAMO, AND M. N. KUTTY). **Oxford: Wiley-Blackwell** 2010.

NEW, M. B e NAIR, C. M. Global scale of freshwater prawn farming. **Aquaculture Research**. v. 43. p. 960-969. 2012.

NUNES, E.T., BRAGA, A.A., CAMARGO-MATHIAS, M.I. Histochemical study of the hepatopancreas in adult females of the pink-shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* Latreille, 1817. **Acta Histochem.** v.116, p.243-251, 2014.

NUNES, C. A. R., LUDKE, M. C. M. M., PEREIRA, C. M., LIMA, M. R., SANTOS, J. Nutricional assessment of ingredients used in pacific white shrimp feed. **Rev. Caatinga, Mossoró**, v. 29. p. 716 – 724. 2016.

OBA, M., MOLINAM, F. M. L. R., FARIA-MONTEIRO, M. T. C., Ocorrência, em água doce de larvas de *M. acanthurus*, *M. carcinus* e *Potimirim potimirim*. **Ciência e Cultura** (Supl). 32. 515.1980.

PARISENTI, J., BEIRÃO, L. H., VERA, L. C. G., TRAMONTE, OURIQUE, F., BRITO, C. C. S., MOREIRA, C. C. Preference ranking of colour in raw and cooked shrimps. **International Journal of Food Science Technology**.v.46, p.2568-2561. 2011.

PILLEGGI, L. G., e MANTELATTO, F. L. Taxonomic revision of doubtful Brazilian freshwater shrimp species of genus *Macrobrachium* (Decapoda, Palaemonidae). **Iheringia, Série Zoologia**. Porto Alegre, v.102. p.426-437, 2012.

PIKE, I. H., JACKSON, A. Fish oil: production and use now and in the future. Lipid technology. v.22. 2010.

RAINBOW, P. S. Ecophysiology of trace metal uptake in Crustaceans. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**. v. 44, p.169-175, 1997.

RIVERA-PÉREZ, C., M. A. N. DEL TORO, E F. L. GARCIA-CARRENO. Digestive lipase activity through development and after fasting and re-feeding in the whiteleg shrimp *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**. v.300. p.163-168. 2010.

RIVERA-PÉREZ, C., GARCIA-CARRENO, F. L., SABOROWSKI, R. Purification and biochemical characterization of digestive lipase in whitleg shrimp. **Rev. Mar. Biotechnol.** v.13, p. 284-295, 2010.

ROSAS, C., CUZON, G., TABOADA, G., PASCUAL, C., GAXIOLA, G., VANWORMHOUDT, 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; Penaeidae). **Aquac. Res.** v. 32, p.531–547. 2001.

ROY, L. A., D. A. DAVIS, I. P. SAoud, e R. P. HENRY. Supplementation of potassium, magnesium and sodium chloride in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters. **Aquacult. Nutr.** v.13. p104-113. 2007.

SANTOS, J. A. **Determinação de Cu e Zn em fazendas produtoras de camarão do litoral leste do estado do Ceará**. 2005. 75f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2005.

SANTOS, E. P., LEAL, A. L. G., SILVA, P. M. M. CORREIA, E. S. Influência de diferentes dietas na sobrevivência larval do camarão de água doce *Macrobrachium carcinus* (Linnaeus, 1758). **Acta Sci. Biol. Sci.** v. 29.p. 121-124, 2007.

SANTOS, D. B. **Comportamento e desempenho de camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* (DE MAN, 1879) em cultivo misto e monossexto**. 2013. 141f. tese (Doutorado em Psicobiologia). Universidade Federal do Rio do Norte. 2013.

SANTOS, E. A. V., RIBEIRO, K., BARROS, H. P., COELHO-FILHO, P. A. Desempenho de pós-larvas do camarão-pitu submetidas a diferentes frequências alimentares. **B. Inst. Pesca**, São Paulo. v.43. p. 646 - 651, 2017.

SEABRA, L. M. J e PEDROSA, L. F. C. Astaxanthin: structural and functional aspects. **D'ABRAMO**. v.23. p.1041-1050. 2010.

SERRANO-JUNIOR, A. Kinetic parameters of leucine aminopeptidases, optimal pH and temperature in the mud crab *Scylla serrata* and the brine shrimp *Artemia salina*. **Extreme Life, Biospeleology & Astrobiology International Journal of the Bioflux Society**.v.7. 2015.

SILVA, J.W.B., PINHEIRO, F.A., AUGUSTO, J.A.M., GURGEL, J.J.S. Análise dos resultados de pescarias experimentais do camarão pitu *Macrobrachium carcinus* (Linnaeus, 1758), realizadas na bacia do Rio Curu (Ceará, Brasil), no período de julho de 1978 a junho de 1980. **Boletim Técnico do DNOCS**, v.39. p.89-126. 1981.

SILVA, J. F. **Desempenho zootécnico e fisiologia digestiva do *Litopenaeus vannamei* submetidos a cultivos de bioflocos e águas claras.** 2013. 162f. Tese (Doutorado Ciências Biológicas). Universidade Federal de Pernambuco. Recife. 2013.

SILVA, D. J e QUEIRÓZ, A. C. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. Ed. UFV. 5^aedição. 2005.

SILVA, M. A. S., ALMEIDA NETO, M. E., RAMIRO, B. O., SANTOS, I. T. F., GUERRA, R. R. Histomorphologic characterization of the hepatopancreas of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.70. p.1539-1546, 2018.

SCHMITT, A.S.C., SANTOS, E.A., Ammonia-N efflux rate and nutritional state of juvenile pink shrimp, *Penaeus paulensis* (Perez-Farfante), in relation to feed type. **Aquac. Res.** v. 29. p.495–502. 1998.

SHAILENDER, M., KRISHNA, P. V., SUEWAH, B.C., Effects of probiotics on growth and survival of post larvae in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). **International Journal Bioassays (IJB)**. v.12. p.184-190.2012.

SRIKET, C. BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W. Characterisation of proteolytic enzymes from muscle and hepatopancreas of fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). **J Sci Food Agric.** v. 91. p.52–59. 2011.

STECH, M. R., CARNEIRO, D. J e PIZAURO-JUNIOR, J. M. fatores que afetam a produção de enzimas digestivas em peixes e o uso de enzimas exógenas como ferramentas em nutrição de peixes. **Ensaios e Ciência Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde.** v 12. 2009.

TACON A.G.J. The nutrition and feed in go farmed fish and shrimp. A training manual. II. Nutrient sources and composition. Field document. S/E **Food and Agriculture Organization**. Brasilia, Brazil. 1987.

TACON, A. G. e METION, M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. **Aquaculture**. v. 258. p.146-158. 2008.

TACON, A. G. e METIAN, M. Feed matters: satisfying the feed demand of aquaculture. **Rev. Fish. Sci. Aquac.** v.23. p.1–10. 2015.

TENÓRIO, K. E. R. **Avaliação da estrutura genética do camarão de água doce em extinção, pitu (*Macrobrachium carcinus*), no Nordeste como ferramenta para apoiar programas de repovoamento.** 2012. 67f. Dissertação (Mestrado em Genética). Universidade Federal de Pernambuco. 2012.

THUMA J. B., MORRIS, L. G., WEAVER, A. L., HOOPER S. L. Lobster (*Panulirus interruptus*) Pyloric Muscles Express the Motor Patterns of Three Neural Networks, Only One of Which Innervates the Muscles. **Journal Neurosci.** v.23. p.8911-8920. 2003.

TSAI, I., CHUANG., CHIANG. Chymotripsins in digestive tracts of crustacean decapods (Shrimps). **Comp. Biochem. Physiol.** v.85b, p.235-239. 1986.

URIEL, RODRIGUES. Farinha e óleo de peixe: duas matérias primas importantes no mercado global dos ingredientes. Ed. Stilo. **Rev. Aqua Feed.** n.2. edição 14. 2017.

VALÊNCIA, D. M., e CAMPOS, M. R. Freshwater prawns of the genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) of Colombia. **Zootaxa**. p.1-44 25. 2007.

VALENTI, W. C. Cultivo de camarões de água doce. São Paulo. **Nobel XII**. p.82. 1985.

VALENTI, W. C. Criação de camarões de água doce. In: Congresso de Zootecnia, 12º, Vila Real, Portugal, Vila Real: Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos. **Anais...** p. 229-237. 2002.

VALENTI, W. C., MALLASEN, M., BARROS, H. P., Sistema de recirculação e rotina de manejo para larvicultura de camarões de água doce *Macrobrachium rosenbergii* em pequena escala - **Bol. Inst. Pesca, São Paulo.** v.35. p.141 – 151. 2009.

XIAO, X., HAN, D., ZHU, X., YANG, Y., XIE, S., HUANG, Y. Effect of dietary cornstarch levels on growth performance, enzyme activity and hepatopancreas histology of juvenile red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard). **Aquaculture.** v.426. p.112–119. 2014.

WEIMANN, J.M., MEYRAND, P., e MARDER, E. Neurons that form multiple pattern generators: identification and multiple activity patterns of gastric/ pyloric neurons in the crab stomatogastric system. **J Neurophysiol.** v.65. p.111–122, 1991.

WEIMANN, J. M e MARDER, E. Switching neurons are integral members of multiple oscillatory networks. **Biological Sciences.** v.4. 1994.

ZHAO, W., WANG, Z., QI, Z., LU, L., ZHANG, Y. FU, L. Growth and antioxidant status of oriental river prawn *Macrobrachium nipponense* fed with diets containing vitamin E. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology.** v.34. p.477-484. 2015.

ZIMMERMANN, S. Manejo de alimentos e alimentação de camarões. In: VALENTI, W. C. (Eds). Carcinicultura de água doce: tecnologia para a produção de camarões. Brasília: IBAMA; FAPESP. pp.239-268. 1998.

ZIMMERMANN, S. Aquicultura do camarão de água doce, desenvolvimento e perspectivas no estado do Rio Grande do Sul. *Logos.* v.3. p.55–60.1991.

ZUBAY, G. L. Biochemistry. Reading, MA: Addison-Wesley Publishing Company, Inc. 1983.

CAPÍTULO 3

Efeito dietético da relação proteína-lipídeo no desempenho zootécnico e atividade de enzimas digestivas do hepatopâncreas de pós-larvas do *Macrobrachium carcinus* (LINNAEUS, 1758)

Geuan Pereira Reis^a, Iru Menezes Guimarães^b, Janilson Felix da Silva^d, Elton Lima Santos^c,
¹Petrônio Alves Coelho-Filho^e

^a Discente, Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas (CECA - UFAL), Rio Largo, Alagoas, Brasil.

^b Pesquisador, Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba, 4º Superintendência Regional (CODEVASF, SE), Neópolis, Sergipe, Brasil.

^c Professor, Curso de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas (CECA - UFAL), Rio Largo, Alagoas, Brasil

^e Professor, Curso de Engenharia de Pesca, Universidade Federal de Alagoas, Penedo, Alagoas, Brasil.

^d Pesquisador, Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco (LABENZ-UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, 1235, cidade Universitária, Recife, Pernambuco, Brasil.

ABSTRACT

This study aimed to determine the dietary effect of protein/lipid ratio in the zootechnical performance, and activity of digestive enzymes in post-larvae to painted river prawn *Macrobrachium carcinus*. Six experimental diets with three levels of crude protein (220, 300 and 350 g kg⁻¹) and two levels lipids (80 and 100 g kg⁻¹) were evaluated in post-larvae with middle weight (1.86mg ± 0.65) in a factorial arrangement (3x2) with eight replicas, distributed in six different relations protein: energy (P/E), in:11, 12, 16, 17, 19 and 20 mg CP KJ⁻¹ GE g⁻¹ shared in 48 experimental units. The zootechnical variables assessed and activity of digestive enzymes were affected by the P/E ratios, however, no statistical difference was found for the survival (p-value=0.5055) and activity of leucine-aminopeptidase (p=0.4936). The influence of dietary P:E ratio had a significant interaction with the variables tested. The ratio P/E of 11 showed greater IHS (%) between treatments. The proteases showed higher concentration according to the increase of proteins, as well as the lipase, which was high regardless of the amount of proteins (p<0.05). These results showed that best P/E for PLs under the condition is with 19 mg CP KJ⁻¹ GE g⁻¹ through diet (350g kg⁻¹ 80 g kg⁻¹) that presented synergy and better adjusted to the food needs.

Keywords: Feed, Nutrient, Digestive system, Growth.

Abreviações: UE, unidades experimentais; PB, Proteína bruta; L, Lipídeos; EB, energia bruta, P/E, Relação proteína/Energia; PI, peso inicial; PL, peso líquido; PM, peso médio; GP, ganho de peso; GPD, ganho de peso diário; CAA, conversão alimentar aparente; IHS-indice hepatossomático; S, sobrevivência; PLs, pós-larvas; DP, desvio padrão; PROT, proteases totais; TRIP, tripsina, QUI, quimotripsina, LEU, leucino-aminopeptidase; LIP, lipase.

¹ Endereço para correspondência:petroniocoelhofilho@gmail.com (Petrônio Alves Coelho Filho)

1. INTRODUÇÃO

A carcinicultura de água doce é uma atividade atrativa que apresenta uma das fontes importantes de interesse de pescado no mundo em quantidade e em valor (New, 2010; Marques et al., 2016). Porém poucas espécies do gênero *Macrobrachium* são criadas e pesquisadas, os principais representantes concentram-se na Ásia, o *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) e *Macrobrachium nipponense* (De Haan, 1849) (Banu e Christianus, 2016). Apesar de outras espécies deste gênero apresentarem condições para o cultivo, a tecnologia para seu emprego é pouco difundida na aquicultura (New, 2002; Méndez-Martínez et al., 2017).

No Brasil das 17 espécies que ocorre do gênero *Macrobrachium*, destacam-se o *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862), *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) e *Macrobrachium carcinus* (Linnaeus, 1758) representam os principais camarões de água doce que apresentam características que se adequam para as condições de confinamento (Pillegge e Mantellato, 2012). E compõem cerca de 85% da produção, através da pesca artesanal, como fonte de renda para várias famílias (Valenti et al., 2010a).

O *M. carcinus* é encontrado em ambientes de água doce próximo a estuários, com distribuição natural desde Flórida (EUA), até a porção sul do Brasil (Melo, 2003; Santos et al., 2017). Classificada como vulnerável e sua pesca é proibida desde 2004 (MMA, 2004; Coelho-Filho et al., 2018). Apresenta características que atendem bem as condições de cultivo, como seu grande porte (o macho adulto pode alcançar até 30cm de comprimento total), rusticidade, alta fecundidade (14.000 a 240.000 ovócitos) e onívoro (Holthuis, 1980; Lara e Wehrtmann, 2009; Valenti et al., 2010a; Yamasaky-Granado et al., 2013; Méndez-Martínez et al., 2018). Apresenta carne com sabor agradável, e possui demanda mesmo com elevados valores de comercialização no mercado, sobretudo na região nordeste do Brasil (Santos et al., 2007).

Não há registro de produção comercial com o *M. carcinus*, apesar de experiências preliminares em 1960 por (Ingle e Eldred, 1960), em que reportaram uso de alimento à base de náuplios de Artêmias a larvas do camarão-pitu, enquanto que 1961, por Lewis (1961), ressaltou o uso da farinha de peixe seca em dieta para crescimento de juvenis e adultos (Choudhury, 1971), assim como Coelho e Lima (2003) que avaliaram a possibilidade de cultivo do pitu para fins comerciais e concluíram haver viabilidade do emprego desta espécie em viveiros escavados.

Em razão a esses fatores, o emprego do *M. carcinus* no roll da aquicultura pode contribuir com aumento da disponibilidade alimentos e ajudar com a preservação, porém apesar do evidente potencial para cultivo, informações sobre as características nutricionais e da fisiologia alimentar são bastante escassas. Apenas os estudos de Santos (2007) e Coelho-Filho et al. (2018) avaliaram os regimes e a frequência de alimentação durante a fase larval com o uso de náuplios de Artêmias para alimentação, enquanto que Santos et al. (2017) analisaram a frequência alimentar das pós-larvas com dieta inespecífica, e Benítez-Mandujano e Ponce-Palafox (2014) investigaram níveis de proteína e lipídio na dieta para reprodutores do camarão-pitu.

Não há referência acerca de dietas para pós-larvas do camarão-pitu, em que contemple uma relação adequada de proteínas e energia disponível à dieta, a partir da combinação de proteína e lipídeo, elementos indispensáveis para um manejo alimentar para cultivo comercial, informações que devem ser avaliadas de forma específicas, pois o hábito alimentar e as exigências nutricionais podem diferir em animais do mesmo gênero (McGaw e Curtis, 2013; Méndez-Martínez et al., 2018).

O camarão-pitu é espécie onívora com importante tendência a carnívoria, apesar de amplo consumo de detritos, semelhante em outras espécies deste gênero que aproveitam diversos itens alimentares (Lima et al., 2014). A necessidade de estudos específicos são necessários para apresentar os requisitos nutricionais nos diferentes estágios de crescimento, sobretudo no que tange a concentração protéica e lipídica do alimento, devido o papel no crescimento e fornecimento de energia (Xiao et al., 2014; Tacon e Metian, 2015; Méndez-Martínez et al., 2018).

As proteínas são macromoléculas mais caras em dietas, a sua quantidade influencia no gasto energético pelo animal para a metabolização e interfere na eficiência do alimento e no crescimento, com prejuízos ecológico e financeiro (Amaraweera et al., 2013). Enquanto que não se conhece o nível específico da exigência de lipídeos para fases de crescimento, o excesso de energia diminui a eficiência da dieta, e quando baixa, utiliza as proteínas para energia (Méndez-Martínez et al., 2018). O valor nutricional das proteínas depende da sua composição em aminoácidos (Portella et al., 2013; Abdel-Salam, 2014; Méndez-Martínez et al., 2017). Os camarões de água doce necessitam de 10 aminoácidos essenciais, apesar deste número não estar consolidado e sofrer flutuações em função do crescimento e dos microrganismos no trato digestivo (D'abramo & New, 2010).

O lipídeo dietético tem importante papel no fornecimento de ácidos graxos, esteróis e fosfolipídeos, necessários para a manutenção metabólica e crescimento (Indulkar e Belsare, 2003). Desse modo, os níveis de lipídeos, tem sintonia com o desenvolvimento, sobrevivência e conversão alimentar (Zhang et al., 2013). Além de participarem diretamente na redução da fome durante a muda, carreamento de vitaminas lipossolúveis, palatabilidade das dietas e precursores de hormônios (NRC, 2011).

Estudos sobre requerimentos de proteínas e lipídeos para os camarões de água doce apontam uma faixa de 30 a 50% de proteína bruta (Tacon, 1987; NRC, 2011; Méndez-Martínez et al., 2017) e 2 a 12% de lipídeos, onde a maioria dos crustáceos apresentam bom crescimento, porém não há definição apropriada quanto a quantidade específica de cada nutriente (Zhao et al., 2016).

Para pós-larvas de *Macrobrachium rosenbergii*, recomenda-se dietas contendo 300 g kg⁻¹ de proteína bruta (PB), e 100 g kg⁻¹ de lipídeos (L) (Goda, 2008), 350 g kg⁻¹ de (PB) e 116 g kg⁻¹ de (L) tem melhor efeito no desempenho de crescimento (Chowdhury et al., 2008). Para camarões jovens de *M. americanum* (Bate, 1868) dietas contendo 350 g kg⁻¹ (PB) e 100 g kg⁻¹ (L) são mais apropriadas (Méndez-Martínez et al., 2018). Animais jovens *M. tenellum* (Smith, 1871) reagem melhor aos aspectos zootécnicos com 400 g kg⁻¹ de (PB), 84,7 g kg⁻¹ de (L) (Espinosa-Chaurand et al., 2012). Para o *M. nipponense* (De Haan, 1849) a quantidade de 330 g kg⁻¹ de (PB) e 140 g kg⁻¹ de (L) satisfaz as condições alimentares (Zhang et al., 2016).

A eficácia do efeito poupadour das proteínas sobre carboidratos e lipídeos está relacionado a relação Proteína / Energia (P/E) contida nas dietas, e é que mais se adequa a forma de verificar a exigências de proteínas para animais aquáticos (NRC, 2011; Méndez-Martínez et al., 2018). Alguns trabalhos com pós-larvas e juvenis de *Macrobrachium* indicaram as melhores relações dietárias ótimas de P/E, na faixa de 16.49 a 21mg PB KJ⁻¹ EB g⁻¹ (Zhang et al., 2017; Goda, 2008; Chowdhury et al., 2008; Teshima et al., 2006). Em adição a qualidade do alimento, o entendimento da fisiologia digestiva, a partir da atividade enzimática indica a capacidade de aproveitamento dos nutrientes, permite contribuir com a formulação de dietas cuja ação das enzimas melhora a absorção de nutrientes, e a produção de células fibrilares contidas no

hepatopâncreas que são responsáveis pela síntese de enzimas, e incrementadas com flora intestinal (NRC, 2011).

Além de conhecer a qualidade nutricional que melhor surte efeito, os aspectos da ração devem ser compreendidos e andar correlacionados para maior aproveitamento pelos animais nos diferentes períodos ontogenético (Chowdhury et al., 2008). Diante disto, este trabalho teve como objetivo determinar o efeito dietético de diferentes proporções de proteína/lipídeo para avaliar o desempenho zootécnico e atividade de enzimas digestivas em pós-larvas do *M. carcinus*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Desenho experimental

O estudo foi conduzido no Centro Integrado de Recursos Pesqueiros e Aquicultura de betume (4^a SR), localizado no perímetro irrigado de betume, no município de Neópolis, estado de Sergipe, integrado à Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba.

Foi delineado um experimento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial (3x2), com 8 repetições. Foram elaboradas 6 dietas contendo três níveis de proteína bruta (220, 300 e 350 g kg⁻¹) e dois níveis de lipídeos (80 e 100 g kg⁻¹), para fornecer uma relação P/E das dietas: 11, 12, 16, 17, 19, 20 PB KJ⁻¹ EBg⁻¹.

As unidades experimentais (UE) foram confeccionadas com tubos de PVC (altura=0,21m x diâmetro=0,18m), possuindo volume útil de 5,34 L e área total de 1384,74 cm², adicionado em cada unidade experimental, porções de tela de PVC com área total de 56.52 cm². As (UE) ficaram dispostas de forma equidistantes em calhas de fibro-cimento, revestida com epóxi, funcionando como um race-way, por onde a água após filtragem mecânica, fluía continuamente com 3,5L/min. Foi adotado o fotoperíodo natural, conforme recomendado por (Brown et al., 2010).

Foram utilizadas pós-larvas recém metamorfoseadas produzidas pelo próprio Laboratório. Antes do início do experimento, as pós-larvas foram aclimatizadas por 5 dias em tanques de 150L (15 Pós-Larvas PLs/ L) abastecidos com água doce em sistema de recirculação tradicional. Durante a aclimatização, as pós-larvas foram alimentadas diariamente com ração seca comercial para peneídeo (40% de proteína, 6% de lipídeos, 2% de fosfolipídeos, 3% de fibras e 15% cinzas), sendo ofertada a quantidade correspondente a 15% da biomassa total em cada tanque, distribuídas em 4 porções ao dia (Santos et al., 2017).

Após a aclimatação, 6 pós-larvas com peso médio de 1,86±0,65mg foram estocadas em cada (UE), alimentadas com as dietas experimentais posta em pequenos comedouros com 10cm de diâmetro, 4 vezes ao dia (07h30, 11h30, 15h30 e 19h30), com oferta de 100% da biomassa (5 dias), 60% (15 dias) até 30% nos últimos 10 dias restantes. A quantidade de ração foi ajustada de acordo com as sobras. A cada dois dias, as (UE) eram sifonadas para retirada de resíduos e restos de alimentos.

Após 30 dias, os camarões remanescentes em cada unidade experimental foram contados, pesados (balança analítica digital 0,0001g) e congelados em nitrogênio líquido para realização das análises enzimáticas. Para análise zootécnica, determinou-se a sobrevivência (S), peso líquido (PL), peso médio final (PM), ganho de peso (GP), ganho de peso diário (GPD), conversão alimentar aparente (CAA) e índice hepatossomático (IHS), conforme descrito por Rasid et al (2017) e Méndez-Martínez et al (2018).

Para os cálculos foram utilizadas as equações: S (%) = (Número total de animais vivos)/(Número total de animais inicial) x 100; PL (mg)= peso bruto (mg)-peso da tara (mg); PM (mg)= Peso liquido (mg)/nº de animais de cada tanque; GP (mg) = Peso final (mg) – Peso

inicial (mg); GPD(mg)= Ganho de peso (mg)/período do experimento; IHS (%)= peso do hepatopâncreas (mg)/peso líquido (mg); CAA = total de dieta ofertada (g) / total de peso dos camarões (g).

A temperatura da água (°C), oxigênio dissolvido (mg L⁻¹) e o pH foram verificados diariamente, através de sonda multiparâmetros (YSI ProPlus, Ohio, USA), e amônia total (mg L⁻¹ NH₃+NH₄), alcalinidade total (mg L⁻¹ CaCO₃) e dureza total (mg L⁻¹ CaCO₃), medidos semanalmente de acordo com Apha (1998).

2.2 Formulação e preparação das dietas

As 6 dietas foram elaboradas com a utilização do software Super Crac® versão 5.7 master (tabela 1). Os ingredientes utilizados são comumente empregados na formulação e preparo da alimentação de organismos aquáticos, conforme procedimentos aplicados em estudos anteriores com espécies do gênero *Macrobrachium* (Araújo e Valenti, 2005; Chowdhury et al., 2008; Goda, 2008; Mohamed et al., 2017, Méndez-Martínez et al., 2018). As farinhas de peixe e camarão, junto com farelo de soja foram utilizadas para elevar o teor de proteínas, e para os lipídeos, óleo de peixe e de soja. Os ingredientes foram reduzidos em moinho (TIPO WILLEY, DE LEO, EDB-5) e peneirados em malhas de 250µm. Todos os ingredientes foram pesados em balança digital e homogeneizados manualmente durante 30 minutos, utilizando bandejas previamente higienizadas, com a mistura inicial dos macroingredientes, e em seguida por demais ingredientes, adicionando o óxido de ferro (Fe₂O₃). Durante esta etapa, adicionou-se ao seu peso 20% em água, até obter massa moldável à mão. As dietas foram peletizadas em moedor de carne (PCP 98M) utilizando disco com aberturas com diâmetro de 5mm. Os péletes foram secos em estufa (Solab SL, 102/480) durante 40h a 55°C em circulação de ar forçado. Os péletes das dietas experimentais foram reduzidos em moinho e classificados em tamanho de 710-1000µm através de peneiras, como recomendado por Anh et al (2009), e acondicionados em recipientes identificados conforme o tratamento, e mantidos em freezer vertical a -22°C para posterior utilização.

Tabela 1

Ingredientes da formulação das dietas experimentais para pós-larvas do camarão *M. carcinus*

Dietas	220	220	300	300	350	350
Proteína (g kg ⁻¹)	220	220	300	300	350	350
Lipídeo (g kg ⁻¹)	80	100	80	100	80	100
Relação P:E (mg PB KJ ⁻¹ EB g ⁻¹)	11	12	16	17	19	20
Ingredientes (%)						
Farinha de peixe (55%)	17,50	9,20	17,00	22,84	43,59	35,29
Farinha de camarão ¹	17,53	19,86	21,20	22,14	15,00	17,91
Farelo de soja	13,20	17,10	23,20	29,00	22,00	30,57
Farelo de milho	19,00	29,50	23,50	15,70	3,15	7,02
Farelo de trigo	12,00	18,50	6,70	3,50	5,41	1,37
Amido de milho	16,08	3,60	1,50	3,40	10,63	4,87
Óleo de peixe	2,90	1,40	3,70	2,31	0,12	2,86
Óleo de soja	1,70	0,74	3,10	1,01	-	-
Mix mineral para camarão ²	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Mix vitamínico para camarão ²	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Corante (Fe ₂ O ₃) ³	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

¹farinha de camarão marinho *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862). ² Mix-min. Fe 6500 mg, Cu 625mg, Zn 6250 mg, Mn 1875 mg, Se 12.5 mg, I 62.5 mg, Co 12.5 mg. (kg de alimento seco) ³Mix vit. A 100000 IU, D3 250000 IU, E 12500 mg, K3 1250 mg, B1 1875 mg, B2 1875, B6 1250 mg, B12 2500, Niacina 10000 mg, Ácido

pantotênico 5000 mg, Biotina 62,5 mg, ácido Fólico 625 mg, Vit. C 12500 mg, Colina 50 mg, Inositol 12500 mg (kg de alimento seco). DSMTM. ³ pigmento de óxido de ferro vermelha.xadrez®.

Foram feitas análises químicas das dietas de acordo com AOAC (1995). A matéria seca foi determinada com perda da umidade até obter peso constante a temperatura de 105°C por 16h. A matéria mineral obtida a partir da queima das amostras em mufla a temperatura de 600°C por 4h. O extrato etéreo foi quantificado através do método a frio usando o extrator Soxhlet com solvente éter sulfúrico por 24h. Proteína bruta determinada pelo método de Kjeldahl (1984) por meio da digestão, destilação e titulação, e o valor de nitrogênio obtido, multiplicado pelo fator (6,25). A energia bruta a partir do uso da bomba calorimétrica.

Tabela 2

Bromatologia das seis dietas experimentais para as pós-larvas do camarão-pitu.

	Dietas					
	220	220	300	300	350	350
Proteínas (g kg ⁻¹)	220	220	300	300	350	350
Lipídeos (g kg ⁻¹)	80	100	80	100	80	100
Composição química (%) ^a						
Matéria seca	93,98	93,98	94,65	95,09	94,96	94,89
Proteína bruta	22,09	22,50	30,45	31,8	35,60	35,36
Extrato etéreo	9,00	10,20	7,74	9,66	8,44	9,66
Matéria mineral	13,83	12,58	15,29	15,63	16,43	14,90
Energia bruta (MJ g ⁻¹)	19,03	18,89	18,51	18,00	18,58	18,23
Relação proteína energia (mg PB kj ⁻¹ EB g ⁻¹)	11	12	16	17	19	20

^aOs dados resultam-se em média das análises em duplicata.

2.3 Análise das enzimas

Para as análises das atividades enzimáticas, foram extraídos o hepatopâncreas de todos os exemplares remanescentes das unidades experimentais, armazenados em tubos Eppendorf e congelados a -20°C. Em seguida, foram macerados com pistilo e homogeneizados em uma solução tampão Tris-HCl 0,01M, pH 8 e 0,9% salina. O homogeneizado foi centrifugado (Pro-Research, Cenurion Scientific LTD, K241K) à frio (4°C) 1000 x g(force) por 10 min, e o sobrenadante (extratos brutos), medido a proteína solúvel total em extratos brutos como descrito por Bradford (1976) usando albumina de soro bovino como proteína padrão. E posteriormente foi transposto a tubos falcons® com identificação específica e acondicionados a -20°C para posteriores análises.

A atividade das proteases totais alcalinas determinada em triplicata conforme Leighton et al., (1973) e Alencar et al., (2003) através do uso de Azocaseina (substrato não específico), de modo que os resultados foram expressos em (U) da atividade da enzima, e foi definida como a quantidade de enzima necessária para hidrolisar a azocaseina e produzir uma variação de 0.001 unidades de absorbância por minuto. E tripsina, quimotripsina e leucino-aminopeptidase foram utilizados substratos específicos, determinadas conforme Buarque et al. (2010) utilizando BApNA (Benzoi-D,L-Arginine-p-Nitroanilidesubstrato) 8mM específico para identificar atividade de tripsina, SApNA (Succinil-alanine-p-nitroanilide) substrato específico para identificar atividade quimotripsina, LeupNAN (leucine-p-nitroanilide) substrato específico para identificar atividade leucino aminopeptidase, e o DMSO (Sufóxido dimetil) usado como solvente nos substratos, tendo a absorbância lida em espectrofotômetro (BIO-RAD, X-MarkTM) a 405nm. Uma unidade (U) definida como a quantidade de enzima necessária para

produzir um mol de p-nitroanelina por minuto. Atividade específica foi expressa em unidades por miligramas de proteína.

A atividade da lipase foi determinada (triplicata) com substrato, p-NP-palmitato 8Mm preparado em isopropanol, e solução goma arábica 0,1%, e sua absorbância lida em espectrofotômetro de placas a 405nm, conforme Aryee et al. (2007).

2.4 Análise estatística

Os resultados foram expressos por média \pm desvio padrão. Foram testados os pressupostos de normalidade dos dados, utilizando o teste do Shapiro-Wilk, e do teste de homocedasticidade (igualdade de variância) usando o teste de Bartlett. Foi realizada a comparação dos dados obtidos por meio da análise de variância (anova) em (*TWO WAY*). A interação entre as variáveis (proteína-lipídeos) verificados em arranjo multifatorial, quando houve a interação, realizou-se o desdobramento de um fator dentro do outro. Os dados em porcentagem foram transformados em arco-seno (Zar, 1996). Quando o teste F significativo foi realizada a comparação da diferença das médias com o teste de Duncan a ($p<0,05$) de significância. Os testes foram avaliados através do software R®. Utilizou-se o teste de Análises de Componentes Principal (PCA) através da matriz de covariância para explorar as diferenças entre os principais fatores.

3.RESULTADOS

3.1 Qualidade da água

Os parâmetros da qualidade da água (tabela 03) estiveram dentro da faixa recomendada por Boyd e Zimmermann (2000) e New (2002) para camarões de água doce para todos os tratamentos. O oxigênio dissolvido apresentou leve incremento a partir do aumento da luminosidade solar. Os valores do pH e amônia total tiveram pouca oscilação, enquanto que valores de alcalinidade, dureza apresentaram maiores oscilações, os valores que são normalmente encontrados na água do rio, fonte que abasteceu as unidades experimentais.

Tabela 3

Valores observados dos parâmetros da qualidade da água (máximo, mínimo) e a média, avaliados durante a realização do experimento.

	Temperatura (°C)	Oxigênio Dissolvido mg L^{-1}	pH	Alcalinidade CaCO_3 mg L^{-1}	Dureza CaCO_3 mg L^{-1}	Amônia $(\text{NH}_3+\text{NH}_4)$ mg L^{-1}
Máx.	31,60	10,30	8,08	50,00	53,19	0,09
Min.	26,70	4,48	7,62	12,00	43,10	0,02
Média±DP	$29,16 \pm 0,67$	$7,39 \pm 0,84$	$7,74 \pm 0,11$	$33,50 \pm 9,91$	$47,15 \pm 3,37$	$0,05 \pm 0,02$

3.2 Aspectos zootécnicos

Os resultados de desempenho zootécnico estão dispostos na tabela 4, em que estão expostos a combinação e sem a associação das dietas. A taxa de sobrevivência foi semelhante para os diferentes tratamentos (p -valor=0,5055), variando de $86,69 \pm 19,93$ a $95,61 \pm 5,90\%$. A CAA, apresentou variação entre $1,30 \pm 0,51$ a $2,54 \pm 0,63$, e o IHS(%), entre $2,45 \pm 0,30$ a $4,80 \pm 0,99$, os maiores valores ficaram associados com a relação P/E 11, e os menores, com P/E 19, para estes

dois fatores, e que a maior interação encontrada entre os níveis testados para estas variáveis, foi maior em dietas com maiores teores de proteínas, e de lipídeos, em menor quantidade, foi suave. As demais variáveis zootécnicas exibiram melhores rendimentos através da relação P/E 19, tratamento (350g kg^{-1} PB: $80\text{ g kg}^{-1}\text{L}$) que tiveram maior associação, e com a interação, padrão semelhante para as variáveis anteriores mencionadas.

Em relação a avaliação específica (sem combinação), aos níveis de proteína bruta contidas nas dietas, os maiores rendimentos encontrados por meio das variáveis zootécnicas, PL, PM, GP, GPD, foram identificadas com as pós-larvas que se alimentaram com a dieta de 350 g kg^{-1} de proteína bruta, com a melhor CAA , e entre os dois níveis de lipídeos, não foi encontrada diferenças estatísticas. E em relação ao maior valor de IHS(%) foi observado com a menor concentração de proteína, 220 g kg^{-1} .

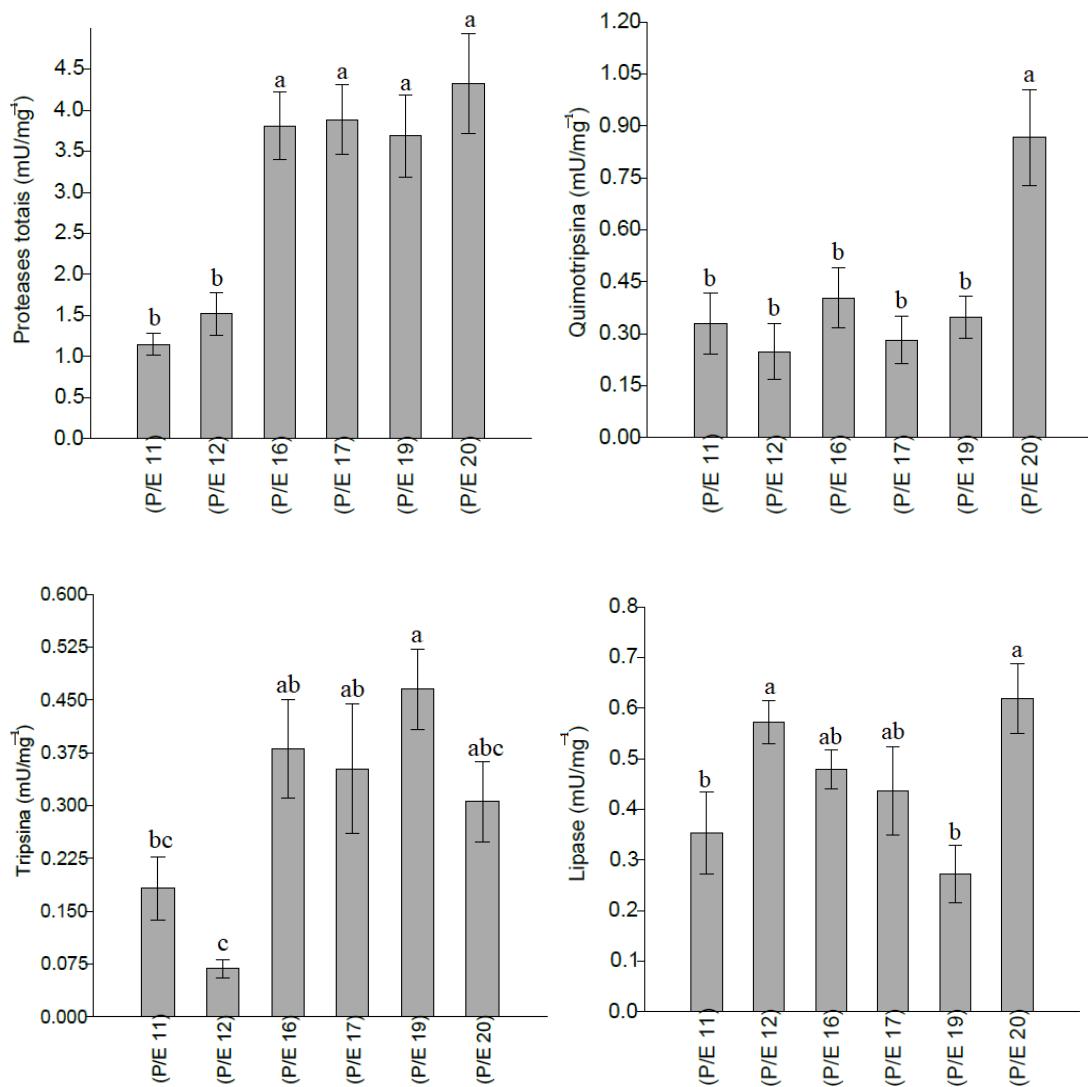
Tabela 4

Desempenho zootécnico das pós-larvas do camarão <i>M. carcinus</i> alimentadas com as respectivas dietas do tratamento									
Dietas P/E (PBkj ⁻¹ EBg ⁻¹) (PB:L)**	PI (mg)	PL (mg)	PM (mg)	GP (mg)	GPD (mg)	CAA	IHS(%)	S(%)	
11 (220:80)	1.86±0.65	13.49±3.55 ^b	2.61±0.22 ^b	0.75±0.22 ^c	0.025±0.007 ^c	2.54±0.63 ^a	4.80±0.99 ^a	90.20±15.29 ^a	
12 (220:100)	1.86±0.65	15.51±2.30 ^{ab}	2.82±0.43 ^b	1.03±0.12 ^c	0.035±0.004 ^{bc}	2.02±0.60 ^{ab}	3.86±0.72 ^{ab}	94.61±5.90 ^a	
16 (300:80)	1.86±0.65	15.99±1.52 ^{ab}	2.87±0.29 ^b	1.07±0.32 ^c	0.040±0.008 ^{abc}	1.85±0.49 ^{ab}	3.74±1.17 ^b	90.31±12.42 ^a	
17 (300:100)	1.86±0.65	16.4±2.84 ^{ab}	3.03±0.33 ^{ab}	1.09±0.28 ^{bc}	0.043±0.011 ^{ab}	1.62±0.60 ^b	3.15±0.33 ^{bc}	86.69±19.93 ^a	
19 (350:80)	1.86±0.65	18.12±2.77 ^a	3.48±0.50 ^a	1.62±0.51 ^a	0.055±0.013 ^a	1.30±0.51 ^b	2.45±0.30 ^c	89.26±11.80 ^a	
20 (350:100)	1.86±0.65	18.62±3.96 ^a	3.08±0.53 ^{ab}	1.53±0.49 ^{ab}	0.040±0.014 ^{abc}	1.87±0.65 ^{ab}	3.21±0.86 ^{bc}	90.20±15.29 ^a	
Níveis de proteína (g/kg ⁻¹)*									
220	1.86±0.65	14.50±3.01 ^b	2.92±0.46 ^b	0.87±0.22 ^b	0.028±0.007 ^b	2.25±0.64 ^a	4.60±1.21 ^a	89.56±13.46 ^a	
300	1.86±0.65	16.23±2.30 ^{ab}	3.09±0.31 ^{ab}	1.07±0.30 ^b	0.042±0.009 ^a	1.73±0.54 ^a	3.59±0.96 ^b	92.70±11.33 ^a	
350	1.86±0.65	18.31±3.13 ^a	3.34±0.52 ^a	1.54±0.47 ^a	0.049±0.015 ^a	1.56±0.62 ^a	3.09±0.90 ^b	86.44±17.46 ^a	
Níveis de lipídeos (g/kg ⁻¹)*									
80	1.86±0.65	16.24±3.24 ^a	3.09±0.49 ^a	1.19±0.45 ^a	0.038±0.012 ^a	1.72±0.61 ^a	4.01±1.45 ^a	88.86±12.7 ^a	
100	1.86±0.65	16.79±3.14 ^a	3.12±0.44 ^a	1.18±0.39 ^a	0.037±0.008 ^a	1.83±0.60 ^a	3.47±0.81 ^a	90.26±15.5 ^a	

Os dados são expressos em média ± desvio padrão. Os valores dos tratamentos seguida de letras sobrescritas por mesma letra não difere estatisticamente pelo teste Duncan ($p<0.05$). PI - peso inicial, PL - peso líquido, PM- peso médio, GP- ganho de peso, GPD- ganho de peso diário, CAA- conversão alimentar aparente, IHS- índice hepatossomático, SOBR-sobrevivência. *probabilidade por *one way* anova entre os tratamentos. **probabilidade por *two way* anova (arranjo fatorial).

3.4 Atividade das enzimas digestivas

A atividade das proteases alcalinas e lipase (Fig.1) foi significativamente afetada pela quantidade de proteínas e lipídeos à dieta, ofertada aos camarões *M. carcinus*. As concentrações das proteases foram maiores em pós-larvas alimentadas com as dietas P/E de 16, 17, 19 e 20, havendo interação entre dietas contendo maiores teores de proteínas (300PB:100L) e (350PB:100L) e a quantidades de lipídeos. A atividade da quimotripsina apresentou menor atuação com a P/E 12, equivalente a (8,94%), e o maior valor, a P/E 20, (37,47%), apresentou maior interação entre as relações avaliadas, enquanto que a tripsina expressou melhor expressão com a P/E 19, perfazendo (30,68%), no tratamento (350g kg⁻¹ PB:80 g kg⁻¹L) e o menor, com a P/E 12, (1,29%). A atividade de leucino-aminopeptidase não diferiu entre os tratamentos (*p*-valor=0.4936). Os níveis de lipídeos tiveram maior interação com relação P/E 16 e 17. A redução da atividade lipolítica ocorreu com os menores teores de lipídeos às dietas, e as maiores com a P/E 12 e 20, equivalentes a (17,70 e 23,89%).



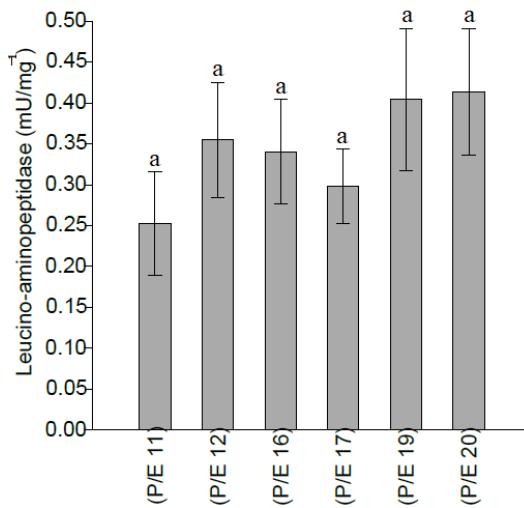


Figura 5. Atividade das proteases totais alcalinas, quimotripsina, tripsina, lipase e leucino-aminopeptidase observados no hepatopâncreas das pós-larvas do *M. carcinus*. Os dados estão expressos por média ± desvio padrão (DP). Valores sobrescritos com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Duncan ($p<0.05$). Two way anova.

3.5 Análise de componentes principais (PCA)

A partir do PCA (figura 2) foi possível desmembrar as diferenças de respostas aos camarões alimentados com as dietas dos diferentes tratamentos. Os eixos dos componentes principais indicam o padrão de distribuição das variáveis em resposta as PLs submetidas a alimentações com as diferentes proporções de proteína e lipídeos. Os eixos 1 e 2 responderam por mais de 52% da variância total dos resultados de desempenho zootécnico e atividade de enzimas digestivas. Para o eixo 1 as principais diferenças destacadas foram com maiores valores para o PL, GP, GPD, e atividade da tripsina. Para o componente 2, os maiores valores foram direcionados a CAA, IHS e S em que encontravam as dietas pobres em proteínas. A lipase foi irradiada para a posição entre as concentrações maiores de lipídeos das dietas (ambos os lados), próximo ao centro. O componente 2, exibiu as piores dietas (220 g PB:80 g L), e as intermediárias (300 g PB :80 g L), e melhores com (350 g PB:80g L) e (350 g PB:100 g L), no componente 1.

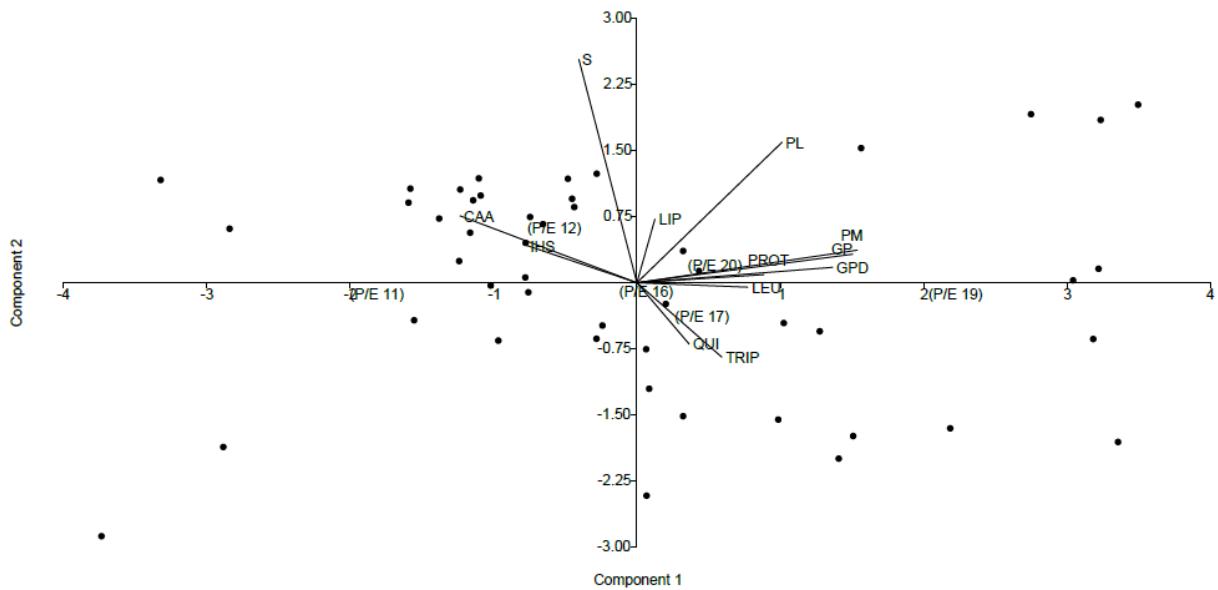


Figura 6. Gráfico com os componentes principais envolvendo as dietas experimentais no desempenho zootécnico e atividade das enzimas digestivas. PL-Peso Líquido, GP- Ganho de Peso, GPD- Ganho de Peso Diário, CAA-Conversão Alimentar Aparente, S-Sobrevivência, IHS-Índice Hepatossomático, PROT-Proteases Totais, QUI-Quimotripsina, TRI-Tripsina, LEU-Leucino-aminopeptidase, LIP-Lipase.

4. DISCUSSÃO

Os camarões de água doce tem ampla distribuição no mundo, ocupando diversos habitats com diferentes tipos de substratos, condições hidrológicas, e disponibilidade alimentar, possuem comportamentos e preferências alimentares específicas, a partir dos alimentos disponíveis no ambiente silvestre, podendo selecionar e suprir as suas carências dietéticas em todo seu estágio evolutivo (Lima et al., 2014). Desta forma, estudos para o *M. carcinus*, espécie que possui potencial para criação, e que apresenta demanda mercadológica.

Bhavan et al (2010) destacam que a manutenção das funções com a alimentação, processamento do alimento, funções fisiológicas e síntese de tecidos, decorrem da influência do consumo de oxigênio dissolvido, parâmetro associado a temperatura da água. Um dos principais fatores envolvidos com crescimento, dar-se pelo o consumo de alimentos, como no caso dos camarões que apresentam processo mais vagaroso na alimentação, e que dependem das características, que incluem: qualidade nutricional, tamanho do pélete, estabilidade, consistência, peso e cor (Valenti et al., 2010b). Embora estas características ajudem reduzir o tempo de busca pelo alimento (Kawamura et al., 2017), a frequência da oferta em períodos específicos tem importância para o ganho de peso.

Neste experimento a oferta de ração com tamanho de (710-1000 μm), foi em quatro porções ao dia, com a menor biomassa de 30%. Na pesquisa de Anh et al (2009) com PLs do *M. rosenbergii* foi alimentado com grânulo de 700 μm e quantidade 50% inferior do presente trabalho. O tamanho do pélete da ração deve ser adequado a idade do animal, pelo fato de ser necessário passar em filtro que protege a glândula digestiva e que o tamanho desproporcional provoca a regurgitação do alimento (Brown et al., 2010).

No presente estudo a menor sobrevivência foi 86.69, e a maior, de 94.6% dentro da faixa aceitável para a criação, como observado para o *M. rosenbergii* (Goda, 2008; Chowdhury et al., 2008; Bhavani et al., 2014; Asaikkutti et al., 2016a).

A competição por alimentos, espaços, e o canibalismo em camarões recém mudado foram reduzidas com adição de rolo de PVC. Comumente os *Macrobrachium* tem comportamentos agressivos e territorialista, conforme Santos et al (2017) observaram em pós-larvas do *M. carcinus* ser mais acentuadas essas características. A oferta de ração abaixo de 30% da biomassa animal pode provocar menor sobrevivência (Sampaio et al., 1997; Santos et al., 2017). A qualidade nutricional tem importância, sobretudo a quantidade de proteínas na dieta, auxiliam na manutenção dietética dos camarões, e reduz o canibalismo (Chowdhury et al., 2008). Visto que os *Macrobrachium* são coprófagos e pode buscar o complemento do alimento através de outras fontes disponíveis (Zimmermann, 1998).

A digestão do alimento é melhor quando a qualidade nutricional possui níveis aceitáveis de nutrientes, sobretudo das proteínas. No entanto, a quantidade disponibilizada depende da espécie e estado ontogenético, além do que a digestão eficiente das proteínas depende da qualidade e a disponibilidade de energia não proteica a partir de lipídeos e carboidratos (Ward et al., 2003; Méndez-Martínez et al., 2018).

A utilização de lipídeos e sua quantidade tem relevância para a disponibilização da energia e economia de proteínas, e atua como componente estrutural de biomembranas, fonte de ácidos graxos, carreadores, depressor da fome, precursores do eicosanoides, hormônios e cofator enzimático (Zhao et al., 2016; Ayisi et al., 2017). Além de que para a ração, ajuda na lubrificação do trato digestivo, palatabilidade, e passagem do alimento (Zimmermann, 1998).

No presente trabalho utilizou-se fonte de lipídeos a partir de óleos de peixe e de soja, alguns trabalhos com o *M. rosenbergii* testaram a quantidade e fontes (Kim et al., 2013) avaliaram fontes de origem animal e vegetal, e os que são provenientes de origem animal (óleo de lula e peixe) supera a de vegetal, dentre os vegetais, óleo de canola e linhaça são os melhores. Muralisankar et al., (2014) destacaram que houve melhor reação pela PLs do *M. rosenbergii* com fonte animal (óleo de fígado de bacalhau), vegetal (óleo de girassol) comparados ao óleo de coco e de mamona.

A quantidade de 1% de óleo de soja à ração é suficiente para bom desempenho para o ganho de peso (Kangpanich et al., 2017). A necessidade de lipídeos a dietas parece ser maior para as fases de PLs do que para outras fases de crescimento, devido a adequação fisiológica para a utilização dos aminoácidos contidos a ração serem direcionadas síntese de tecidos e o reparo (Rivera-Pérez et al., 2010; NRC, 2011). Mas outros ingredientes podem disponibilizar lipídeos e manter rendimento semelhante, como realizado neste trabalho.

No hepatopâncreas, as células epiteliais R (Restzellen), estão envolvidas com armazenamento de lipídeos e outros materiais excedentes, como glicoproteínas em menores volumes, essas reservas são utilizadas pelos animais para energia e redução de fome durante a muda (Méndez-Martínez et al., 2018). No presente estudo, dieta com relação P/E 19 expressou melhores resultados no desempenho zootécnico.

A melhor CAA (1.30) inferior ao trabalho de Santos et al (2017) e comparável a outros trabalhos envolvendo *Macrbrachium*, (1,81) com juvenis do *M. americanum* (Méndez-Martínez et al., 2018), (1.32) *M. rosenbergii* (Bijoy et al., 2018), (2.39) *M. tenellum* (Espinosa-Chaurand et al., 2012), (1.66) *M. nipponense* (Huang et al., 2017). Estas espécies podem apresentar habilidade em digerir com eficiência os nutrientes contidos na ração sob a condição de confinamento.

Alguns ensaios indicaram a melhor relação P/E dietética para PLs de *Macrobrachium*, (Chowdhury et al., 2008) encontraram relação de P/E 19, enquanto que Goda (2008) P/E 17 mostrou-se como a melhor na interação para o desempenho das PLs. Com juvenis de *M. nipponense* (Zhang et al., 2016) informam que os melhores rendimentos para esta espécie decorreram com o maior nível de lipídeos dentro da relação de P/E 16.49 isto provavelmente deve-se ao balanço energético disponível contida na alimentação fornecida. Teshima et al (2006) com a relação P/E de 21 ajudou na melhoria do desempenho de *M. rosenbergii*, mas maior P/E possivelmente deve-se a menor diversidade de ingredientes pouco energéticos utilizados às dietas ofertadas aos camarões.

A variação que ocorre na quantidade de proteínas e lipídeos pode estar atrelada a qualidade dos nutrientes, somados a espécies diferentes, e o nível de especialização do trato digestivo, levam a haver diferença entre camarões do mesmo gênero, sendo um caso específico relevante identificar os requerimentos alimentares. Quando a ração contém baixas quantidade de energia, os aminoácidos são usados como fonte de energia para a realização das atividades metabólicas, que compromete o ritmo natural das mudas pelos camarões e menor incremento de peso corpóreo (Méndez-Martínez et al., 2018). Nesta pesquisa, a energia bruta esteve entre (18 a 19 MJ g⁻¹), dentro de faixa aceitável em dietas para crustáceos de água doce, como visto nos trabalhos de (Chowdhury et al., 2008; Zhang et al., 2017; Xiao et al., 2014; Rasid et al., 2017)

Adicionalmente, o excesso de proteínas afeta o desempenho dos animais, e o consumo de energia para a sua metabolização, com efeito no aumento de aminoácidos livre na hemolinfa, e consequente aumento da liberação de amônia para a água de cultivo (Zhang et al., 2016). Dados de Teshima et al (2006) indicam ser desnecessária níveis superiores a 35% de proteína bruta a dieta para *M. rosenbergii* jovens, devido possivelmente ter suprido a carência de proteínas, e o excesso gerar gasto energético.

Níveis de lipídeos acima de 10% parece ser prejudicial para o *M. rosenbergii* devido o excesso de energia, comprometer a capacidade de sua utilização, com aproveitamento reduzido das proteínas (D'abramo & New, 2010). Por outro lado, as indústrias de fabricação de ração tendem a aumentar a quantidade de lipídeos, entre 10 a 12% (Zimmermann, 1998).

No presente trabalho, o IHS(%) gerou o indicativo da condição do alimento dispensados aos animais e sua utilização, os maiores valores deste índice restringiram a dietas com baixas quantidade de proteínas (220 g PB kg⁻¹:80 g L kg⁻¹), este fato deve-se a uma possível estratégia alimentar em resposta a baixa quantidade de proteínas, sendo mecanismo da fisiologia digestiva compensatória para manter o estoque energético com a reserva de glicogênio a partir da dieta pobre em proteínas. De tal maneira que as células M do hepatopâncreas são consideradas responsáveis com o estoque de glicogênio e o material proteico, e que estão envolvidas com o ciclo de mudas e redução de fome (Brunet et al., 1994; Silva et al., 2018). Os valores encontrados estiveram próximo ao encontrado por (Huang et al., 2017) que trabalharam com o *M. nipponense*, e (Méndez-Martínez et al., 2018) com o *M. americanum*.

O hepatopâncreas pode representar de 2 a 6% do peso corporal, este órgão é responsável pela síntese enzimas digestivas nos decápodes, local em que ocorre a digestibilidade dos nutrientes nos camarões deste gênero (Nunes et al., 2014; Silva et al., 2018) além da idade do animal, capacidade fisiológica e condições ambientais, as enzimas sintetizadas e secretadas pelas células fibrilares do hepatopâncreas, apresentam diferentes picos de produção (Vicentini et al., 2009; Silva et al., 2018) e conta com o aporte de microrganismos que colonizam o trato

digestório que podem hidrolisar grupos importantes de nutrientes, aumentando o poder da digestibilidade e assimilação dos nutrientes (Brito et al., 2004; Radhakrishnan et al., 2016).

O processo de mistura dos alimentos com as enzimas, é bastante complexo e necessita da atuação da glândula digestiva, e do apoio dos músculos que movem a parede do proventrículo, que serve como uma espécie de pseudomoinho (Dall e Moriarty, 1983; Brown et al., 2010). A atividade enzimática tem importância na fisiologia nutricional com efeitos do desempenho zootécnico, ciclo de mudas e da formulação de dietas (Wormhoudt e Fravel, 1988; Lovette e Felder, 1990; Le Moullac et al., 1996; Muralisankar et al., 2018).

O camarão gigante da Malásia, apresenta amplo grupo de enzimas digestivas, proteases incluindo carboxipeptidas A e B, leucino aminopeptidase (D'abramo e New, 2010), lipase, amilase, incluindo a quitinase (Chuang et al., 1985; D'abramo e New, 2010). Foi reportado em trabalho com adulto do *M. carcinus* uma miríade da concentração de enzimas, como reportado no *M. rosenbergii* (Manríquez-Santos et al., 2011).

No presente trabalho, as concentrações da atividade das enzimas proteolíticas apresentaram elevada intensidade em dietas com alto teor de proteínas gerando diferenças estatísticas ($p<0,05$) entre os tratamentos com interação, apenas a leucino aminopeptidase não apresentou diferença, esses valores elevados para as proteases são justificados pelo hábito alimentar desta espécie. A quantidade de proteases foi um pouco menor neste estudo quando comparados com juvenis de *M. rosenbergii* ($5,34 \text{ mU/mg}^{-1}$) e *M. malcolmsonii* ($5,42 \text{ mU/mg}^{-1}$) observadas por Asaikkutti et al (2016b), enquanto que no trabalho de Seenivasan et al (2016) em que observaram os efeitos da adição de probióticos a dieta para pós-larvas de *M. rosenbergii*, assim como (Sumon et al., 2018), os valores de proteases foram menores, e de Méndez-Martínez et al (2018) através de dietas experimentais com *M. americanum* jovens, e Radhakrishnan et al (2016) com PLs de *M. rosenbergii*, quando comparados ao presente trabalho. Em adultos do *M. carcinus* os valores das proteases (tripsina, quimotripsina, e leucino-aminopeptidase) foram maiores, encontrados por Manríquez-Santos et al (2011), o que deve esta associado a idade do animal e o tipo de alimento consumido, já que os espécimes foram de ambiente silvestre, e que existe um nível de especialização para determinados alimentos disponíveis em seu ambiente.

A lipase apresentou diferença estatística e interação significativa com os níveis de proteínas (balanço energético vs nutrientes) entre as dietas com menos lipídeos (80 g L), tiveram menor concentração da lipase e o contrário com os maiores níveis (100 g L). Corroborando com Méndez-Martínez et al., (2018) que mencionam que dietas pobres em lipídeos, a atividade de lipase é menor, os quais encontraram maior atividade desta enzima com a maior quantidade de lipídeos, como no presente estudo. Os valores de lipase foram menores no presente trabalho, quando comparado com o trabalho de Seenivasan et al (2016), assim como o trabalho de Radhakrishnan et al (2016) que estudaram o *M. rosenbergii*.

No presente trabalho os níveis de proteínas não afetaram a atividade lipolítica. Em contraste, as quantidades de lipídeos influenciam nas atividades das proteases totais, o maior nível proporcionou maior ação. Havendo maiores valores da atividade significativa da lipase registrada com altas e baixas concentrações de proteína bruta às dietas.

O papel da atividade das enzimas digestivas frente as diferentes condições alimentares e ambientais é um mecanismo importante para revelar a capacidade da absorção de nutrientes, e dão forte indícios para dieta mais adequada (Zhang et al., 2016). A relação P/E tem muita importância para regular a quantidade de energia necessária para os processos metabólicos, e influencia em outras fontes de alimentos que é moderada por outros itens alimentares de importância e ajuda a manter a qualidade de nutrientes, devido os animais serem onívoros e

necessitar de emprego de vários alimentos para o seu preparo na condição de criação e ajudar com a redução de custos (Goda, 2008).

Níveis elevados de lipídeos ou proteínas podem inibir ambos os nutrientes, gerar desperdícios através dos compostos nitrogenados, saturação da lipase, gasto energético, e que a atividade das enzimas tem intima condição do estado alimentar, ambiental e fisiológico com possibilidade de flutuações em rações a estas condições.

5. CONCLUSÃO

As relações proteína bruta/energia contidas às dietas experimentais afetaram com rendimento bom o desempenho zootécnico e atividade das enzimas digestivas das pós-larvas do *M. carcinus*. E que a melhor combinação foi expressa pelo tratamento 350g kg⁻¹ PB:80 g kg⁻¹L, através da relação P/E, 19 (mg PB KJ⁻¹ EB g⁻¹) realçada com o teste dos componentes principais (PCA) e que esta é a quantidade recomendada e pode servir de parâmetro para ser utilizada em dietas para PLs desta espécie.

6. Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas-FAPEAL pela concessão de bolsa do processo de número 88887.159833/2017-00 durante o período de curso. À (4^a SR) da CODEVASF. LABENZ, do Departamento de Bioquímica da UFPE. E ao LABCARCI.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-salam, H.A., 2014. Amino Acid Composition in the Muscles of Male and Female Commercially Important Crustaceans from Egyptian and Saudi Arabia Coasts. Am. J. Biosci. 2, 70. <https://doi.org/10.11648/j.ajbio.20140202.19>
- Alencar, R. B., Biondi, M.M., Paiva, P. M.G., Vieira, V.I.A., Carvalho-Junior, L. B., Bezerra, R. S., 2003. Alkaline proteases from the digestive tract of four tropical fishes. Brazilian Journal of food technology 6,279-284.
- Amaraweera, K., Wijeyaratne, M., Jayamanne, S., 2013. Growth and survival of post-larvae of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) reared using feeds formulated with different sources of protein. Sri Lanka J. Aquat. Sci. 18, 17. <https://doi.org/10.4038/sljas.v18i0.7036>
- Anh, N.T.N., Hien, T.T.T., Mathieu, W., Hoa, N. Van, Sorgeloos, P., 2009. Effect of fishmeal replacement with Artemia biomass as a protein source in practical diets for the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquac. Res. 40, 669–680. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02143.x>
- AOAC. Official methods of analysis. 1995. (16th ed). Arlington VA., Association of official analytical chemists.

- Apha., 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. Academic Public Helth Association, American water works association, water environmental federation, 20th ed. Washington.
- Araújo, M.C. De, Valenti, W.C., 2005. pós - larvas do camarão- da - a mazônia , *Macrobrachium amazonicum* , em berçário I. Acta Sci. Anim. Sci. 67–72.
- Aryee, A.N.A., Simpson, B.K., Villalonga, R., 2007. Lipase fraction from the viscera of grey mullet (*Mugil cephalus*). Isolation, partial purification and some biochemical characteristics. Enzyme Microb. Technol. 40, 394–402. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.07.009>
- Asaikkutti, A., Bhavan, P.S., Vimala, K., Karthik, M., Cheruparambath, P., 2016a. Effect of different levels dietary Vitamin C on growth performance, muscle composition, antioxidant and enzyme activity of freshwater prawn, *Macrobrachium malcolmsonii*. Aquac. Reports 3, 229–236. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2016.04.002>
- Asaikkutti, A., Bhavan, P. S., Vimala, K., Karthik, M., 2016b. Species specific activity of digestive enzymes in two freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* and *Macrobrachium malcolmsonii* juveniles. Journal of Advances in Biology & Biotechnology 10, 1-8. <https://doi.org/10.9734/jabb/2016/29404>
- Ayisi, C.L., Hua, X., Apraku, A., Afriyie, G., Kyei, B.A., 2017. Recent Studies Toward the Development of Practical Diets for Shrimp and Their Nutritional Requirements. HAYATI J. Biosci. 24, 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2017.09.004>
- Benítez-Mandujano, M., Ponce-Palafox, J.T., 2014. Efecto de diferentes niveles dietéticos de proteína y lípidos en el crecimiento de reproductores del langostino de agua dulce (*Macrobrachium carcinus*). Rev. MVZ Cordoba 19, 3921–3929.
- Bhavan, P., Ruby, S., Poongodi, R., Seenivasan, C., Radhakrishnan, S., 2010. Efficacy of Cereals and Pulses as Feeds for the Post-larvae of the Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii*. J. Ecobiotechnology 2, 9–19.
- Bhavani, M., Hareesh, K., Suneetha, Y., Reddy, M.S., 2014. The effect of dietary protein on the growth potentials and nitrogen excretion in freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. ~ 243 ~ Int. J. Fish. Aquat. Stud. 2, 243–248.
- Bijoy, V.M., Sabu, S., Harikrishnan, M., 2018. Fish meal replacement with squilla (Oratosquilla nepa, Latreille) silage in a practical diet for the juvenile giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* de man, 1879. Aquac. Int. 26, 1229–1245. <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0280-0>
- Boyd, C., Zimmermann, S., 2000. Grow-out systems water quality and soil management. In M.B. NEW & W.C. VALENTI, (Eds). Freshwater prawn culture: the farming of *Macrobrachium rosenbergii*, pp. 221-238. Oxford, England, Blackwell Science.
- Buarque, D.S., Castro, P.F., Santos, F.M.S., Lemos, D., Júnior, L.B.C., Bezerra, R.S., 2010. Digestive peptidases and proteinases in the midgut gland of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). Aquac. Res. 40, 861–870. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02183.x>
- Bradford, M.M., 1976. Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Analytical Biochemistry. 72, 248-254.

- Brito, R., Chimal, M.E., Gelabert, R., Gaxiola, G., Rosas, C., 2004. Effect of artificial and natural diets on energy allocation in *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767) and *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) early postlarvae. Aquaculture 237, 517–531. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.012>
- Brown, J. H; New, M. B; Ismael, D., 2010. Culture of other freshwater prawn species. In: New, M.B., Valenti, W.C., Tidwell, J.H., D'abramo, L.R. & Kutty, M.N. (Eds.). Freshwater prawns: biology and farming. Wiley-Blackwell, Oxford, England. 19 pp.
- Brunet, M., Arnaud, J., Mazza, J., 1994. Gut structure and digestive cellular processes in marine Crustacea. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 3, 33-45.
- Coelho, P. A., Lima, I. A., 2003. Cultivo de camarão-pitu *Macrobrachium carcinus* (LINNAEUS, 1758) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) em viveiros comerciais. Boletim Téc. Cient. Cepene. 11, 233-244.
- Coelho-Filho, P.A., Gonçalvez, A.P., Barros, H.P., 2018. Artemia nauplii intake by *Macrobrachium carcinus* at different larval stages in laboratory. Aquaculture 484, 333–337. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.035>
- Cortés-Jacinto, E., Villareal-Colmenares, H., Cruz-Suarez, L.E., Civera-Cerecedo, R., HERNANDES-LLAMAS, A., 2005. Effect of different dietary protein and lipid levels on growth and survival of juvenile Australian redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). Aquac. Nutr. 11, 283–291. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2005.00353.x>
- Choudhury, P. C. 1971. Complete larval development of the palaemonidae shrimp *Macrobrachium carcinus* (L), reared in laboratory (Decapoda: Palaemonidae), Crustaceana 20, 51-69.
- Chowdhury, M. K., Goda, A. M. A. S., EL-Haroun, E. R., Wafa, M. A., El-Din, S. A. S., 2008. Effect dietary protein feeding time on growth performance and feed utilization post-larval freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1979). Journal Fisheries and Aquatic Science. 3, 1-11. <https://doi.org/10.3923/jfas.2008.1.11>
- Chuang, J.L., Lee, M.F., Jenn, J.S., 1985. Comparison of digestive enzyme activities of five species of shrimps cultured in Taiwan. Journal of the Fisheries Society of Taiwan. 12, 43–53.
- D'abramo, L. R. e New, M. B., 2010. Nutrition, Feeds and feeding. In: New, M. B., Valenti, W. C., Tidwell, J. H., D'abramo, L. R., Kutty, M.N.(Eds). Freshwaters prawns: biology and farming. Oxford. Willey-Blackwell. p.218-238.
- Dall, W., Moriarty, D.J.W., 1983. Nutrition and digestion. In The Biology of Crustacea, Vol. 5: Internal Anatomy and Physiological Regulation, (Ed. by L.H. Mantel). Academic Press, New York. pp. 215–61.
- Duncan, D. B. 1955. Multiple range and F-tests. Biometrics. 11, 1-42.
- Espinosa-Chaurand, L., Zepeda, L. F., Nória-Nolasco, H., Carrillo-Farnes, O., Veja-Vilsanti, F., 2012. Efecto del nivel proteico de la dieta sobre el desarrollo del juveniles de *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871). Rev. MVZ. Córdoba. 17, 3140-3146.
- Food and Agriculture of the United Nations-FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018. Meeting the sustainable development goals. Rome. 2018. ISBN 978-92-5-130562-1

- Goda, A.M.A.S., 2008. Effect of dietary protein and lipid levels and protein-energy ratio on growth indices, feed utilization and body composition of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man 1879) post larvae. Aquac. Res. 39, 891–901. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01947.x>
- Hari, B., Madhusoodana Kurup, B., 2003. Comparative evaluation of dietary protein levels and plant-animal protein ratios in *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Aquac. Nutr. 9, 131–137. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2003.00240.x>
- Harpaz, S., 1997. Enhancement of growth in juvenile freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*, through the use of a chemoattractant. Aquaculture 156, 221–227. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00093-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00093-8)
- Holthuis, L.B., 1980. An Annotated Catalogue of Species of Interest to Fisheries. Fao Fish. Synopsis 1, 284.
- Huang, Y.J., Zhang, N.N., Fan, W.J., Cui, Y.Y., Limbu, S.M., Qiao, F., Zhao, Y.L., Chen, L.Q., Du, Z.Y., Li, D.L., 2017. Soybean and cottonseed meals are good candidates for fishmeal replacement in the diet of juvenile *Macrobrachium nipponense*. Aquac. Int. 26, 309–324. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0215-1>
- Kangpanich, C., Pratoomyot, J., Senanan, W., 2017. Effects of alternative oil sources in feed on growth and fatty acid composition of juvenile giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). Agric. Nat. Resour. 51, 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2016.12.004>
- Kawamura, G., Bagarinao, T.U., Seok, A., Yong, K., 2017. Sensory systems and feeding behaviour of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, and the marine whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Borneo J. Mar. Sci. Aquac. 80–91.
- Kim, Y.C., Romano, N., Lee, K.S., Teoh, C.Y., Ng, W.K., 2013. Effects of replacing dietary fish oil and squid liver oil with vegetable oils on the growth, tissue fatty acid profile and total carotenoids of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Aquac. Res. 44, 1731–1740. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03179.x>
- Lara, L. R., Wehrtmann, I. S., 2009. Reproductive biology of the freshwater shrimp *Macrobrachium carcinus* (L.) (DECAPODA: PALEOMONIDAE), from costa, central america. Crustacean biology 29, 343-349. <https://doi.org/10.1651/08-03109.1>
- Leighton. T. J., Doi. R. H., Warren, R. A. J., Kelln, R. A., 1973. The relationship of serine protease activity to RNA polymerase modification and sporulation in *Bacillus subtilis*. Journal of Molecular Biology 76, 103-122.
- Lewis, J. B., 1961. Preliminary experiments on the rearing of the fresh water shrimp, *Macrobrachium carcinus* (L.).
- Lima, J. de F., Garcia, J. da S., Silva, T.C. da, 2014. Natural diet and feeding habits of a freshwater prawn (*Macrobrachium carcinus*: Crustacea, Decapoda) in the estuary of the Amazon River. Acta Amaz. 44, 235–244. <https://doi.org/10.1590/s0044-59672014000200009>
- Manríquez-santos, T.D.J., Alfonsoálvarez-gonzález, C., Guerrero-olazarán, M., Viader-salvado, J.M., 2011. Caracterización de Enzimas Digestivas , Digestibilidad in vitro y Síntesis de Adnc del Gen de Tripsina en Adultos de la Pigua *Macrobrachium Carcinus* 2011.

- Marques, H.L.A., New, M.B., Boock, M.V., Barros, H.P., Mallasen, M., Valenti, W.C., 2016. Integrated freshwater prawn farming: State-of-the-art and future potential. *Rev. Fish. Sci. Aquac.* 24, 264–293. <https://doi.org/10.1080/23308249.2016.1169245>
- Méndez-Martínez, Y., García-Guerrero, M.U., Arcos-Ortega, F.G., Martínez-Córdova, L.R., Yamasaki-Granados, S., Pérez-Rodríguez, J.C., Cortés-Jacinto, E., 2018a. Effect of different ratios of dietary protein-energy on growth, body proximal composition, digestive enzyme activity, and hepatopancreas histology in *Macrobrachium americanum* (Bate, 1868) prawn juveniles. *Aquaculture* 485, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.012>
- Méndez-Martínez, Y., Yamasaki-Granados, S., Garcia-Guerreiro, M. U., Martínez-Córdova, L. R., Rivas-Veja, M. E., Arcos-Ortega, F. G., Cortés-Jacinto, E., 2017. Effect dietary protein content on growth rate, survival and body composition of juvenil caque river prawn, *Macrobrachium americanum* (Bate, 1868). *Aquac. Res.* 48, 741–751. doi:10.1111/are.13193
- Mcgaw, I.J., Curtis, D.L., 2013. A review of gastric processing in decapod crustaceans. *J.Comparative Biochemistry and Physiology*. 183, 443–465.
- Mohamed, K., Megahed, M. E., Ali. M. A. M., 2017. Effect of dietary supplementation of Agrimos® on growth performance, feed utilization and immunological parameters of *Macrobrachium rosenbergii* juveniles. *Aquac Int.* 25, 1441–1452.
- Muralisankar, T., Bhavan, P.S., Radhakrishnan, S., Santhanam, P., 2018. Dietary Supplement of Medicinal Herbal Leaf Powder on Growth Performance, Digestive Enzymes Activities, Energy Utilization and Vitamin Levels of the Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Proc. Zool. Soc.* 71, 265–271. <https://doi.org/10.1007/s12595-016-0202-y>
- Muralisankar, T., Bhavan, P.S., Radhakrishnan, S., Seenivasan, C., Manickam, N., Shanthi, R., 2014. Effects of dietary supplementation of fish and vegetable oils on the growth performance and muscle compositions of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *J. Basic Appl. Zool.* 67, 34–39. <https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2014.09.004>
- New, M. B., 2002. Farming freshwater prawns: a manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). FAO Fisheries Technical Paper, n. 428. 212p.
- New, M. B., 2010. History and global status of freshwater prawn farming. pp. 1–11. In: Freshwater prawns: biology and farming. (Eds. New, M. B., W. C. Valenti, J. H. Tidwell, L. R. D'abramo, and M. N. Kutty). Oxford: Wiley-Blackwell.
- NRC., 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Research Council, National Academies Press, Animal Nutrition Series, Washington, DC. pp. 70–71, USA.
- Nunes, E.T., Braga, A. A., Camargo-Mathias, M.I., 2014. Histochemical study of the hepatopancreas in adult females of the pink-shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* Latreille, 1817. *Acta Histochem.* 116, 243–251.
- Portella, G. C., Sant'Ana, L.S., Valenti, W.C., 2013. Chemical composition and fatty acid contents in farmed freshwater prawns. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 48, 1115–1118. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800043>
- R core team. 2018. R. language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Viena, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Radhakrishnan, S., Belal, I.E.H., Seenivasan, C., Muralisankar, T., Bhavan, P.S., 2016. Impact

- of fishmeal replacement with *Arthrospira platensis* on growth performance, body composition and digestive enzyme activities of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Aquac. Reports 3, 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2015.11.005>
- Rasid, R., Brown, J.H., Pratoomyot, J., Monroig, O., Shinn, A.P., 2017. Growth performance, nutrient utilisation and body composition of *Macrobrachium rosenbergii* fed graded levels of phytic acid. Aquaculture 479, 850–856. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.029>
- Rivera-Pérez, C., Navarrete del Toro, M. de los Á., García-Carreño, F.L., 2010. Digestive lipase activity through development and after fasting and re-feeding in the whiteleg shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture 300, 163–168. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.12.030>
- Sampaio, C.M.S., Valenti, W.C., Carneiro, D.J., 1997. Effects of feed application rates and feeding frequency on the performance of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) post-larvae. Aquaculture 97, 19–23.
- Santos, E.P., Leal, A.L.G., Da Silva, P.M.M., Correia, E.D.S., 2007. Influência de diferentes dietas na sobrevivência larval do camarão de água doce *Macrobrachium carcinus* (Linnaeus, 1758). Acta Sci. - Biol. Sci. 29, 121–124.
- Santos, E.A.V., Ribeiro, K., Barros, H.P., Coelho-Filho, P.A., 2017. Desempenho de pós-larvas do camarão-pitu submetidas a diferentes frequências alimentares. Bol. do Inst. Pesca 43, 646–651. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2017v43n4p646>
- Seenivasan, C., Radhakrishnan, S., Muralisankar, T., Saravana Bhavan, P., 2016. Effects of Probiotics on Survival, Growth and Digestive Enzymes Activities in Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man 1879). Proc. Zool. Soc. 69, 52–60. <https://doi.org/10.1007/s12595-014-0123-6>
- Silva, M.A.S., Almeida Neto, M.E., Ramiro, B.O., Santos, I.T.F., Guerra, R.R., 2018. Histomorphologic characterization of the hepatopancreas of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec. 70, 1539–1546. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10497>
- Sumon, M. S., Ahmmed, F., Khushi, S. S., Ahmmed, M. K., Rouf, M. A., Chisty, A. H., Sarower., 2018. G. Growth perfomance, digestive enzyme activity and imune response of *Macrobrachium rosenbergii* fed with probiotic *Clostridium butyricum* incorporated diets. Journal of King Saud University-Science 30, 21–28. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2016.11.003>
- Tacon, A.G.J. 1987. The nutrition and feed in go farmed fish and shrimp. A training manual. II. Nutrient sources and composition. Field document. S/E Food and Agriculture Organization. Brasilia, Brazil.
- Tacon, A. G., Metian, M., 2015. Feed matters: satisfying the feed demand of aquaculture. Rev. Fish. Sci. Aquac. 23, 1–10. <https://doi.org/10.1080/23308249.2014.987209>
- Teshima, S.I., Koshio, S., Ishikawa, M., Alam, M.S., Hernandez Hernandez, L.H., 2006. Protein requirements of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* evaluated by the factorial method. J. World Aquac. Soc. 37, 145–153. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2006.00020.x>

- Valenti, W.C., M. B. New, K. R. Salin, e J. YE., 2010a. Grow-out Systems: Monoculture. In: Freshwater prawns: biology and farming. (NEW, M. B., W. C. VALENTI, J. H. TIDWELL, L. R. D'ABRAMO, e M. N. KUTTY Eds.). Oxford: Wiley-Blackwell. pp. 154–179.
- Valenti, W.C., Daniels, W. H., New, M. B., Correia, E. S., 2010b. Hatchery systems and management. In: NEW, M.B., VALENTI, W.C., TIDWELL, J.H., D'ABRAMO, L.R., KUTTY, M.N (Eds) Freshwater prawns biology and farming. Oxford: Wiley-Blackwell, pp 55–85.
- Vicentini, I.B.F., Ribeiro, K., Papa, L.P., 2009. Histoarchitectural features of the hepatopancreas of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*. Int. J. Morphol. 27, 121-128,
- Ward, L.R., Carter, C.G., Crear, B.J., Smith, D.M., 2003. Optimal dietary protein level for juvenile southern rock lobster, Jasus edwardsii, at two lipid levels. Aquaculture 217, 483–500. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00258-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00258-2)
- Xiao, X., Han, D., Zhu, X., Yang, Y., Xie, S., Huang, Y., 2014. Effect of dietary cornstarch levels on growth performance, enzyme activity and hepatopancreas histology of juvenile red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard). Aquaculture 426–427, 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.029>
- Zar, J.H. Biostatistical Analysis., 1996. 3rd Edition, Prentice Hall, Inc., Upper Saddle River.
- Zimmermann, S., 1998. Manejo de alimentos e alimentação de camarões. In: VALENTI, W. C. (Ed). Carcinicultura de água doce: tecnologia para a produção de camarões. Brasília: IBAMA; FAPESP. pp.239-268.
- Zhang, N.N., Ma, Q.Q., Fan, W.J., Xing, Q., Zhao, Y.L., Chen, L.Q., Ye, J.Y., Zhang, M.L., Du, Z.Y., 2016. Effects of the dietary protein to energy ratio on growth, feed utilization and body composition in *Macrobrachium nipponense*. Aquac. Nutr. 23, 313–321. <https://doi.org/10.1111/anu.12395>
- Zhang, S. peng, Li, J. feng, Wu, X. chun, Zhong, W. jing, Xian, J. an, Liao, S. an, Miao, Y. tao, Wang, A. li, 2013. Effects of different dietary lipid level on the growth, survival and immune-relating genes expression in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish Shellfish Immunol. 34, 1131–1138. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.01.016>
- Zhao, W., Wang, Z., Yu, Y., Qi, Z., Lü, L., Zhang, Y., Lü, F., 2016. Growth and antioxidant status of oriental river prawn *Macrobrachium nipponense* fed with diets containing vitamin E. Chinese J. Oceanol. Limnol. 34, 477–483. <https://doi.org/10.1007/s00343-015-4396-z>

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As dietas contendo diferentes combinações de níveis de proteína e lipídeo afetaram o desempenho zootécnico e a atividade de enzimas digestivas em pós-larvas do *Macrobrachium carcinus*. E que a melhor combinação foi expressa por (350g kg^{-1} PB: 80 g kg^{-1} L), confirmado através do teste dos componentes principais (PCA) e que esta é a quantidade recomendada e pode servir de parâmetro para ser utilizada em dietas para PLs desta espécie.

As dietas mostraram-se atrativas (coloração e granulometria) para as pós-larvas do camarão-pitu, mobilizaram condições satisfatórias para a sua utilização. E a sua aplicação em cultivos comerciais é favorável, ao ponto de atender as necessidades dietética, podendo servir como protocolo para esta fase de crescimento desta espécie de camarão de água doce. De maneira que vai auxiliar permear este crustáceo no roll de animais aptos as condições de aquicultura, para um sistema tradicional de criação.



9. ANEXO

AQUACULTURE

An International Journal

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

● Description	p.1
● Audience	p.1
● Impact Factor	p.1
● Abstracting and Indexing	p.1
● Editorial Board	p.2
● Guide for Authors	p.4



ISSN: 0044-8486

DESCRIPTION

The aim of the Journal is to publish and make available the highest quality international scientific contributions to aquaculture. The Journal publishes disciplinary, interdisciplinary and transdisciplinary aquaculture research. The scope of Aquaculture includes the traditional priorities of its sections, but also includes papers from non-traditional scientific areas such as sustainability science, socialecological systems, ornamental, conservation and restoration related to aquaculture.

Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our [Support Center](#)

AUDIENCE

Aquaculturists, Fisheries Scientists, Marine Biologists.

IMPACT FACTOR

2018: 3.022 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2019

ABSTRACTING AND INDEXING

Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts
 EMBiology
 BIOSIS Citation Index
 Current Contents - Agriculture, Biology & Environmental Sciences
 Freshwater and Aquaculture Contents Tables
 Marine Science Contents Tables
 Engineering Village - GEOBASE
 Scopus
 Elsevier BIOBASE

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief:

D.M. Gatlin, Texas A&M University Department of Wildlife and Fisheries Sciences, College Station, Texas, 77843-2258, United States

Section Editors:

Q. Ai, Ocean University of China, Qingdao, China
J. A. H. Benzie, University College Cork National University of Ireland, Cork, Ireland
P. Bossier, Ghent University, Gent, Belgium
J. Galindo-Villegas, Nord University, Department of Genomics, Bodø, Norway
F. Kibenge, University of Prince Edward Island, Charlottetown, Prince Edward Island, Canada
D.C. Little, University of Stirling, Stirling, United Kingdom
W.A. O'Connor, NSW Fisheries, Port Stephens Fisheries Centre, Taylors Beach, New South Wales, Australia
J.G. Qin, Flinders University College of Science and Engineering, Adelaide, Australia
A. P. Shinn, Fish Vet Group, Asia, Samed, Thailand
A. Takemura, University of the Ryukyus, College of Science, Okinawa, Japan
M.T. Viana, Universidad Autonoma de Baja California, Instituto de Investigaciones Oceanologicas, Ensenada, Mexico

Editorial Advisory Board:

A. Arenal, University of Camagüey, Cuba
R. Ballestrazzi, Università degli Studi di Udine, Dipart. di Scienze della Produzione Animale, Pagnacco (UD), Italy
G. Bastos Gomes, Hong Kong, China
B. Beck, Auburn, United States
B. Belton, Michigan State University, East Lansing, Michigan, United States
T.J. Benfey, University of New Brunswick Saint John Department of Sciences, Saint John, New Brunswick, Canada
A. Bonaldo, University of Bologna, Bologna, Italy
A.H. Buschmann, Universidad de Los Lagos, Centro-i-mar, Puerto Montt, Provincia Llanquihue, Chile
S. Bush, Wageningen University, Wageningen, Netherlands
L. Chen, Shanghai, China
B.A. Costa-Pierce, University of New England, Biddeford, Maine, United States
K. Dabrowski, OHIO STATE UNIVERSITY, Columbus, Ohio, United States
H. Dong, Thonburi, Thailand
S.-J. Fu, Chongqing University, College of Life Sciences, Chongqing City, China
A. García-Ortega, University of Hawaii at Hilo, Hilo, Hawaii, United States
F.J. Gatesoupe, Institut Français pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER), INRA, Centre de Brest, Plouzane, France
R.W. Hardy, Idaho State University, Hagerman Fish Culture Experiment Station, Hagerman, Idaho, United States
D. Hedgecock, University of Southern California, Los Angeles, California, United States
A. Hernández Arias, Universidad Católica de Temuco, Santiago, Chile

- M. Jobling**, UiT Arctic University of Norway, Tromsø, Norway
- S.J. Kaushik**, INRA Centre St. Péé-sur-Nivelle, UMR 1067- INRA, Nutrition Aquaculture & Genomics, Saint-Péésur-Nivelle, France
- F. Kruijssen**, WorldFish, Amsterdam, Netherlands
- F. Lahnsteiner**, University of Salzburg, Salzburg, Austria
- P. Li**, National Renderers Association, Hong Kong, Hong Kong
- I. Lupatsch**, Swansea University, Crymlyn Burrows, Swansea, United Kingdom
- J. Mata-Sotres**, Baja California, México
- H. Migaud**, University of Stirling, UK
- S. Moriyama**, Kitasato University, Japan
- H.M. Munang'andu**, Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU), Dept. of Basic Science and Aquatic Medicine, Oslo, Norway
- C.C. Mylonas**, Hellenic Centre for Marine Research, Crete, Greece
- D.J. Penman**, University of Stirling, Stirling, United Kingdom
- T.G. Pottinger**, Centre for Ecology and Hydrology (CEH), The Ferry House, Ambleside, United Kingdom
- H. Rodger**, Institute of Aquaculture, Scotland
- A.N.R. Rombenso**, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Aquaculture Program, Bribie Island, Queensland, Australia
- S.-S. Sheen**, National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan
- B.C. Small**, Southern Illinois University Carbondale, Carbondale, Illinois, United States
- J. K. Swain**, UiT Arctic University of Norway, Norwegian College of Fishery Science, Tromsø Norway
- K. Thompson**, Moredun Research Institute, Aquaculture Research Group, Midlothian, United Kingdom
- H. Thorarensen**, Holar University College, Sauðárkrúki, Iceland
- J. Vielma**, Natural Resources Institute Finland (Luke), Finland, Vantaa, Finland
- T. Yamamoto**, National Research Institute of Aquaculture, Aquafeed Group, Tamaki Station, Tamaki, Japan
- G.-H. Yue**, National University of Singapore, Singapore, Singapore
- X.-H. Zhang**, Ocean University of China, Qingdao, China
- Z. Zhou**, Chinese Academy of Agricultural Sciences, China-Norway Joint Lab on Fish Gut Microbiota, Haidian, Beijing, China

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Types of paper

Research Papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere. Articles are expected to contribute new information (e.g. novel methods of analysis with added new insights and impacts) to the knowledge base in the field, not just to confirm previously published work.

Review Articles can cover either narrow disciplinary subjects or broad issues requiring interdisciplinary discussion. They should provide objective critical evaluation of a defined subject. Reviews should not consist solely of a summary of published data. Evaluation of the quality of existing data, the status of knowledge, and the research required to advance knowledge of the subject are essential.

Short Communications are used to communicate results which represent a major breakthrough or startling new discovery and which should therefore be published quickly. They should not be used for preliminary results. Papers must contain sufficient data to establish that the research has achieved reliable and significant results.

Technical Papers should present new methods and procedures for either research methodology or culture-related techniques.

The *Letters to the Editor* section is intended to provide a forum for discussion of aquacultural science emanating from material published in the journal.

Contact details for submission

Papers for consideration should be submitted via the electronic submission system mentioned below to the appropriate Section Editor:

Nutrition:

Vertebrate Nutrition: D.M. Gatlin

Invertebrate Nutrition: M.T. Viana

Larval Nutrition: Q. Ai

The Nutrition Section welcomes high quality research papers presenting novel data as well as original reviews on various aspects of aquatic animal nutrition relevant to aquaculture. Manuscripts addressing the following areas of investigation are encouraged:

- 1) determination of dietary and metabolic requirements for various nutrients by representative aquaticspecies. Studies may include environmental/stress effects on animal's physiological responses and requirements at different developmental stages;
- 2) evaluation of novel or established feedstuffs as well as feed processing and manufacturingprocedures with digestibility and growth trials. Such studies should provide comprehensive specifications of the process or evaluated ingredients including nutrients, potential anti-nutrients, and contaminants;
- 3) comparison of nutrient bioavailability from various ingredients or product forms as well as metabolickinetics of nutrients, food borne anti-nutrients or toxins;
- 4) identification of key components in natural diets that influence attractability, palatability,metabolism, growth reproduction and/or immunity of cultured organisms;
- 5) optimization of diet formulations and feeding practices;
- 6) characterization of the actions of hormones, cytokines and/or components in intracellular signalingpathway(s) that influence nutrient and/or energy utilization.
- 7) evaluation of diet supplementation strategies to influence animal performance, metabolism, healthand/or flesh quality.

Manuscripts concerning other areas of nutrition using novel or advanced methods are also welcome. Please note that in regard to various diet additives such as probiotics, prebiotics,

herbal extracts, etc., a very large number of papers have already been published. Therefore, Aquaculture will not continue to accept manuscripts that present initial and preliminary investigations of such additives. Manuscripts addressing these and other feed additives will be accepted for review only if they are of the highest scientific quality and they represent a significant advance in our knowledge of the mechanisms involved in their metabolism. Manuscripts may also be considered if they present clinical efficacy data generated in large-scale trials and economic cost-benefit analysis of these applications.

Aquaculture Production Science:

Jian Qin

The Aquaculture Production Science (PS) is dedicated to research on improvements and innovations in aquatic food production.

This section supports worldwide dissemination of the results of innovative, globally important, scientific research on production methods for aquatic foods from fish, crustaceans, mollusks, amphibians, and all types of aquatic plants. Contributions are encouraged in the following areas: 1) Improvement of production systems that results in greater efficiencies of resource usage and sustainability of aquaculture; 2) Effective applications of technologies and methods of aquaculture production for improved stocking regimes; 3) The use of new species and species assemblages; and, 4) Investigations to minimize aquaculture wastes and improve water quality, including technologies for nutrient recycling in aquaculture ecosystems, and potential synergy of aquaculture and other food production systems using methods such as polyculture and integrated aquaculture. Aspects of seafood processing and technology will not be considered in this section although aquaculture techniques that may influence the nutritional value of aquatic food products may be considered in the Nutrition section.

Physiology:

Vertebrate Physiology: A. Takemura

Invertebrate Physiology: W.A. O'Connor

The Physiology Section welcomes high quality papers that present either novel research data or original reviews. The content must be relevant to solving aquaculture problems on all aspects of the physiology of cultured aquatic animals and plants.

Submitted manuscripts must have a valid hypothesis or objective, clearly state the relevance to aquaculture, have proper experimental design with appropriate controls and utilize appropriate statistical analysis. Mention of trade names is limited to the main text.

Relevant physiological topics include, but are not limited to: Reproductive and endocrine physiology, including control of development and sex differentiation, induced ovulation and spermiation, gamete quality, storage and cryopreservation, physiology of gynogenetic, and triploid and transgenic organisms. Cardiorespiratory, muscle and exercise physiology. Osmoregulatory physiology. Digestive physiology, including endocrine and environmental regulation of growth. Larval physiology and ontogeny, including metamorphosis, smolting and molting. Performance under variable culture conditions, including temperature, water quality, rearing density, and stress and disease physiology. Physiology of harvest and handling techniques.

Genetics:

J.A.H. Benzie

The Genetics Section welcomes high-quality research papers presenting novel data, as well as critical reviews, on various aspects of selective breeding, genetics and genomics. Submitted manuscripts must have a valid hypothesis or objective, clearly state the

relevance to aquaculture, have proper experimental design with appropriate sample size and controls and utilize appropriate statistical analysis.

Relevant genetics topics include, but are not limited to: Breeding programs using classic selection procedures, markers or combining marker assisted selection with classic selectionApplications of crossbreeding and interspecific hybridizationEvaluation of commercially important phenotypes among cultured strains, populations or stocksApplications of biotechnology and genetic manipulation methodsDevelopment of linkage maps, identification of QTL or association of commercially important traits with specific gene(s). Where appropriate, linkage maps should include co-dominant markers, such as microsatellite DNA and SNP markers, to enable application to other populations and facilitate comparative mapping.

Aquaculture will NOT accept manuscripts dealing with the application of well-described techniques to yet another species, unless the application solves a specific biological problem important to aquaculture production; or manuscripts dealing with gene cloning, characterizing of microsatellites, species identification using molecular markers, EST papers with small collections, or mapping papers with a small number of markers, unless the papers also deal with solving a biological problem that is relevant to aquaculture production.

Aquaculture will not accept manuscripts focusing mainly on population genetics studies that are based on RAPD and AFLP markers, since the dominance and multilocus nature of the fingerprints are not suitable for making inferences about population genetic diversity and structure.

Sustainability and Society: D.C. Little

The Sustainability and Society section of the journal Aquaculture invites articles at the interface of natural and social sciences that address the broader roles of aquaculture in global food security and trade.

Aims and scope of the Sustainability and Society section are the: global dissemination of interdisciplinary knowledge regarding the management of aquatic resources and resulting impacts on people. Interconnections with other sectors of food production; resource management and implications for societal impact. Going beyond a narrow techno-centric focus, towards more holistic analyses of aquaculture within well-defined contexts. Enquiry based on understanding trajectories of change amid the global challenges of climate change and food security. Mixed methods and approaches that incorporate and integrate both social and natural sciences. Relevance for the diverse range of policy makers, practitioners and other stakeholders involved. Articles that take a value chain approach, rather than being wholly production orientated, are encouraged.

Disease P. Bossier

Parasites and Parasite Control A. Shinn

The Disease sections welcomes critical reviews and high quality articles containing novel data on all aspects concerning diseases of farmed aquatic species. The aims of the section are: description of new and emerging diseases including characterization of the causal agent(s), development in the understanding of fish pathogens for example including new methods of growth where this has been a problem for fastidious organisms, pathogenicity and epizootiology, developments in the diagnosis of disease going beyond the use of standard well used methods, and methods of disease control, notably new developments

in vaccines, immunostimulants, dietary supplements, medicinal plant products, probiotics, prebiotics and genetically-disease resistant stock. Relevance to aquaculture must be demonstrated. Articles, which adapt well known methods without further refinement of those methods, are unlikely to be accepted.

Submission Checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- Relevant declarations of interest have been made
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

In order to facilitate the review process, please make sure your submission is prepared with:

- Double line spacing
- Continuously numbered lines throughout the manuscript
- Numbered pages

BEFORE YOU BEGIN

Author of papers to Aquaculture are requested to verify their experimental design. Results should always include biological replicates. These could be obtained by performing an experiment multiple times within the same time window (demonstrating repeatability) or by performing an experiment multiple times in different time windows (demonstrating reproducibility). In a typical experiment, a biological replicate in aquaculture is a tank. Individuals that were kept during the experiment in one single tank are not independent from each other and can hence not be considered as a biological replicate. Authors are also requested to consult Aquaculture Volume 437, 1 Pages 344-350 for further support on statistical processing of data.

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Studies in humans and animals

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with [The Code of Ethics of the World Medical Association](#) (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the [Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals](#) and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms **sex** and **gender** should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the [ARRIVE guidelines](#) and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, [EU Directive 2010/63/EU for animal experiments](#), or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyrightholder.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <https://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck <https://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

If the manuscript to be submitted was previously rejected by *Aquaculture* or another journal, it is necessary to specify what substantive new work and/or revisions have been included to elevate the manuscript's quality for consideration by *Aquaculture*.

Preprints

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

Author contributions

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. [More details and an example](#)

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. [More information](#).

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for

resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the gold open access publication fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our [universal access programs](#).
- No open access publication fee payable by authors.
- The Author is entitled to post the [accepted manuscript](#) in their institution's repository and make this public after an embargo period (known as green Open Access). The [published journal article](#) cannot be shared publicly, for example on ResearchGate or Academia.edu, to ensure the sustainability of peer-reviewed research in journal publications. The embargo period for this journal can be found below.

Gold open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- A gold open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their researchfunder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For gold open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following [Creative Commons user licenses](#):

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as

endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The gold open access publication fee for this journal is **USD 4000**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <https://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our [open access page](#) for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. [Find out more](#).

This journal has an embargo period of 24 months.

Elsevier Researcher Academy

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's WebShop.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Authors should avoid responding by messages received from the system using the 'Reply' button on their e-mail message; this will send the message to the system support and not to the editorial office, and will create unnecessary load of sorting out and forwarding

Please submit your article via <https://www.evise.com/profile/api/navigate/AQUA>

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our [Support site](#). Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used. Kindly prevent suggesting reviewers from the same country.

PREPARATION

Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. [More information on types of peer review.](#)

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

LaTeX

You are recommended to use the Elsevier article class [elsarticle.cls](#) to prepare your manuscript and [BibTeX](#) to generate your bibliography.

Our [LaTeX site](#) has detailed submission instructions, templates and other information.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Numbering.** Manuscripts that are sequentially numbered (e.g., I, II, etc.) are no longer accepted.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

The abstract should be not longer than 400 words.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 4-6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Highlights of the manuscript

As part of the submission process, authors are required to provide 3 or 4 highlights, each one sentence long. Beyond stating key discoveries, these highlights must explicitly establish why the work is novel and why it has an application to aquaculture. It is not sufficient to state that the species is one that is farmed.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:
This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult [IUPAC: Nomenclature of Organic Chemistry](#) for further information.

1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature.
2. All biota (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.
3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.
4. For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed.

DNA sequences and GenBank Accession numbers. Many Elsevier journals cite "gene accession numbers" in their running text and footnotes. Gene accession numbers refer to genes or DNA sequences about which further information can be found in the databases at the National Center for Biotechnology Information (NCBI) at the National Library of Medicine. Authors are encouraged to check accession numbers used very carefully. **An error in a letter or number can result in a dead link.** Note that in the final version of the electronic copy, the accession number text will be linked to the appropriate source in the NCBI databases enabling readers to go directly to that source from the article.

Example 1: "GenBank accession nos. **AI631510**, **AI631511**, **AI632198**, and **BF223228**, a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. **AA361117**)".

Authors are encouraged to check accession numbers used very carefully. An error in a letter or number can result in a dead link.

In the final version of the printed article, the accession number text will not appear bold or underlined (see Example 2 below).

Example 2: "GenBank accession nos. AI631510, AI631511, AI632198, and BF223228), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. AA361117)".

In the final version of the electronic copy, the accession number text will be linked to the appropriate source in the NCBI databases enabling readers to go directly to that source from the article (see Example 3 below).

Example 3: "GenBank accession nos. AI631510, AI631511, AI632198, and BF223228), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. AA361117)".

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used. In

2+ ++ chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca and not Ca
 . Isotope numbers

18 should precede the symbols, e.g., O. The repeated writing of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full.

Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g., phosphate as P₂O₅).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here. Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork](#).

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Text graphics

Text graphics may be embedded in the text at the appropriate position. See further under Electronic artwork.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication

year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software](#).

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/aquaculture>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference formatting

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/ book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;

2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;

3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references can be listed either first alphabetically, then chronologically, or vice versa.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999).... Or, as demonstrated (Jones, 1999; Allan, 2000)... Kramer et al. (2010) have recently shown ...'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2018. The art of writing a scientific article. *Heliyon.* 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith , R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Reference to a website:

Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. Mendeley Data, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Journal Abbreviations Source

Define abbreviations that are not standard in this field at their first occurrence in the article: in the abstract but also in the main text after it. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. . In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for *Data in Brief* as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, *Data in Brief*. Please note an open access fee of 600 USD is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the [Data in Brief website](#). Please use [this template](#) to write your Data in Brief.

MethodsX

You have the option of converting relevant protocols and methods into one or multiple MethodsX articles, a new kind of article that describes the details of customized research methods. Many researchers spend a significant amount of time on developing methods to fit their specific needs or setting, but often without getting credit for this part of their work. MethodsX, an open access journal, now publishes this information in order to make it searchable, peer reviewed, citable and reproducible. Authors are encouraged to submit their MethodsX article as an additional item directly alongside the revised version of their manuscript. If your research article is accepted, your methods article will automatically be transferred over to MethodsX where it will be editorially reviewed. Please note an open access fee is payable for publication in MethodsX. Full details can be found on the [MethodsX website](#). Please use [this template](#) to prepare your MethodsX article.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order

form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Webshop](#). Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or [find out when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>