



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

ALEFF GABRIEL SANTOS SANTANA

PROTEASE EXÓGENA NA DIETA DE CAMARÕES *Penaeus vannamei*

ILHÉUS-BAHIA
2023

ALEFF GABRIEL SANTOS SANTANA

PROTEASE EXÓGENA NA DIETA DE CAMARÕES *Penaeus vannamei*

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para obtenção do título de mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Produção e Comportamento Animal.

Subárea: Produção e Nutrição de Animais Não-Ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. Matheus Ramalho de Lima

**ILHÉUS – BAHIA
2023**

S232

Santana, Aleff Gabriel Santos.

Protease exógena na dieta de camarões *Penaeus vannamei* / Aleff Gabriel Santos Santana. – Ilhéus, BA: UESC, 2023.

41f.: il.

Orientador: Matheus Ramalho de Lima
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – PPGCA.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Carcinicultura. 3. Nutrição. 4. Enzimas. I. Título.

CDD 639.31

|

“Somos herdeiros de nós mesmos”

AGRADECIMENTOS

Deus é maior que altos e baixos.

Agradeço aos meus pais Suely e Gonzaga por sempre acreditarem em mim, e sempre me apoiarem em todas as minhas decisões, vocês são meus maiores exemplo de força e determinação para enfrentar os obstáculos da vida, sem vocês eu não estaria aqui. Nem a imensidão de palavras seriam suficientes para descrever o meu amor por vocês.

Aos meus irmãos Maria Carolini e Thiago Luiz e meu cunhado Rafael Almeida, que sempre estiveram ao meu lado, vocês são incríveis e eu me orgulho muito em tê-los ao meu lado.

Ao meu orientador professor Matheus Ramalho de Lima, que me incentivou e vem contribuindo com minha formação profissional, agradeço pela paciência, aprendizagem e as orientações.

Ao meu professor Luis Gustavo Tavares Braga, pela oportunidade cedida, por notar em mim potencial, e me incluir de forma tão sincera em seu grupo de pesquisa, o senhor foi e continuará sendo muito importante no meu caminhar acadêmico.

A professora Marianne Schorer pelos conselhos e aprendizagem, agradeço pelo acolhimento no setor, pela paciência e pelos conselhos, aprendi não somente assuntos referente aos estudos, mas também que me fizeram crescer e ser um profissional melhor.

A Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) pela oportunidade de desenvolver meu projeto de pesquisa, em especial ao Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (AQUANUT) pelo acolhimento no setor, obrigado pelo suporte.

A Universidade Federal Rural do Semiarido (UFERSA) pela oportunidade da prática e por ceder as estruturas para a realização da pesquisa, agradeço também ao Grupo de pesquisa Inovação Tecnológica em Produção Animal de Precisão por tamanha ajuda, vocês todos foram fundamentais e necessários para a realização do experimento, obrigado pela disponibilidade. Meus agradecimentos a todos os funcionários do setor de aquicultura vocês são essenciais para todos nós estudantes e pesquisadores.

A minha prima Sueli e família, por tanto acolhimento e amor, o processo foi mais fácil com vocês ao meu lado.

A minha amiga e ouvinte dos meus problemas Júlia Gabriela, minha parceira acadêmica, você foi e é muito importante pra mim, eu só tenho a te agradecer por tanto incentivo e credibilidade, você me ajudou em dias que nem eu acreditava no melhor, e você sempre permaneceu confiante ao meu lado, meus sinceros agradecimentos de coração, conte sempre comigo.

Aos meus amigos de Brasília – DF, que me acompanham a tanto tempo e sempre estão do meu lado, Beatriz Freiris, Carolina Brandizzi, Caio Andrade, Fabiana Carolino, Júlia Lima, Lucas Oliveira, Patrícia Batista, Paula Gabrielle e Pedro Victor, mesmo distantes continuam fazendo parte da minha caminhada, obrigado por me ajudarem nos momentos difíceis e por me impulsionarem a permanecer caminhando.

Aos meus amigos de Ilhéus – BA, que tive o prazer de compartilhar a vida, Carla Lima, Gabriel Ferreira, Jonathan Oliveira, Junior Martins, e Sammuell Ribeiro, pela amizade e companherismo, vocês são muito especiais pra mim, obrigado por me receberem e tornarem meus dias mais felizes.

Aos meus amigos de Mossoró – RN, que me receberam tão bem, e me fizeram alegre todos os dias, Alessandro Amaral, Brunno Moraes, Carlos Daniel, Elisa Peixoto, Gabriel

Cardoso, Juan Carlos, Maria Eduarda, Thiago Reis, Victor Santos, e William Douglas, obrigado por estarem comigo nesse processo.

Ao programa de Pós Graduação em Ciência Animal (PPGCA-UDESC) e todo o corpo docente, por tanto ensinamento e aprendizagem.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo auxílio financeiro.

A Tectron Nutrição Animal, por ter concedido os aditivos para a realização do experimento.

A todos que estiveram comigo e ajudaram de forma direta ou indireta para que esse processo tenha sido idealizado e executado.

Ao Aleff do futuro eu digo que tudo valeu a pena, foi difícil o processo mas sei que tudo foi e será recompensado, sempre confie e acredite no seu potencial, você é capaz de chegar onde quer que seja.

PROTEASE EXÓGENA NA DIETA DE CAMARÕES *Penaeus vannamei*

RESUMO

A carcinicultura apresenta constante crescimento, influenciando de forma significativa a indústria global, responsável por aumentar a demanda comercial e gerando ótimos números na economia. A utilização de enzimas na dieta de animais permite o melhor aproveitamento dos alimentos, atuando diretamente na digestão e absorção dos nutrientes, considerando a especificidade dos substratos presentes na dieta. Na carcinicultura, o uso de enzimas diretamente nas rações ainda é limitado, contudo há possibilidade de obtenção dos benefícios gerados pelas enzimas exógenas. -Foi desenvolvido um estudo de eficácia com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de doses crescentes de protease exógena na dieta de *Penaeus vannamei* criados em densidade de 90 cam/m². O delineamento aplicado foi inteiramente ao acaso, com doses crescentes de protease exógena (0, 125, 250 e 500g/t) suplementadas em modo *on top* em ração comercial com 35% de proteína, extrusada, e com péletes de 1,6 mm de diâmetro. Cada tratamento teve quatro repetições com 90 camarões cada, um total de 1440 camarões, biomassa total inicial de 2.822,4g. A análise dos parâmetros de qualidade de água nos tratamentos foi realizada quinzenalmente, simultaneamente com a pesagem dos animais, tendo os parâmetros normais sem alterações significativas. Foram considerados dados de desempenho e de produção e rendimento de partes do camarão. Os dados foram coletados e analisados no software R. As doses de protease foram analisadas em regressão polinomial. O valor de P considerado foi de 0,05, e tendência em 0,10. Os resultados mostraram um incremento significativo no desempenho com o uso de protease exógena na dieta dos camarões cultivados sob densidade de 90 cam/m². O peso vivo teve efeito linear crescente ($P < 0,001$), semelhantemente o consumo de ração ($P < 0,001$), o ganho de peso ($P < 0,001$), e a sobrevivência ($P < 0,001$), enquanto que a conversão alimentar apresentou efeito quadrático ($P = 0,005$). A suplementação de protease exógena mostrou ter eficácia sob a dieta controle, resultando em incrementos satisfatórios quando analisados os índices de ganho de peso. O estudo demonstra efeitos positivos na adição de protease exógena, tendo efeitos significativos sobre o desempenho dos camarões nas presentes condições.

Palavras-chave: Aquicultura; Carcinicultura; Nutrição; Enzima;

EXOGENOUS PROTEASE IN THE DIET OF SHRIMP *Penaeus vannamei*

ABSTRACT

Shrimp farming presents constant growth, significantly influencing the global industry, responsible for increasing commercial demand and generating great numbers in the economy. The use of enzymes in animal diets allows for better utilization of food, directly affecting digestion and nutrient absorption, considering the specificity of substrates present in the diet. In shrimp, the use of enzymes directly in feeds is still limited, but there is a possibility of obtaining benefits generated by exogenous enzymes. An efficacy study was developed to evaluate the effect of supplementation of increasing doses of exogenous protease in the diet of *Penaeus vannamei* raised at a density of 90 shrimp/m². The experimental design applied was completely randomized, with treatments organized in increasing doses of exogenous protease (0, 125, 250, and 500g/t) supplemented in "on top" mode in commercial feed with 35% protein, extruded, and with pellets of 1.6 mm in diameter. Each treatment had 4 replicates of 90 shrimp each, a total of 1440 shrimp, with an initial total biomass of 2,822.4g. The analysis of water quality parameters in the treatments was carried out fortnightly, simultaneously with the weighing of the animals, and the parameters were normal with no significant alterations. Performance data, production, and shrimp part yield were considered. Data was collected and analyzed in R software. Protease doses were analyzed by polynomial regression. The P-value considered was 0.05, and trend at 0.10. The results showed a significant increase in performance with the use of exogenous protease in the diet of shrimp grown under a density of 90 shrimp/m². Live weight had a linear increasing effect ($P < 0.001$), as did feed intake ($P < 0.001$), weight gain ($P < 0.001$), and survival ($P < 0.001$), while feed conversion had a quadratic effect ($P = 0.005$). The supplementation of exogenous protease showed to have an influence on the control diet, resulting in satisfactory increments when analyzing weight gain indices. The study demonstrates positive effects in the addition of exogenous protease, with significant effects on the performance of shrimp under the present conditions.

Keywords: Aquaculture; Shrimp farming; Nutrition; Enzyme.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Produção mundial de aquicultura, de 1991 á 2020 Fonte: FAO (2022)	17
Figura 2 – <i>Penaeus vannamei</i> Fonte: Arquivo pessoal (2023)	19
Figura 3 – Anatomia do trato digestivo de <i>Penaeus vannamei</i> Fonte: ABCC (2017).....	20
Figura 4 – Ração experimental Fonte: Arquivo pessoal.....	31
Figura 5- Esquema de influência com adição de enzima exógena	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros de qualidade de água nos tratamentos experimentais **Erro!** **Indicador não definido.**

Tabela 2. Peso vivo inicial (IBW, g/cam), e aos 90 dias (FBW, g/cam), consumo de ração (FI, g/cam), ganho de peso (BWG, g/cam), conversão alimentar (FCR, g/g) e sobrevivência (SR, %) de camarões *Penaeus vannamei* alimentados com doses de protease após 90 dias de cultivo, sob densidade de 90 cam/m².....34

|

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO GERAL	15
3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
4 REVISÃO DE LITERATURA	16
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
AQUACULTURE INTERNATIONAL	28
<i>Suplementação de protéase exógena na dieta de camarões marinhos Penaeus vannamei</i>	28
9 CONCLUSÃO	37
10 REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

A oferta e demanda por pescado vêm obtendo um expressivo aumento no consumo, resultado esse oriundo de crescimento populacional e mudança de hábitos alimentares. O *Penaeus vannamei* tem demonstrado resultados de produção satisfatórios, sendo a China o maior produtor e a principal importadora (620.000 t/US\$ 3,32 bilhão) de camarão originado do Equador, em seguida a União Europeia (149.375,8 t/US\$ 823,5 milhões), e dos Estados Unidos (114.013,8 t/US\$ 634,4 milhões) (ABCCAM, 2021).

O camarão branco do pacífico como também é chamado o *P. vannamei*, tem origem do Leste do Oceano Pacífico, com aparições desde Sonora, no México, até Thumbes no Peru (BARBIERI, NETO 2002), sendo a espécie mais cultivada mundialmente (FAO, 2012). A classificação taxonômica desses animais é de filo Arthropoda e subfilo Crustacea, sendo os animais mais encontrados nos oceanos. A espécie tem a classe Malacostraca e à ordem Decapoda, pela presença de três pares de macilípedes e cinco pares de pereópodes, e da família Penaeidae.

A espécie *P. vannamei* segue sendo a principal escolha de produção pelos fatores de rusticidade, crescimento em curto tempo, alta densidade, tolerância aos níveis de salinidade, e capacidade de aproveitamento de dietas com níveis proteicos variando de 20% a 40% (COSTA, 2004). O cultivo de camarões pode ser classificado em três tipos de sistemas a depender da produção, sendo: extensivo, semi-intensivo e intensivo, tendo mudanças quanto a tecnologia incrementada e custos de produção (SHANG; LEUNG; LING, 1998).

Embora o *P. vannamei* seja a espécie de camarão mais cultivada por atender as demandas dentre os crustáceos, os estudos e pesquisas visando o aumento produtivo é contínuo, sendo crucial a inovação e suplementação das rações, com objetivo de melhorar a qualidade e a capacidade de exigência nutricional da espécie (GÓMEZ-GIL *et al.*, 2000). A alimentação em uma criação deve atender as exigências nutricionais da espécie cultivada, e fatores como palatabilidade, atratividade, e viabilidade econômica para o produtor (CYRINO, FRACALOSSO, 2013).

As indústrias de ração animal estão em constante preocupação em otimizar seus produtos, para que eles venham a garantir eficácia na produção, garantindo parâmetros satisfatórios, tais como, melhoramento genético, nutrição, manejo e produto final (BEUS, 2017). As propriedades físicas e organolépticas das rações administradas devem atender aos

padrões de qualidade para um satisfatório crescimento zootécnico, ter elevadas digestibilidade, com disponibilidade de nutrientes essenciais e não conter fatores antinutricionais (LEITE et al., 2008).

Uma excelente nutrição que supra a demanda de *P. vannamei*, deve ter fatores que otimizem seu crescimento e todos os dez aminoácidos essenciais, seguindo a quantidade exigida para a fase de crescimento e para a espécie (NRC, 2011). Com base no desenvolvimento zootécnico, os ingredientes de origem proteica incrementados em uma ração, devem apresentar alta digestibilidade, com a finalidade de suprir prontamente essa necessidade. A disponibilidade de proteína nas rações pode ter uma digestibilidade oscilante, não atendendo as exigências, e mesmo que tendo um alto valor na composição dietética, podem mesmo assim sendo não digeridas e aproveitadas de forma eficaz pelo animal (NUNES et al., 2014)

A aplicação de uso de determinadas enzimas na alimentação de organismos aquáticos vem aumentando regularmente, tendo em vista a redução dos impactos ambientais, proporcionando aumento na qualidade das dietas desses animais e sendo um recurso econômico de proteína, (GOMES et al., 2019). O uso de protease vem sido estudado expressivamente em aves e suínos na potencialização da digestibilidade (YU et al., 2007). Estudos com a mesma enzima foi realizada também em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (DREW et al., 2005), resultando em resultados satisfatórios para a espécie.

Presentemente, estudos veem exibindo eficácia com o implemento de protease inserida em rações para dietas aquáticas. Espécies como carpa gibelio (*Carassius auratus gibelio*) (SHI et al., 2016), carpa preta (*Mylopharyngodon piceus*) (CHEN et al., 2009) e tilápia (*Oreochromis niloticus*) (LI et al., 2016) vem demonstrando uma melhoria significativa em crescimento e aproveitamento nutricional, os estudos comprovaram também o desempenho satisfatório no desenvolvimento corporal após o incremento de protease.

O uso de protease exógena em uma dieta tem a capacidade de otimizar o valor nutricional de uma ração, por meio de uma quebra de proteínas escassas nos ingredientes vegetais e nas proteínas resistentes ao processo de digestibilidade (CASTRO, 2011). O uso de enzimas exógenas vem sendo um assunto amplamente debatido, com objetivo de compreensão e informações sobre o seu potencial em acrescer o valor nutricional de uma ração, gerando também efeitos positivos no crescimento animal, desempenho zootécnico,

rendimento do produto final, e atuando na qualidade do meio ambiente, onde haverá menos resíduos de matéria orgânica gerando menos impacto ambiental (DEVRESSE, 2014).

Considerando a carência de informações a respeito do incremento de protease e leveduras na carcinicultura e seus parâmetros adequados para absorção em níveis satisfatórios justifica-se a necessidade de estudos que determinem as exigências dessas enzimas para um melhor desenvolvimento e desempenho zootécnico.

2 OBJETIVO GERAL

- Avaliar o efeito da suplementação de doses crescentes de protease exógena na dieta de *Penaeus vannamei* criados em densidade de 90 cam/m².

3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a dose de protease exógena na dieta de camarões *Penaeus vannamei*.
- Determinar o efeito da dose de protease sobre o desempenho e rendimento de camarão descascado *Penaeus vannamei*.
- Determinar o impacto da dose de protease exógena sobre a produtividade e por unidade de área de cultivo de *Penaeus vannamei*.

4 REVISÃO DE LITERATURA

A produção aquícola detém o posto de maior fonte de proteína animal mundial, a atividade pesqueira está em constante crescimento. Os peixes são os animais mais produzidos no mundo, seguido das algas marinhas em segundo lugar, logo após os moluscos e por fim os crustáceos (SOUZA et al., 2022). No quadro financeiro, os peixes continuam ocupando o primeiro lugar, tendo uma mudança de posição, agora com os crustáceos estando em segundo lugar, moluscos e plantas aquáticas estando logo após (FAO, 2022).

Em 2020 a pesca e a produção aquícola mundial teve seu recorde, superando a produção de anos atrás com o marco de 214 milhões de toneladas, com o consumo per capita de 20,2 kg em 2020 resultando em quase o dobro em comparação com 50 anos atrás (FAO, 2022). O consumo de alimentos aquáticos está cada vez mais em evidência, se apresentando não só como fonte de proteína, mas também de outros componentes como o ômega 3 e ácidos graxos, elementos de suma importância para dieta humana e também para a segurança nutricional (FAO, 2022).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2022) a aquicultura nacional em 2021 produziu ao todo 648,5 mil toneladas de alimentos pesqueiros, aumentando em 1,93% com relação ao ano anterior, e com valores recordes de movimentação, sendo de R\$ 6,37 bilhões, uma ascensão de 15,02% quando comparado com 2020.

A produção de pescados pode ser dividida em dois âmbitos, a pesca extrativista e a aquicultura, onde a pesca consiste na retirada dos recursos aquáticos do seu ambiente natural sem cultivo prévio, e a aquicultura se classifica como cultivo, em confinamento de forma controlada e monitorada podendo ser peixes, crustáceos, moluscos, reptéis, algas ou qualquer que seja o organismo aquático (PICKLER et al., 2017).

O Brasil em território de água possui a maior reserva do mundo tanto em água doce como em zona costeira, com fatores favoráveis para produção de organismos aquáticos, como o clima e a diversidade de espécies nacionais (RODRIGUES et al., 2012).

A produção de crustáceos está em constante crescimento influenciando diretamente a indústria global aumentando a demanda comercial e a economia no setor (BONDAD-REANTASO et al., 2012). Alguns países têm sua economia baseada no cultivo e produção de camarões, e como resultado, se apresenta como o setor dentro da aquicultura com significativo crescimento e uma intensificação no ramo produtivo, demonstrado na Figura 1 (BRIGGS et al., 2004; FUNGE-SMITH & BRIGGS 2005; FAO 2016).

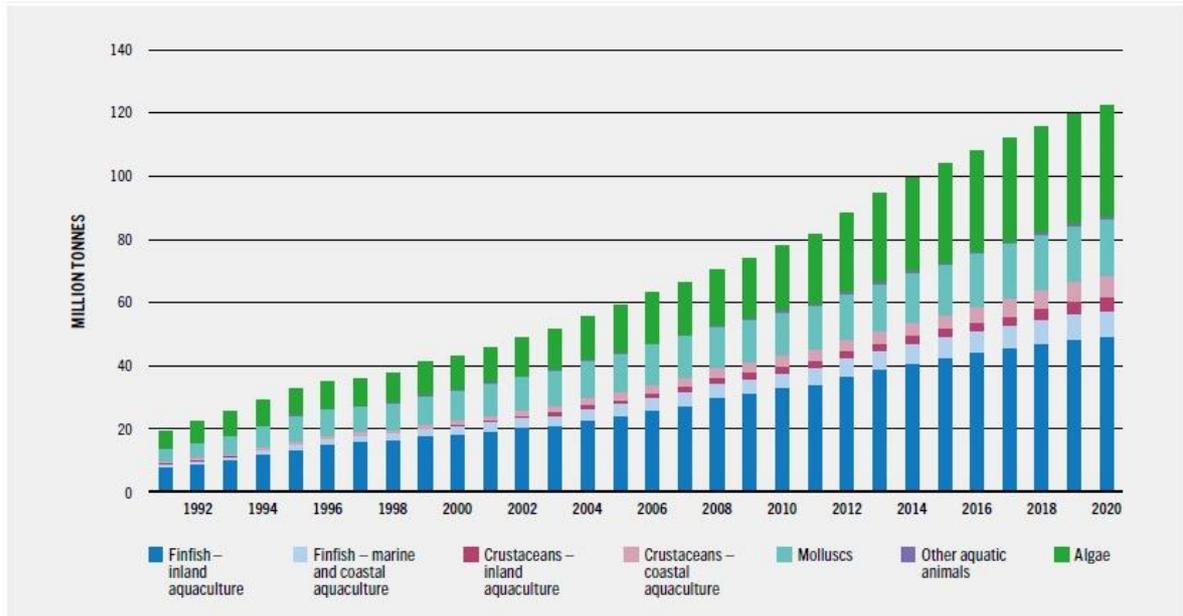


Figura 1 – Produção mundial de aquicultura, de 1991 á 2020
Fonte: FAO (2022)

Em um cenário global a produção de camarão obteve números satisfatórios em comparado a anos anteriores. A China se destaca sendo o maior produtor da espécie camarão branco do pacífico (*Penaeus vannamei*), responsável por 33% da produção mundial, a Índia e a Indonésia vêm intercalando com 13% da produção, e o Brasil respondendo por 1% da produção mundial (FAO, 2022). O mercado se encontra em recuperação após o impacto no consumo global em função da pandemia da COVID-19 (SOARES et al., 2022).

A carcinicultura marinha nacional teve seu crescimento reconhecido por volta do ano de 1970, a partir do fornecimento de tecnologias que proporcionaram o começo da produção no Brasil, sendo compatível com o cenário da época (MOLES; BUNGE, 2002). A espécie *Penaeus japonicus* foi a produção pioneira, sendo responsável pelo crescimento nos estudos e determinação de parâmetros para cultivo de camarão, com o passar do tempo houve um insucesso com a espécie, mas não teve seu processo anulado, o mesmo serviu de parâmetro e estímulo para o recomeço da carcinicultura nacional envolvendo a reprodução e larvicultura

do *Penaeus vannamei* (ABCC, 2011).

O cultivo nacional de camarão vem se destacando cada vez mais com o passar dos anos, onde dois fatores chamam a atenção nesse processo, primeiro é o crescimento de pequenos produtores, e a segunda é a oferta de empregos no setor (ROCHA, 2003). Recentemente a Pesquisa da Pecuária Municipal – PPM referente a produção de camarão nacional em 2021, mostrou que a produção cresceu 18,14% e 78,6 mil toneladas despescadas, com uma produção estimada em R\$ 1,6 bilhão superando o ano anterior.

O *Penaeus vannamei* é a espécie mais produzida mundialmente, sendo sozinho responsável por 53% da produção total de crustáceos, número que se refere a aquicultura, e que resulta em 70% de toda a produção de camarões, com aproximadamente 5 milhões de toneladas/ano (FAO, 2020). A espécie vem obtendo essa ascensão na produção devido a sua resistência e adequação a diferentes climas, com produtividade elevada e desempenho zootécnico satisfatório (BRASIL, 2021).

O *Penaeus vannamei* (BOONE, 1931) é um crustáceo decápode, faz parte da família Penaeidae. De acordo com DALL et al., (1999) o ciclo de vida desses animais é dividido em cinco etapas, larva, protozoa, pós-larva, juvenil e adultos, fases essas que se cumprem durante o seu desenvolvimento corporal.

A espécie é nativa do Oceano Pacífico, e foi introduzida no Brasil por volta da década de 80, onde o mesmo se adaptou rapidamente aos fatores naturais do país, e atualmente é encontrada em todo território nacional (MENDES e PEDRESCHI, 1998). Com hábito alimentar, o camarão é detritívoro, onívoro, tem uma vasta alimentação, podendo se alimentar de quaisquer tipos de matéria orgânica ofertada ou que esteja disponível para o consumo (GUILLAUME, 1999).

Esses animais podem ser considerados de fácil manejo pois apresentam uma adaptabilidade aos meios de cultivo, podem se desenvolver em uma taxa de salinidade entre 15% a 30%, e em uma temperatura variando entre 23 a 30°C, toleram altas densidades no cultivo, e requerimento relativamente baixo no valor proteico em sua dieta, geralmente é ofertada na forma de ração peletizada que em meios de confinamento apresenta uma taxa de proteína entre 22 a 40% (COSTA, 2006).



Figura 2 – *Penaeus vannamei*
Fonte: Arquivo pessoal (2023)

O sistema digestório dos crustáceos possui em suma três compartimentos: intestino anterior que tem início na boca com pares de apêndices responsáveis pela captura de alimentos, e onde se localiza o esôfago e o estômago, o intestino médio, onde se localiza o hepatopâncreas, e por fim, o intestino posterior com a localização do reto e ânus (GUILLAUME e CECCALDI, 1999).

O maior órgão presente nos crustáceos decápodes é o hepatopâncreas, sendo ele responsável por diversas funções metabólicas, como secretar e sintetizar enzimas e realizar a absorção nutricional da alimentação ingerida, ocorre a reserva de minerais, e o processo metabólico dos lipídeos e carboidrato, sendo capaz de realizar mobilizações de reservas para o período de muda (FELGENHEUER 1992). A absorção de nutrientes majoritariamente ocorre no hepatopâncreas, sendo também possível a absorção direta via parede do intestino médio (MENTE et al., 2003).

O processo digestivo nos camarões tem seu começo na digestão química, logo após a ingestão alimentar, percorre o esôfago, chegando ao intestino anterior no proventrículo, seguindo para o intestino médio no hepatopâncreas, onde se junta com as secreções formadas por enzimas digestivas, tendo em sua composição proteases, lipases e carboidrases, realizando a finalização da digestão e o aproveitamento dos nutrientes (LE MOULLAC et al., 1997).

A obtenção de informações a respeito da atividade enzimática digestiva do *P. vannamei* tem sido frequentemente estudada, dado que a indução dessas enzimas sintetizadas

e secretadas no hepatopâncreas dos camarões tem influência no processo adaptativo com relação as diversas variedades de rações. Alguns estudos exemplificam a importância na atuação das enzimas exógenas no sistema digestivo do *P. vannamei* (CAVALCANTI, 2012).

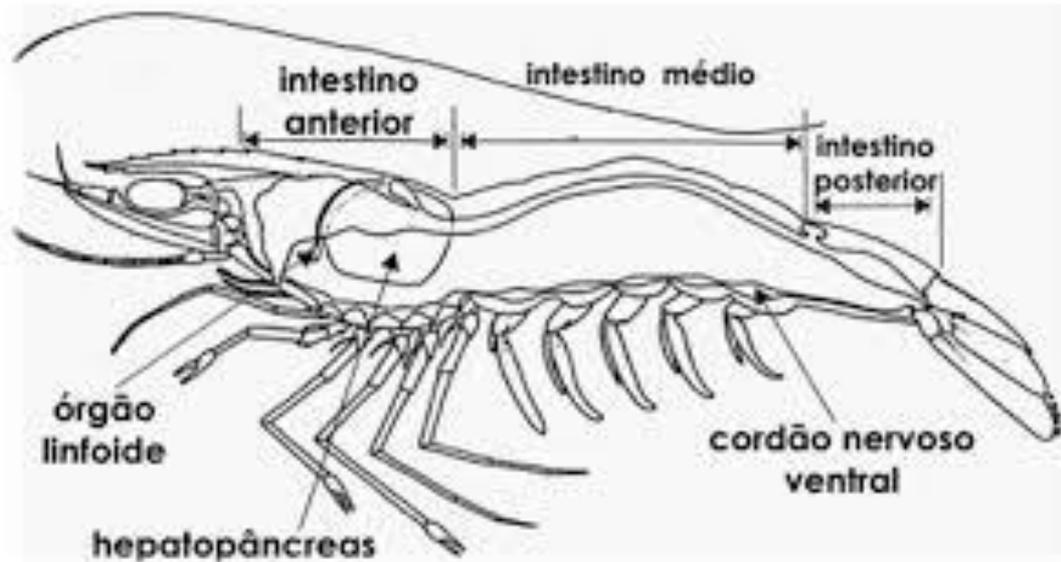


Figura 3 – Anatomia do trato digestivo de *Penaeus vannamei*
Fonte: ABCC (2017)

A ração é o principal fator de investimento, atingindo altas porcentagens dos custos em uma fazenda de camarões, tendo um valor comercial variável a depender do teor de proteína presente, tabela nutricional, deslocamento e quantidade (PEREIRA JUNIOR et al., 2013). Dentro da cadeia produtiva, o produtor deve optar pelo fornecimento de rações balanceadas, cumprindo as exigências nutricionais de cada animal, a fim de otimizar o produto final e obter o máximo de potencial de crescimento e evitando o desperdício de ração (BELLAVAR, 2004). O maior desafio em uma produção de camarões está na nutrição, na execução de uma ração que atenda os padrões de exigências nutricionais da espécie (DE FREITAS et al., 2016)

A determinação de um alimento aplicável, deve além de fornecer ganho de massa corpórea também ser proveniente de benefícios para o sistema imune, auxiliando o animal a se desenvolver de forma saudável (CLYDESDALE, 1997). No fornecimento de um alimento, deve-se analisar a tabela nutricional e verificar a aplicabilidade para a espécie cultivada, a mesma deve possuir alta palatabilidade para que não ocorra perdas no fornecimento, e ausente

de quaisquer fatores antinutricionais em sua composição (SUDARYONO et al., 1995).

O adequado manejo nutricional fornecido ao animal garante elevadas porcentagens de crescimento e potencial reprodutivo. A alimentação balanceada com os nutrientes necessários tem um papel fundamental no suporte a condições adversas e estressantes do meio de cultivo, desde o manuseio até o transporte, baixando os níveis de estresse e diminuindo a incidência de mortalidade ocasionada por disfunção no sistema imune (SALARO et al., 2003).

Em concordância com COBO et al., (2012) o alimento que não é devidamente consumido quando feita a distribuição nos viveiros, tem como resultado, o acúmulo de amônia na água, gerando déficit na qualidade da água, portanto esse componente em níveis elevados (superior a 1,32 mg/L) podem levar ao quadro de intoxicação em pós-larvas de *Penaeus vannamei*.

A utilização de enzimas encontra-se como alternativa para reduzir os altos custos em uma produção, visando sobretudo a melhoria da eficiência no incremento de alimentos tradicionais, e possibilitar a utilização de matérias primas alternativas como potencializador no aproveitamento nutricional, resultando em um êxito no cultivo (MATIAS et al., 2015).

A suplementação com enzima exógena nas rações tem índices satisfatórios na produção animal, mas para que essas taxas possam ser alcançadas algumas observações devem ser feitas, principalmente com a fonte de alimento a ser utilizada, se está de acordo com uma tabela nutricional adequada para os animais cultivados, e a qualidade dos grãos, sendo a protease melhor desenvolvida e mais atuante quando essa ração tem ingredientes ricos em valores proteicos (DOURADO et al., 2014).

As enzimas são proteínas eficientes na produção. Atuando diretamente no processo bioquímico, com elevados índices de eficácia em moléculas específicas (substratos), são biomoléculas catalizadoras que tem a ação em reduzir o nível de energia de ativação, ocasionando assim a agilidade em reações bioquímicas, essas enzimas sob soluções aquosas atuam em condições --amenas de temperatura e pH (NELSON e COX, 2002).

As enzimas exógenas são oriundas de produtos de organismos vivos, não sendo propriamente organismos vivos, sendo proveniente de bactérias, microrganismos, protozoários e fungos (MAGNAGO et al., 2015). As enzimas podem ser categorizadas em duas vertentes a depender da sua finalidade, sendo: operar no complemento de enzimas produzidas pelo organismo (amilases, proteases e lipases) podendo também agir no

fornecimento de enzimas das quais não são sintetizadas pelo próprio organismo (fitases e celulases) (GRECCO et al., 2019).

As enzimas de acordo com a Instrução Normativa do MAPA Nº 44 de 15/12/2015 se enquadram como aditivos, sendo um produto de incremento na nutrição animal, com a finalidade de melhorar características no desempenho animal, ou que melhore a composição de produtos para alimentação animal (LEGISWEB; MAPA, 2015).

A proteína é o ingrediente de maior valor nutricional em uma formulação de ração, porém não são todas as proteínas que são devidamente metabolizadas pelos animais, e ocorre a liberação de componentes nitrogenados ao meio ambiente, por meio das excreções fisiológicas. A suplementação da protease na fabricação de uma ração além de melhorar significativamente a digestibilidade, tem potencialidade de garantir uma redução na emissão de N₂O e amônia no meio ambiente (JEGANNATHAN e NIELSEN, 2013).

O incremento de proteases na dieta animal, tem como finalidade a melhoria do valor nutricional, agindo na quebra de proteínas que estão em pouco disponíveis nos ingredientes originais da ração, responsável também por fazer melhorias nas características químicas das rações, como aroma, sabor, textura e palatabilidade (CASTRO, 2011 e SILVA et al., 2020).

A classificação de proteases pode ser feita em endopeptidases e exopeptidases, a depender do sítio de ação a ser executado. A ação está relacionada a hidrólise que ocorre nas ligações peptídicas, que se encontram na cadeia polipeptídica, onde as proteases pertencem ao grupo proteinases, e atuando nas ligações peptídicas são então proteinases, e atuando nas ligações residuais de aminoácidos terminais são exopeptidases (GARCIA-CARREÑO; JANSSESNS, 2003).

As proteases também podem ser divididas de acordo com a otimização do seu pH, sendo proteases ácidas (pH 2.0 a 6.0), neutras (pH 6.0 a 8.0) e alcalinas (pH 8.0 a 13.0), sua atividade enzimática atinge o nível máximo em um nível de pH mais neutro em uma faixa entre 7,0 a 11.0 (SOUZA et al., 2015).

Os avanços dos estudos bioquímicos sobre o funcionamento das enzimas exógenas são importantes para a determinação de ingredientes para a formulação de uma ração eficiente, tendo como princípio que o perfil enzimático está relacionado com os hábitos alimentares e com a fonte dietética que está sendo fornecida (FERNÁNDEZ et al., 2001).

A suplementação de enzimas exógenas pode ser feita para suprir quantidades

insuficientes produzidas pelo animal, como ocorre com as amilases e proteases, ou fornecer ao animal uma enzima que ele não sintetiza como as celulasas (GRECCO et al., 2019).

O uso de enzimas exógenas vem se destacando como um importante acréscimo na dieta de animais aquáticos, tendo ação direta na digestão e metabolização de nutrientes que estão disponíveis no substrato, maximizando o desempenho zootécnico, e atuando diretamente na capacidade de absorção fazendo com que esse insumo seja totalmente aproveitado, e gerando assim menos impacto ambiental.

Deste modo, avaliar o desempenho de *P. vannamei* perante o incremento de protease exógena na ração e analisar se o mesmo possui eficácia no desempenho produtivo se torna necessário, tendo um retorno direto ao produtor, possibilitando com que a produção tenha taxas elevadas nos ganhos de produção e menores desperdícios com a fonte alimentar, resultando por fim na otimização do produto final e maior rentabilidade.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBIERI, J. R. C.; OSTRENSKY, N. A. Camarões marinhos - Engorda. **Aprenda Fácil**, v. 2, 2002.

BELLAVER, C. Importância da gestão de qualidade de insumos para rações visando a segurança do alimento. In: **Simpósio de Segurança dos Alimentos, 41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. Campo Grande/MS: [s.n.].

BEUS, F.C. **Vivência numa Fábrica de Rações para Alimentação Animal**. 2017, 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Porto Alegre.

BONDAD-REANTASO, M. G. et al. The role of crustacean fisheries and aquaculture in global food security: past, present and future. **Journal of invertebrate pathology**, v. 110, n. 2, p. 158–165, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento. Plataforma tecnológica docamarão marinho cultivado. Brasília: MAPA, 2001.

BRIGGS, M. et al. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Regional Office for Asia and the Pacific. **RAP Publication**, n. 10, 2004.

CASTRO, S. F. Digestibilidade ileal e total de nutrientes utilizando correções nutricionais e uma protease para aves. In: **79p. Dissertação**. [s.l: s.n.].

CAVALCANTI, H.; SANTOS, D. ;.; BEZERRA, R. **Enzima digestivas do camarão branco *Litopenaeus vannamei* cultivado com dietas à base de concentrado protéico de soja em substituição à farinha de peixe**. Recife: [s.n.].

CHEN, J.-M. et al. Effect of adding neutral protease to diets on growth performance, digestion, and body composition of fingerling black carp (*Mylopharyngodon piceus*)□: Effect of adding neutral protease to diets on growth performance, digestion, and body composition of fingerling black carp (*Mylopharyngodon piceus*)□. **Shui sheng sheng wu hshueh bao [Acta hydrobiologica Sinica]**, v. 33, n. 4, p. 726–731, 2009.

CLYDESDALE, F. M. A proposal for the establishment of scientific criteria for health claims for functional foods. **Nutrition reviews**, v. 55, n. 12, p. 413–422, 1997.

COBO, M. et al. Ammonia tolerance of *Litopenaeus vannamei* (Boone) larvae. **Aquaculture Research**, p. 1–6, 2012.

COSTA, R. **Pesquisa de *Vibrio* no cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei* no Estado do Ceará**. [s.l: s.n.].

CYRINO, J. E. P.; FRACALOSSO, D. M. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. [s.l.] Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2013.

DALL, W. et al. (EDS.). **Biology of the Penaeidae, the. Advances in marine biology, volume 27**. [s.l.] Elsevier Science & Technology, 1991.

DE FREITAS, E.; PASSOS, F.; HAYD, L. Diferentes níveis proteicos no crescimento de juvenis de *Macrobrachium pantanalense*. **Archivos de Zootecnia**, v. 65, n. 249, p. 43–49, 2016.

DEVRESSE, B. A responsabilidade ambiental dos produtores de ração: Interação entre alimentos e água. A importância da relação Nitrogênio - Fósforo. IN: ABCC - Associação Brasileira dos Criadores de Camarão, Natal, ano 16. p. 21–28, 2014.

DOURADO, L. R. B. et al. Enzimas na nutrição de monogástricos. **Jaboticabal: Funep**, p. 466–484, 2014.

DREW, M. D. et al. Effect of adding protease to coextruded flax:pea or canola:pea products on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Animal feed science and technology**, v. 119, n. 1–2, p. 117–128, 2005.

FAO 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Roma, p. 230.

FAO, FAO Statistical Yearbook: Fishery and Aquaculture Statistics. The organization of Food and Agriculture of the United Nations, Rome, 2020.

FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO.

FELGENHAUER, B. Internal anatomy of the decapoda: On overview. **Microscopic Anatomy of Invertebrates**, v. 10, p. 45–75, 1992.

FERNÁNDEZ, I. et al. **Characterization of [alpha]- amylase activity in five species of Mediterranean sparid fishes**. Sparidae, Teleostei: [s.n.].

GARCIA-CARREÑO, F. L. et al. Digestive proteinases of *Brycon orbignyanus* (Characidae, Teleostei): characteristics and effects of protein quality. **Comparative Biochemistry and Physiology Part**, v. 132, p. 343–352, 2002.

GOMES, V. D. S. Blend de enzimas digestivas sobre crescimento e composição corporal de juvenis de tilápia do nilo. **Revista científica de produção animal**, v. 20, 2018.

GOMEZ-GIL, B.; ROQUE, A.; TURNBULL, J. F. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. **Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)**, v. 191, n. 1–3, p. 259–270, 2000.

GRECCO, É. T. et al. Xylanase for meat-type quails from 15 to 35 days old. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 48, n. 0, 2019.

GUILLAUME, J.; CECCALDI, H. J. Physiologic digestive des crevettes. In: GUILLAUME, J. (Ed.). **Nutrition et alimentation des poissons et crustacés**. Paris: INRA. Cap. 15. P. [s.l: s.n.], p. 297–312.

JEGANNATHAN, K. R.; NIELSEN, P. H. Environmental assessment of enzyme use in industrial production – a literature review. **Journal of cleaner production**, v. 42, p. 228–240, 2013.

LEGISWEB. **Instrução Normativa MAPA Nº 44 DE 15/12/2015 - Federal - LegisWeb**. Disponível em: <<https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=313804>>. Acesso em: 2 feb. 2023.

LEITE, J. L. B. et al. Effect of pelleting and addition of enzymes and vitamins on the performance and advantage of energy and nutrients in broiler chickens from 1 to 21 days old. **Revista Ciência Agrotécnica**, v. 32, n. 4, p. 1292–1298, 2008.

LI, X. Q. Effects of temperature and feed processing on protease activity and dietary protease on growths of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, and tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. **Aquaculture Nutrition**, p. 1283–1292, 2016.

MAGNAGO, J. G. P. et al. Níveis de fitase sobre o desempenho, parâmetros ósseos e bioquímicos de suínos alimentados com ração de origem vegetal sem inclusão de fosfato bicálcico. **Ciência rural**, v. 45, n. 7, p. 1286–1291, 2015.

MATIAS, C. F. Q. et al. Efeito da protease sobre o coeficiente de metabolizabilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v. 67, n. 2, p. 492–498, 2015b.

MENDES, G. N.; PEDRESCHI, O. Aclimação de juvenis de *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) à água doce. In: **AQUICULTURA BRASIL 98**, 1, 1998, Recife. *Anais...* Recife: [s.n.], 1998. v. 2, p. 309-314

MENTE, E. et al. Influence of oxygen partial pressures on protein synthesis in feeding crabs. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 284, n. 2, p. R500-10, 2003.

MOLES, P.; BUNGE, J. Shrimp farming in Brazil: an industry overview. Roma: FAO/WWF/NACA, p. 26, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington: National Academy of Science, 2011. 376p.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Artmed, 2002. Acesso em: 1 feb. 2023.

NUNES, A. J. P. et al. Practical supplementation of shrimp and fish feeds with crystalline amino acids. **Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)**, v. 431, p. 20–27, 2014.

PEREIRA JUNIOR, G. P. et al. Desempenho produtivo de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818) alimentados com rações contendo farinha de cruzeira de

mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) em substituição ao milho (*Zea mays*). **Acta Amazônica**, p. 217–226, 2013.

ROCHA, I. DE P. A carcinicultura no contexto do setor pesqueiro brasileiro. *Panorama da aquicultura*, v. 13, n. 80, p. 49–53, 2003.

RODRIGUES, L. S. et al. *Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades*. 2012.

SALARO, A.L. SOUTO, E.F. SAKABE, R. *Manejo de viveiros*. Brasília: SENAR. 96p. 2003.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA FILHO, J. E. R. **Evolução da piscicultura no Brasil: Diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia**. [s.l.] Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA), 2017.. Acesso em: 10 feb. 2023.

SHANG, Y. C.; LEUNG, P.; LING, B. H. Comparative economics of shrimp farming in Asia. **Aquaculture**, v. 164, p. 183–200, 1998.

SHI, Z. et al. Effects of protease supplementation in low fish meal pelleted and extruded diets on growth, nutrient retention and digestibility of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. **Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)**, v. 460, p. 37–44, 2016.

SOARES, M.; EVANGELISTA, D. K. R.; SOUSA, D. N. DE. Prospecção de tecnologias para a aquicultura em feiras virtuais. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, p. e37411326234, 2022.

SOUZA, P. M. D. A biotechnology perspective of fungal proteases. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 337–346, 2015.

SOUZA, R. V.; SILVA, B. C.; NOVAES, A. L. T. **A aquicultura de Santa Catarina em números**. Florianópolis, SC: Epagri. Documentos, 2022. v. 354

SUDARYONO, A. et al. Investigation of alternative protein sources in practical diets for juvenile shrimp, *Penaeus monodon*. **Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)**, v. 134, n. 3–4, p. 313–323, 1995.

YU, B. et al. Effects of enzyme inclusion in a maize–soybean diet on broiler performance. **Animal feed science and technology**, v. 134, n. 3–4, p. 283–294, 2007.

AQUACULTURE INTERNATIONAL

*Suplementação de protease exógena na dieta de camarões marinhos *Penaeus vannamei**

Aleff Gabriel Santos Santana¹, Ana Elidarly da Cunha², Jefferson Olanson do Nascimento Gomes², Joice Teixeira Souza², Maria Érica da Silva Oliveira², Fernando Guilherme Perazzo Costa³, Thiago Pereira Ribeiro⁴, Matheus Ramalho de Lima^{1,2}

¹Universidade Estadual de Santa Cruz, UESC, Ilhéus, Bahia, Brasil.

²Universidade Federal do Semiárido, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil.

³Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba, Brasil.

⁴Tectron Nutrição Animal do Brasil, Toledo, Paraná, Brasil.

Resumo

A utilização de enzimas na dieta de animais permite o melhor aproveitamento dos alimentos, considerando a especificidade dos substratos presentes na dieta. Em camarões, o uso de enzimas diretamente nas rações ainda é limitado, contudo há possibilidade de obtenção dos benefícios gerados pelas enzimas exógenas. Foi desenvolvido um estudo com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de doses crescentes de protease exógena na dieta de *Penaeus vannamei* criados em densidade de 90 cam/m². O estudo foi desenvolvido no Setor de Aquicultura da Universidade Federal Rural do Semiárido, UFERSA, em Mossoró, RN, Brasil. Os tratamentos foram distribuídos em um delineamento inteiramente ao acaso, com 4 repetições de 90 camarões cada, totalizando 1440 camarões, 1,960g ± 0,018g. Os tratamentos consistiram na avaliação de quatro doses de protease (0, 125, 250 e 500g/t) diluídas em ração comercial com 35% de proteína, extrusada, e com péletes de 1.8 mm. Foram considerados dados de desempenho, de produção e de rendimento do camarão. Os dados foram coletados e analisados no software R. As doses de protease foram analisadas em regressão polinomial. Os resultados mostraram um incremento importante no desempenho com a suplementação de protease exógena na dieta em termos de peso vivo, ganho de peso e conversão alimentar, com resultados melhorados proporcionalmente com aumento da suplementação da enzima. Ao mesmo tempo, a produtividade por área foi incrementada com o uso do produto na dieta em relação à dieta controle.

Palavras-chave: Aquicultura; Carcinicultura; Nutrição; Enzima;

Introdução

A carcinicultura tem alcançado números elevados de produção, sendo destaque em vários países do mundo (TAHIM *et al.*, 2019). Presentemente, *Penaeus vannamei* é a espécie mais produzida mundialmente, responsável por 53% da produção total de crustáceos, número que se refere a aquicultura, e que resulta em 70% de toda a produção de camarões, com aproximadamente 5 milhões de toneladas/ano (FAO, 2020).

A proteína é o ingrediente de maior valor nutricional em uma formulação de ração, mas de tal forma nem todas as proteínas são devidamente quebradas, metabolizadas e digeridas pelos animais, e ocorre a liberação de componentes nitrogenados ao meio ambiente, por meio das excreções fisiológicas. A suplementação da protease na fabricação de uma ração além de melhorar significativamente a digestibilidade, tem potencialidade de garantir uma redução na emissão de N₂O e amônia no meio ambiente (JEGANNATHAN e NIELSEN, 2013).

O incremento de proteases na dieta animal tem ação na quebra de proteínas que estão em pouco disponíveis nos ingredientes originais da ração, responsável também por fazer melhorias nas características químicas das rações, como aroma, sabor, textura e palatabilidade (CASTRO, 2011 e SILVA *et al.*, 2020).

A classificação de protease pode ser feita em endopeptidases e exopeptidases, podendo depender do sítio de ação a ser executado. A ação está relacionada a hidrólise que ocorrem nas ligações peptídicas, que se encontram na cadeia polipeptídica, onde as proteases pertencem ao grupo proteinases, e atuando nas ligações peptídicas são então proteinases, e atuando nas ligações residuais de aminoácidos terminais são exopeptidases (GARCIA-CARREÑO; JANSSESNS, 2003).

Os avanços dos estudos bioquímicos sobre o funcionamento das enzimas exógenas são importantes para a determinação de ingredientes para a formulação de uma ração eficiente, tendo como princípio que o perfil enzimático está relacionado com os hábitos alimentares e com a fonte dietética que está sendo fornecida (FERNÁNDEZ *et al.*, 2001). As proteases também podem ser divididas de acordo com a otimização do seu pH, sendo proteases ácidas (pH 2.0 a 6.0), neutras (pH 6.0 a 8.0) e alcalinas (pH 8.0 a 13.0), sua atividade enzimática atinge o nível máximo em um nível de pH mais neutro em uma faixa entre 7,0 a 11.0 (Souza *et al.*, 2015).

A suplementação de enzimas exógenas pode ser feita para suprir quantidades

insuficientes produzidas pelo animal, como ocorre com as amilases e proteases, ou fornecer ao animal uma enzima que ele não sintetiza como as celulases (GRECCO et al., 2019). O uso de enzimas exógenas vem se destacando como um importante acréscimo na dieta de animais aquáticos, tendo ação direta na digestão e metabolização de nutrientes que estão disponíveis no substrato, maximizando o desempenho zootécnico, e atuando diretamente na capacidade de absorção fazendo com que esse insumo seja totalmente aproveitado, e gerando assim menos impacto ambiental.

Com base nesses pontos, foi desenvolvido um estudo com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de doses crescentes de protease exógena na dieta de *Penaeus vannamei* criados em densidade de 90 cam/m² considerando dados de desempenho, de produção e de rendimento do camarão.

6 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido e executado no Setor de Aquicultura da Universidade Federal Rural do Semiárido – UFRSA, em Mossoró, RN, com as seguintes coordenadas geográficas: 5° 12' de latitude Sul, 37° 19' de longitude Oeste do meridiano de Greenwich e altitude média de 18 m acima do nível do mar, de acordo com PRAXEDES (2013), no setor de Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRSA, em 04 de agosto de 2022, conforme parecer 33/2022, de 8 de agosto de 2022.

O delineamento experimental aplicado foi inteiramente ao acaso, com 4 tratamentos de 4 repetições com 90 camarões cada. Os tratamentos constituíram na suplementação *on_top* de doses crescentes de protease exógena (0, 125, 250 e 500 g/t) diluídas em ração comercial com 35% de proteína, extrusada, e com péletes de 1.8 mm. A unidade experimental foi caracterizada por tanques em rede de nylon multifilamento revestido com PVC em malha de 5mm com 1m³ de volume e suspensos em tanque de alvenaria, cada um com sistema de aeração e bandeja alimentadora (47,5cm diâmetro, 8,7cm de altura, na coloração preta) individuais. A protease exógena avaliada possui uma combinação de protease ácidas e alcalinas (Tecmax PRO®, Tectron Nutrição Animal, Toledo, PR, Brasil).

As pós-larvas (PL₁₀, JH Pós-Larvas, Aracati, CE, Brasil), foram inicialmente povoadas em berçário de geomembrana com volume de 20 m³, com sistema de aeração, abastecimento

de água em uma salinidade de 3g/L e drenagem individual. As pós-larvas foram alimentadas com biomassa de artêmia salina (BioArtêmia, Grossos, RN, Brasil) durante os primeiros 30 dias, com adição três bandejas alimentadoras com ração comercial nos últimos 15 dias para adaptação aos péletes e bandejas de alimentação.

Após os 45 dias de berçário, os juvenis foram capturados, selecionados, feita a contagem e pesados para povoamento experimental. Cada unidade experimental foi povoada com 90 camarões, cada um com média de $1,960g \pm 0,018g$, totalizando 360 cam/tratamento, e 2880 camarões no total. As unidades experimentais foram instaladas em tanques de alvenaria com volume de 15 m³, todos dotados com abastecimento, drenagem e aeração individual, com 1,2m de profundidade, sendo abastecidos com água proveniente de poço artesiano com salinidade de 3g/L.

A ração de cada unidade experimental foi acondicionada em recipiente próprio, com uso de um tubo Falcon para auxiliar a alimentação diária. As rações foram mantidas sob refrigeração em geladeira convencional, com temperatura de 8 graus Celsius. A cada quinzena era pesado as sobras e, por diferença com o fornecimento anterior, obtido o consumo de ração.



Figura 4 – Ração experimental
Fonte: Arquivo pessoal

A cada quinzena, 20% do número de camarões alojados no início do experimental

eram capturados e pesados para obtenção do peso vivo (g/cam), e consequente ganho de peso (g/cam). A conversão alimentar (g/g) foi obtida pela razão entre o consumo de ração pelo ganho de peso.- Considerando o peso vivo obtido, a oferta de ração era ajustada de acordo com a biomassa, mas garantindo o consumo *Ad libitum*.

A qualidade da água vem a ser representada na Tabela 1. As amostras da água dos viveiros foram coletadas quinzenalmente, juntamente com as análises de pesagem dos animais. Os dados obtidos mostram a caracterização das condições experimentais, com os parâmetros aceitáveis para a criação dos animais.

A temperatura da água foi monitorada diariamente, às 8h e 18h. O controle de pH, oxigênio dissolvido e amônia total na água foram realizados a cada 15 dias. A limpeza dos tanques aconteceu após 45 dias do início do experimento, sendo feita uma renovação de 30% do volume por semana, renovada pela mesma fonte de água inicial do poço artesiano.

Tabela 1. Parâmetros de qualidade de água nos tratamentos experimentais

	Item	Variável	Trat 1	Trat 2	Trat 3	Trat 4
15 dias	Oxigênio Dissolvido	mg/L O ₂	7	7	7	7
	pH	pH	7	7	7	7
	Amônia	mg/L N-NH ₃	0	0	0	0
	Nitrito	mg/L N-NO ₂	0,05	0,025	0,025	0
30 dias	Item	Variável	Trat 1	Trat 2	Trat 3	Trat 4
	Oxigênio Dissolvido	mg/L O ₂	7	7	7	7
	pH	pH	7	7	7	7
	Amônia	mg/L N-NH ₃	0,1	0	0	0
45 dias	Item	Variável	Trat 1	Trat 2	Trat 3	Trat 4
	Oxigênio Dissolvido	mg/L O ₂	7	7	7	7
	pH	pH	7	7	7	7
	Amônia	mg/L N-NH ₃	0,125	0,025	0,0125	0
60 dias	Item	Variável	Trat 1	Trat 2	Trat 3	Trat 4
	Oxigênio Dissolvido	mg/L O ₂	7	7	7	7
	pH	pH	6	6	6	7
	Amônia	mg/L N-NH ₃	0,2	0,1	0,05	0,0125
75 dias	Item	Variável	Trat 1	Trat 2	Trat 3	Trat 4
	Oxigênio Dissolvido	mg/L O ₂	7	7	7	7
	pH	pH	6	6	6	7
	Amônia	mg/L N-NH ₃	0,2	0,1	0,05	0,0125
90 dias	Item	Variável	Trat 1	Trat 2	Trat 3	Trat 4
	Oxigênio Dissolvido	mg/L O ₂	7,6	7,4	6,8	6,7

pH	pH	6,7	6,4	7,3	6,8
Amônia	mg/L N-NH ₃	0,6	0,5	0,15	0,035
Nitrito	mg/L N-NO ₂	0,25	0,05	0,035	0,05

Ao final do período experimental de cada experimento em 90 dias de cultivo, todos os animais foram capturados, pesados e contados, para a obtenção do peso vivo e ganho de peso, pesadas as sobras de ração e obtidos os dados de consumo e conversão alimentar. Baseado no povoamento inicial, e contagem final, calculou-se a taxa de sobrevivência por unidade experimental.

Dos camarões presentes na unidade experimental ao final do ciclo, foram selecionados aleatoriamente 30 camarões por tratamento para obtenção do comprimento, pesos individuais com cabeça, sem cabeça, e sem carapaça, para obtenção dos dados rendimentos de camarão sem cabeça (Sem_Cabeça, %), filé (Filé, %) e gramas por unidade de tamanho do camarão (Gtam, g/cm). Com base no peso final obtido, calculou-se o número de indivíduos por 400g, inteiros (NCI, cam/400g), sem cabeça (NCSC, cam/400g), e de filé (NCF, cam/400g), além de produção por metro quadrado de camarão inteiro (PCI, kg/m²), sem cabeça (PCSC, kg/m²), e de filé (PCF, kg/m²)

Os dados obtidos ao final dos experimentos foram coletados e analisados no software R versão 4.2.2. As doses de protease foram analisadas em regressão polinomial. O valor de P considerado foi de 0,05, e tendência em 0,10.

7 RESULTADOS

A análise de qualidade de água, é um dos aspectos de mais relevância na produção aquícola, tendo influência direta no desenvolvimento da criação, de acordo com Cavalheiro et al. (2016) para o cultivo de camarão os parâmetros devem estar adequados para o seu desenvolvimento. O pH e a temperatura são fatores físicos necessários na água, com relevância no crescimento e no metabolismo dos camarões.

Dessa forma, os parâmetros de qualidade de água do presente experimento se mantiveram focado em cinco fatores, sendo: Oxigênio Dissolvido, pH, Amônia, Nitrito e Temperatura. Essas interações são as mais expressivas dentro de uma produção de camarões, tendo uma influência por meios secundários, como a alimentação e o plâncton presentes nos tanques.

Os valores obtidos através das análises realizadas sobre os parâmetros físico-químicos da água se mantiveram dentro da normalidade, atestando a viabilidade e qualidade da água para o cultivo dos camarões *P. vannamei*, com valores estimados em: Alcalinidade 120mg/L CaCO₃, oxigênio dissolvido 6mg/L O₂, pH em 7, amônia 0,25mg/L N-NH₃, nitrito 0,1mg/L N-NO₂.

A suplementação das doses de protease exógena na dieta influenciou o desempenho dos camarões cultivados sob uma densidade de 90 cam/m² ao final do ciclo de 90 dias, conforme a Tabela 2. Houve um efeito linear crescente no peso vivo ao final dos 90 dias (P<0,001), de igual maneira sobre o consumo de ração (P<0,001), no ganho de peso (P<0,001), e sobre a sobrevivência (P<0,001), enquanto nas análises de conversão alimentar houve um efeito quadrático (P=0,005), com maior eficiência na dosagem de 237,5 g/t. Embora maior ganho de peso promovido com a dose de 500g/t de protease exógena, os camarões tiveram um maior consumo, superior em 2,099g/cam em relação à dose de 250g/t, alterando a conversão alimentar de 1,388g/g para 1.199g/g, respectivamente para as doses 500g/t e 250g/t. A conversão alimentar apresentada pelos camarões do tratamento com dose de 125g/t foi similar a dose e 250g/t de suplementação, em virtude de similar consumo, entretanto, a dose de 250g/t mostra superioridade em termos de peso vivo final e ganho de peso sob a menor dose suplementada.

Tabela 2. Peso vivo inicial (PVI, g/cam), peso vivo final (PVF, g/cam), consumo de ração (CR, g/cam), ganho de peso (GP, g/cam), conversão alimentar (CA, g/g) e sobrevivência (SR, %) de camarões *Penaeus vannamei* alimentados com doses de protease após 90 dias de cultivo, sob densidade de 90 cam/m²

	PVI	PVF ¹	CR	GP	CA	SR
Protease exógena, g/t						
0	1,961	9,080	10,190ab	7,119b	1,433	45,833b
125	1,960	9,842	9,361b	7,882b	1,200	46,667b
250	1,961	11,152	11,008b	9,191a	1,199	80,556a
500	1,961	11,417	13,107a	9,456a	1,388	81,944a
SEM	0,010	0,233	0,276	0,234	0,060	5,617
Valor de P	1,000	<0,001	<0,001	<0,001	0,029	<0,001
Linear	0,995	<0,001	<0,001	<0,001	0,930	<0,001
Quadrático	0,985	0,058	0,060	0,058	0,005	0,175
C.V. (%)	1,040	4,490	5,060	5,560	9,160	17,620

¹PVF= 0,0029x + 9,1745; R² = 0,8207; CR= 0,0068x + 9,4387; R² = 0,8049; GP= 0,0029x + 7,2144; R² = 0,8199; CA= 0.000004 - 0,0019x + 1,4195; R² = 0,9501 | Optimal 237.5g/t; SR= 0,0817x + 45,889; R² = 0,7433.

8 DISCUSSÃO

As proteases são enzimas responsáveis pela quebra de ligações peptídicas presentes em proteínas, o que permite a liberação de aminoácidos que podem ser utilizados pelo organismo dos camarões *P. vannamei* para a síntese de novas proteínas. A degradação das proteínas da ração pelos camarões é um processo fundamental para a obtenção de nutrientes essenciais para o seu crescimento e desenvolvimento. Presentemente estudos destacam a importância da atividade enzimática de proteases alcalinas na digestão de proteínas em camarões *P. vannamei* (HUANG et al., 2012), enquanto outros ressaltam a importância das proteases ácidas presentes no estômago (MA et al., 2017).

Segundo Cruz-Suarez et al. (2008), a síntese de proteína muscular em camarões *P. vannamei* depende do fornecimento de aminoácidos essenciais, como a lisina, a metionina e a treonina. Já Gao et al. (2018), comentam que a suplementação de aminoácidos, especialmente lisina e metionina, em dietas para camarões *P. vannamei* pode melhorar a síntese proteica e aumentar o ganho de peso e melhorar a taxa de conversão alimentar e eficiência dos nutrientes. Chhorn Lim et al. (2019), comentam que a qualidade da proteína da dieta é um fator crucial para o crescimento dos camarões, uma vez que aminoácidos essenciais, como lisina, metionina, treonina e arginina, devem estar disponíveis para permitir uma síntese proteica eficiente.

Adicionalmente, Liu et al. (2020) investigaram o efeito da suplementação de protease exógena em dietas de camarões *P. vannamei* e mostrou que a adição de protease exógena melhorou a digestibilidade da proteína, incrementando, portanto, a disponibilidade de aminoácidos, o que permitiu, aumentar significativamente o ganho de peso dos camarões. Assim, os aminoácidos são essenciais para a síntese proteica nos camarões e a suplementação de proteases exógenas na dieta permite melhorar a digestibilidade das proteínas e aumentar o aproveitamento de aminoácidos, incrementando eficiência em desempenho geral, especialmente ganho de peso e conversão alimentar, tal qual observado no estudo aqui apresentado.

Há estudos na literatura com suplementação de protease exógena na dieta de camarões, tais como os trabalhos de Li et al. (2016) e Yao et al. (2019), que fizeram avaliações nas dietas com 175g/t de protease, mas não em doses crescentes, diferentemente da presente pesquisa.

Por outro lado, Song et al. (2016), realizaram um estudo em três doses de protease exógena na dieta de *P. vannamei*, chegando ao resultado de que a dose de 175g/t proporcionou melhores resultados, com um incremento no ganho de peso estimado em 0,03g ao dia, o corresponde a um ganho extra de 2,7g/cam, caso se considere um período de cultivo de 90 dias. Os dados apresentados neste estudo evidenciaram ganhos similares e mostram real eficácia do uso da protease exógena na dieta de camarões.

A suplementação de protease exógena promoveu um incremento de 0,763g, de 2,072 e de 2,337g no ganho de peso dos camarões, respectivamente nas doses de 125g/t, 250g/t e de 500g/t, em relação à dieta sem suplementação. Por outro lado, levando em consideração a conversão alimentar a dose de 500g/t, obteve-se uma eficiência inferior em relação à dieta controle, sendo superada pela eficiência da dose de 250g/t na redução de 23 pontos na conversão alimentar em comparação com a ração controle. Aliando esses pontos de desempenho e rendimentos e produção por unidade de área, ainda assim, a sobrevivência é fator preponderante, pois incrementar peso e ganho sem sobrevivência elevada tornam os dados irrelevantes, e nesse caso, linearmente incrementadas com a suplementação de protease exógena na dieta.

Uma nutrição adequada com a suplementação de protease exógena mostra eficácia da digestão proteica da dieta, com melhoria na capacidade inclusive de incrementar o ganho de peso dos camarões *P. vannamei*. Esses pontos mostram que a enzima atuou de modo satisfatório na digestibilidade da proteína de forma adequada pois permitiu fornecer aminoácidos essenciais em quantidade e proporção adequadas para a síntese proteica eficiente. Nesse contexto, a melhor degradação da proteína da dieta em camarões *P. vannamei* parece ocorrer de modo satisfatório quando ambas as proteases ácidas e alcalinas estão presentes e atuando em conjunto, haja vista que, com o uso da protease exógena no presente estudo, com essas características, permitiu significativos resultados em desempenho, consequência de uma maior degradação das proteínas, facilitando a absorção e a utilização pelo organismo do camarão.

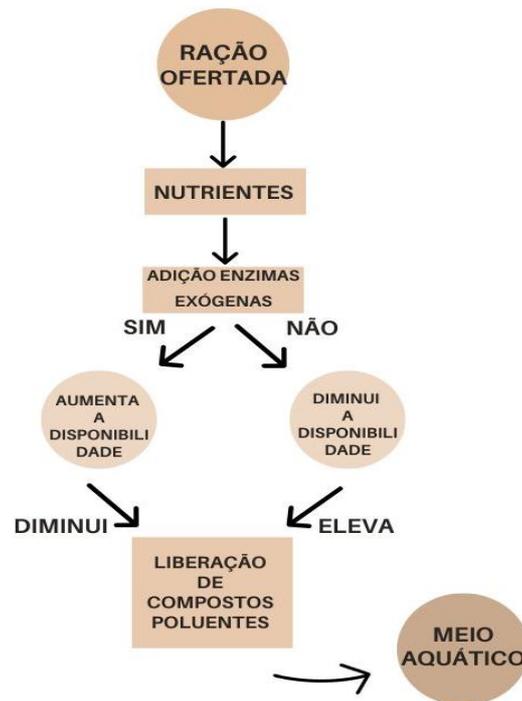


Figura 5- Esquema de influência com adição de enzima exógena
 Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

9 CONCLUSÃO

Os ganhos são evidentes com o uso de maiores doses de protease exógena na dieta dos camarões *Penaeus vannamei*. Recomenda-se a dose de 250g/t para maior otimização dos ganhos promovidos pela utilização de protease exógena na dieta de *Penaeus vannamei* criados em densidade de 90 cam/m².

Funding

Author AGS Santana has received research support from FAPESB (Grant number [BOL0062/2022]); Author AE Cunha and Author JON Gomes has received research support from PROPPG/UFERSA (Grant number [PID20017-2022]); Authors JT Souza and MES Oliveira has received research support from CAPES (Grant number [001]); Authors FGP Costa and M.R. Lima has received research support from Conselho Nacional Científico e Tecnológico – CNPq.

10 REFERÊNCIAS

- ALVES-CAMPOS, C. Enzimas fúngicas em dietas com alimentos alternativos para frangos de crescimento lento. **DESAFIOS-Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, p. 35–53, 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO. **Boas Práticas de manejo e biossegurança para a carcinicultura marinha nacional**. [S.I.]; ABCC, 2012.
- BEUS, F. C. **Vivência numa Fábrica de Rações para Alimentação Animal**. Porto Alegre: [s.n.]. v. 46
- CASTRO, S.F. **Digestibilidade ileal e total de nutrientes utilizando correções nutricionais e uma protease para aves**. 2011. 79p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, 2011.
- CAVALHEIRO, T. B.; CONCEIÇÃO, M. M.; RIBEIRO, T. T. B. C. Crescimento do camarão *Litopenaeus vannamei* em viveiros e tanques utilizando efluente do processo de dessalinização. **Gaia Scientia**, n. 10, p. 319–337, 2016.
- CHEN, J. et al. Substitute of soy protein concentrate for fish meal in diets of white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). **Aquaculture international: journal of the European Aquaculture Society**, v. 25, n. 3, p. 1303–1315, 2017.
- COELHO, R. **Desenvolvendo a aquicultura de espécies de peixes e camarões marinhos no Brasil**: alguns aspectos práticos e mais urgentes da alimentação e nutrição durante a engorda do camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) e da garoupa-verdadeira (*Epinephelus marginatus*) / Rafael Tsuyoshi Inoe Coelho. v. 154, 2021.
- COMMITTEE ON THE NUTRIENT REQUIREMENTS OF FISH AND SHRIMP et al. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington, D.C., DC: National Academies Press, 2011.
- COSTA, E. F.; SAMPAIO, Y. Geração de empregos diretos e indiretos na cadeia produtiva do camarão marinho cultivado. **Revista Economia Aplicada**, n. 2, p. 1–19, 2004.
- COSTA, L. Leveduras na nutrição animal. **Rev. Eletrôn. Nutritime**, p. 1–06, 2004.
- CRUZ-SUAREZ, L. E.; TAPIA-SALAZAR, M.; GUAJARDO-BARBOSA, C. Amino acid requirements of *Litopenaeus vannamei* juveniles under laboratory conditions. **Aquaculture**, 2008. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.11.024
- FAO fisheries & aquaculture**. Disponível em: <https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/litopenaeus_vannamei/en>. Acesso em: 1 feb.2023.
- FAO, **FAO Statistical Yearbook: Fishery and Aquaculture Statistics**. The organization of Food and Agriculture of the United Nations, Rome, 2020.

FERNÁNDEZ, I. et al. Characterization of α -amylase activity in five species of Mediterranean sparid fishes (Sparidae, Teleostei). **Journal of experimental marine biology and ecology**, v. 262, n. 1, p. 1–12, 2001.

FIGUEIREDO, M. S. R. B.; ANDERSON, A. J. Digestive enzyme spectra in crustacean decapods (Paleomonidae, Portunidae and Penaeidae) feeding in the natural habitat. **Aquaculture research**, v. 40, n. 3, p. 282–291, 2009.

FUNGE-SMITH, S.; BRIGGS, M. **International Mechanisms for the Control and Responsible Use of Alien Species in Aquatic Ecosystems, Report of an Ad Hoc Expert Consultation**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2005.

GAO, K. et al. **Effects of dietary amino acid levels on growth, feed utilization, body composition and metabolism enzyme activities of juvenile Pacific white shrimp**. [s.l.: s.n.]. . doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.02.024

GARCIA-CARREÑO, F. L. et al. Digestive proteinases of Brycon orbignyanus (Characidae, Teleostei): characteristics and effects of protein quality. **Comparative Biochemistry and Physiology Part**, v. 132, p. 343–352, 2002.

GRECCO, É. T. et al. Xylanase for meat-type quails from 15 to 35 days old. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 48, n. 0, 2019.

GUILLAUME, J.; CECCALDI, H. J. Physiologic digestive des crevettes. In: GUILLAUME, J. (Ed.). **Nutrition et alimentation des poissons et crustacés**. Paris: INRA. Cap. 15. P. [s.l.: s.n.]. p. 297–312.

GUZMAN, C. et al. The effect of dietari protota and total energy content on digestive enryme activities, groves and survival of Litopendens senileres(linnacua1767) postlarvae. **Aquaculture Nutrition**, v. 7, p. 113–122, 2001.

HUANG, J. et al. Digestive enzymes activity in the white shrimp Litopenaeus vannamei at different salinities. **Aquaculture**, v. 358, p. 113–118, 2012. doi: 10.1016/j.aquaculture.2012.06.001

JEGANNATHAN, K. R.; NIELSEN, P. H. Environmental assessment of enzyme use in industrial production – a literature review. **Journal of cleaner production**, v. 42, p. 228–240, 2013.

JEGANNATHAN, K. R.; NIELSEN, P. H. Environmental assessment of enzyme use in industrial production – a literature review. **Journal of cleaner production**, v. 42, p. 228–240, 2013.

LENORMAND, T. et al. Resurrection ecology in Artemia. **Evolutionary applications**, v. 11, n. 1, p. 76–87, 2018.

LI, X. Q. et al. Effects of temperature and feed processing on protease activity and dietary protease on growths of white shrimp, Litopenaeus vannamei, and tilapia, Oreochromis niloticus x O. aureus. **Aquaculture Nutrition**, 2016b. doi: 10.1111/anu.12370

LIM, C.; WEBSTER, C.; WATSON, C. D. Nutrition and feeding of farmed shrimp and prawns: A review. **Reviews in Aquaculture**, 2019. doi: 10.1111/raq.12298

MA, H. et al. **Purification and characterization of two digestive proteases from stomach of Pacific white shrimp**. [s.l.: s.n.]. *Aquaculture Research* 48(6):2957-2969. doi: 10.1111/are.13182

MOULLAC, L. et al. Adaptation of trypsin, chymotrypsin and alpha-amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea Decapoda). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 208, p. 107–125, 1997.

MUHLIA-ALMAZÁN, A.; SÁNCHEZ-PAZ, A.; GARCÍA-CARREÑO, F. L. Invertebrate trypsins: a review. **Journal of comparative physiology. B, Biochemical, systemic, and environmental physiology**, v. 178, n. 6, p. 655–672, 2008.

Resolução nº 357, de 17 de março de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>> acesso em 01 de abril de 2023.

RIOS, C. **Perfil de enzimas digestivas em juvenis do camarão-branco-do-pacífico *Litopenaeus vannamei* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de substituição de farinha de peixe por farinha das larvas do inseto *Tenebrio molitor***. 2017.

SILVA, M. Z. R. et al. Biotechnological potential of a cysteine protease (CpCP3) from *Calotropis procera* latex for cheesemaking. **Food chemistry**, v. 307, n. 125574, p. 125574, 2020.

SONG, H. L.; B. P. et al. The effects of a dietary protease-complex on performance, digestive and immune enzyme activity, and disease resistance of *Litopenaeus vannamei* fed high plant protein diets. **Aquaculture Research**, p. 1–11, 2016.

SONG, H.-L. et al. The effects of a dietary protease-complex on performance, digestive and immune enzyme activity, and disease resistance of *Litopenaeus vannamei* fed high plant protein diets. **Aquaculture research**, v. 48, n. 5, p. 2550–2560, 2017. doi: 10.1111.

SOUZA, P. M. D. A biotechnology perspective of fungal proteases. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 337–346, 2015.

SOUZA, R. V.; SILVA, B. C.; NOVAES, A. L. T. **A aquicultura de Santa Catarina em números**. Florianópolis, SC: Epagri. Documentos, 2022. v. 354

TAHIM, E. F.; DAMACENO, M. N.; ARAÚJO, I. F. DE. Trajetória Tecnológica e Sustentabilidade Ambiental na Cadeia de Produção da Carcinicultura no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 57, n. 1, p. 93–108, 2019. <https://doi.org/10.1590/1234-56781806-94790570106>

XU, W. Effects of dietary supplementation of protease on growth, digestive enzymes and gut morphology of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed soybean meal-based diets. **Aquaculture Nutrition**, 2018. doi: 10.1111/anu.12678

YAO, W. Dietary protease, carbohydrase and micro-encapsulated organic acid salts individually or in combination improved growth, feed utilization and intestinal histology of Pacific white shrimp. **Aquaculture**, n. 503, p. 88–95, 2019.