

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE (FURG)
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Modulação do resveratrol e do ácido fumárico no metabolismo energético em *Penaues
vannamei*

Jean Piraine Souza

Rio Grande, março de 2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE (FURG)
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Modulação do resveratrol e do ácido fumárico no metabolismo energético em *Penaues
vannamei*.

Jean Piraine Souza

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Aquicultura no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande-FURG.

Orientador: Dr. Jose Maria Monserrat
Co-orientador: Dr. Marcelo Borges Tesser

Rio Grande, março de 2025

Ata:



ATA 03/2025

ATA DE DEFESA DA 247ª DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AQUICULTURA

No dia vinte de fevereiro de dois mil e vinte e cinco, às quatorze horas e trinta minutos, reuniu-se a Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado em Aquicultura, de **JEAN PIRAINÉ SOUZA**, orientado pelo Prof. Dr. José Maria Monserrat, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. José Maria Monserrat (Orientador – IO/FURG), Prof. Dr. Geraldo Kipper Fôes (IO/FURG), Prof. Dr. Luis Henrique Poersch (IO/FURG) e Prof. Dr. Victor Fernando Büttow Roll (UFPEL). Título da Dissertação: "MODULAÇÃO DO RESVERATROL E DO ÁCIDO FUMÁRICO NO METABOLISMO ENERGÉTICO EM *Penaeus vannamei*". Dando início à defesa, o Coordenador do PPGAq Prof. Dr. Ricardo Vieira Rodrigues, passou a presidência da sessão ao Prof. Dr. José Maria Monserrat, que na qualidade de orientador, passou a palavra para o candidato apresentar a Dissertação. Após ampla discussão entre os membros da Banca e o candidato, a Banca se reuniu sob a presidência do Coordenador. Durante esse encontro ficou estabelecido que as sugestões dos membros da Banca Examinadora devem ser incorporadas na versão final da Dissertação, ficando a cargo do Orientador o cumprimento desta decisão. O candidato **JEAN PIRAINÉ SOUZA** foi considerado **APROVADO**, devendo a versão definitiva da Dissertação ser entregue a Secretaria do PPGAq, no prazo estabelecido nas Normas Complementares do Programa. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, será assinada pela Banca Examinadora, pelo candidato e pelo Coordenador do PPGAq.

PROF. DR. JOSÉ MARIA MONSERRAT (ORIENTADOR – IO/FU)



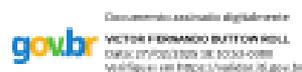
PROF. DR. GERALDO KIPPER FÔES (IO/FURG)



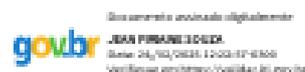
PROF DR. LUIS HENRIQUE POERSCH (IO/FURG)



PROF. DR. VICTOR FERNANDO BÜTTOW ROLL (UFPEL)



JEAN PIRAINÉ SOUZA



PROF. DR. RICARDO VIEIRA RODRIGUES (Coordenador do PPGAq)



Sumário:

Resumo Geral	8
Abstract.....	9
1. Introdução Geral	10
2. Objetivos e justificativas	21
Capítulo 1	33
Resumo	34
Abstract.....	35
1. Introdução.....	36
2. Materiais e Métodos	39
2.1. Infraestrutura	39
2.2. Preparação da ração	39
2.3. Procedimento Experimental	40
2.3.1. Experimento 1	40
2.3.2. Experimento 2	41
2.4. Análises	42
2.4.1. Processamento das amostras.....	44
2.4.2. Análise da concentração de proteínas totais	44
2.4.3. Análise da concentração de glicose	45
3. Resultados.....	47
3.1. Parâmetros de qualidade de água.....	47
3.2. Parâmetros zootécnicos e bromatológicos.....	48
3.3. Concentração de proteínas totais	50
3.4. Concentração de triglicerídeos	52
5. Conclusões.....	64
6. Perspectivas	64
7. Referências	65

Agradecimentos:

Ao final de mais um capítulo da minha vida pessoal, profissional e acadêmica, fica a gratidão a todos que contribuíram para que eu chegasse até aqui. Em especial a Lethicia, minha parceira, companheira e amorção, ao longo dos dois anos de mestrado, onde dividimos muitas coisas boas e nos descobrimos juntos. Parafraseando Alexander Supertramp: *“The happiness is only real when shared”*.

Aos meus familiares Carlize, Rafael, Esther, Tatiane e Luis gostaria de registrar os meus mais profundos agradecimentos, pelo apoio incondicional e amizade, acima de tudo. Aos amigos (as) Luciana e Jorginho, vocês foram muito importantes ao longo desse trajeto. Ninguém chega a algum lugar sozinho e eu tenho muita sorte de ter vocês.

Aos meus colegas e amigos de BIFOA Rafa, Alan, Andressa, Robson, Thiago e Lucas: vocês foram fundamentais na minha vida acadêmica. Agradeço muito cada dia que pude conviver com cada um de vocês, aprender, ouvir, dar risadas, tomar muitos cafés, comer pizza, salgados do Beira Mar, discutir de filmes, séries, futebol. Foram dias muito felizes. Falando em futebol, ao Tricampeão do mundo, nosso Maestro, Professor Monserrat, um exemplo de pessoa, de profissional que se dedica tanto aos seus alunos a seu trabalho e aqui fica registrada a minha gratidão eterna por todo apoio e amizade.

Aos professores Marcelo Tesser, Mano e Luis Sampaio ficam meus agradecimentos por contribuírem para que esse trabalho se tornasse realidade, por cederem seus laboratórios e suprimentos para que eu materializasse a minha dissertação.

Por fim, gostaria de agradecer a FURG, minha universidade, minha casa, de onde brotei para o mundo acadêmico e mesmo hoje me despedindo como aluno, nunca vou deixar de carregar sua bandeira. A CAPES por prover a minha bolsa de mestrado ao longo dos dois anos, fica meu agradecimento final.

Lista de tabelas:

Tabela 1. Parâmetros de qualidade da água experimento 1.....	47
Tabela 2. Parâmetros de qualidade da água experimento 2.....	48
Tabela 3. Taxa de crescimento específico (SGR) do experimento 1 (n=15). Taxa de retenção proteica (PRR) do experimento 1 (n=3). Taxa de eficiência proteica (PER) do experimento 1 (n=3). Sobrevivência do experimento 1 (n=15).	49
Tabela 4. Ganho de peso do experimento 2 (n=15). Taxa de conversão alimentar (FCR) do experimento 2 (n=15). Taxa de crescimento específico (SGR) do experimento 2 (n=15). Taxa de retenção proteica (PRR) do experimento 2 (n=3). Taxa de eficiência proteica (PER) do experimento 2 (n=3). Sobrevivência do experimento 2 (n=5).....	50

Lista de fórmulas:

Fórmula 1. Sobrevivência:.....	42
Fórmula 2. Taxa de conversão alimentar:	42
Fórmula 3. Taxa de crescimento específica:	43
Fórmula 4. Ganho de peso total:	43
Fórmula 5. Taxa de retenção proteica:	43
Fórmula 6. Taxa de eficiência proteica:	43
Fórmula 7. Matéria seca:	44

Lista de figuras:

Figura 1. Estrutura molecular do resveratrol	12
Figura 2. Rota metabólica da quinase hepática B1 (LKB1)/quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK)/Sirtuina 1(SIRT-1)/ co-ativador 1-alfa do receptor ativador de proliferação de peroxissomo gamma (PGC-1 α)ativada pelo resveratrol e com a modulação do metabolismo mitocondrial através do fator nuclear respiratório 1 (NRF-1), fator eritroide 2 (NRF-2), fator de transcrição mitocondrial A (TFAM).....	14
Figura 3. Proteína quinase hepática B1 (LKB1), proteína quinase cálcio/calmodulina quinase- β (CaMKK β), resíduo de treonina 172 (T172P) e os sítios de interação com as subunidades (α , β e γ) da enzima quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK)	15

Figura 4. Metabolismo da glicose	20
Figura 1. Representação esquemática dos experimentos 1 e 2.....	42
Figura 2. Ganho de peso final (A) e FCR (B) experimento 1	48
Figura 3. (A) Proteínas totais do músculo (experimento 1), (B) Proteínas totais do hepatopâncreas (experimento 1), (C) Proteínas totais do músculo (experimento 2) (D) Proteínas totais do hepatopâncreas (experimento 2) (E) Proteínas totais da hemolinfa (experimento 2).....	51
Figura 4. (A) Concentração de triglicerídeos do músculo (experimento 1), (B) Concentração de triglicerídeos do hepatopâncreas (experimento 1), (C) Concentração de triglicerídeos do músculo (experimento 2), (D) Concentração de triglicerídeos do hepatopâncreas (experimento 2) e (E) Concentração de triglicerídeos da hemolinfa (experimento 2).....	53
Figura 5. (A) Concentração de colesterol do músculo (experimento 1), (B) Concentração de colesterol do hepatopâncreas (experimento 1), (C) Concentração de colesterol do músculo (experimento 2), (D) Concentração de colesterol do hepatopâncreas (experimento 2), (E) Concentração de colesterol da hemolinfa (experimento 2)	55
Figura 6. (A) Concentração de glicose do músculo (experimento 1), (B) Concentração de glicose do hepatopâncreas (experimento 1), (C) Concentração de glicose do músculo (experimento 2), (D) Concentração de glicose do hepatopâncreas (experimento 2), (E) Concentração de glicose da hemolinfa (experimento 2)	57
Figura 7. (A) Concentração de glicogênio do músculo (experimento 1), (B) Concentração de glicogênio do hepatopâncreas (experimento 1), com dados expressos como média \pm erro padrão (n=3). (C) Concentração de glicogênio do músculo (experimento 2), (D) Concentração de glicogênio do hepatopâncreas (experimento 2)	59

Resumo Geral

Diversos estudos demonstram a eficiência do resveratrol e ácido fumárico como moduladores do metabolismo bioenergético em peixes, porém poucos estudos abordam essa aplicação em crustáceos como o camarão *Penaeus vannamei*, um dos mais cultivados no mundo. Frente a isso, este trabalho buscou explorar o efeito da suplementação com resveratrol e ácido fumárico no metabolismo bioenergético e economia no uso de proteína. Para isso, foram desenvolvidos dois experimentos sequenciais: curva de dose resposta (experimento 1) com cinco diferentes doses de resveratrol (0, 10, 60, 110 e 160 mg.kg⁻¹) e experimento 2, constituído de quatro grupos: controle (C) e ácido fumárico (F) com animais reestocados do grupo controle (experimento 1), além de resveratrol (R) e resveratrol + ácido fumárico (RF) com animais reestocados do grupo que apresentou melhor dose resposta. Tanto para o experimento 1, quanto para o experimento 2, foram quantificados o ganho de peso final (g), taxa de crescimento específico (SGR), taxa de conversão alimentar (FCR), taxa de retenção proteica (PRR) e taxa de eficiência proteica (PER) na carcaça, além de análises de concentração de proteína, triglicerídeos totais, colesterol total, glicose e glicogênio no músculo, hepatopâncreas e hemolinfa (mg.g⁻¹). Como resultados pode-se observar a melhor dose-resposta de resveratrol no tratamento 60 mg.kg⁻¹, com maior ganho de peso final, menor taxa de conversão alimentar e maior taxa de crescimento específico ($p < 0,05$). Além disso, também no tratamento 60 mg.kg⁻¹, se observou maior PRR, PER, concentração de proteína e glicose no músculo ($p < 0,05$). No experimento 2, essa resposta do resveratrol se mostra amplificada pela combinação com o ácido fumárico (tratamento RF), onde se observam os melhores resultados de ganho de peso final, FCR, SGR, PER, PRR e concentração de proteína no músculo ($p < 0,05$). Os dados de concentração de glicose no músculo, hepatopâncreas e hemolinfa, além das contrações de glicogênio no músculo e hepatopâncreas no tratamento no grupo 60 mg/kg⁻¹ e RF ($p < 0,05$) sugerem o efeito determinante do resveratrol de forma isolada e combinada com o ácido fumárico na promoção do maior aproveitamento dos carboidratos da dieta em comparação aos triglicerídeos e colesterol que são majoritariamente estocados no hepatopâncreas. Logo, o tratamento RF foi, de forma positiva, um efetivo modulador do metabolismo bioenergético do camarão *P. vannamei*.

Palavras chave: Aquicultura, nutrição, bioenergética, fitoquímicos, ácido orgânico

Abstract

Numerous studies demonstrate the efficacy of resveratrol and fumaric acid as modulators of bioenergetic metabolism in fish; however, few studies address this application in crustaceans such as the shrimp *Penaeus vannamei*, one of the most cultivated species worldwide. Given this, this study aimed to explore the effects of supplementation with resveratrol and fumaric acid on bioenergetic metabolism and protein utilization efficiency. To achieve this, two sequential experiments were conducted: a dose-response curve (Experiment 1) with five different doses of resveratrol (0, 10, 60, 110, and 160 mg.kg⁻¹) and Experiment 2, consisting of four groups: control (C) and fumaric acid (F) with animals restocked from the control group (Experiment 1), as well as resveratrol (R) and resveratrol + fumaric acid (RF) with animals restocked from the group that showed the best dose response. For both Experiment 1 and Experiment 2, the following parameters were quantified: final weight gain (g), specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), protein retention rate (PRR), and protein efficiency ratio (PER) in the carcass, in addition to analyses of protein concentration, total triglycerides, total cholesterol, glucose, and glycogen in the muscle, hepatopancreas, and hemolymph (mg.g⁻¹). The results showed that the best dose-response for resveratrol was observed at 60 mg.kg⁻¹, with higher final weight gain, lower feed conversion ratio, and higher specific growth rate ($p < 0.05$). Additionally, at the 60 mg.kg⁻¹ dose, higher PRR, PER, and concentrations of protein and glucose in the muscle were observed ($p < 0.05$). In Experiment 2, the response to resveratrol was amplified by its combination with fumaric acid (RF treatment), where the best results for final weight gain, FCR, SGR, PER, PRR, and protein concentration in the muscle were observed ($p < 0.05$). The data on glucose concentration in the muscle, hepatopancreas, and hemolymph, as well as glycogen concentrations in the muscle and hepatopancreas in the 60 mg.kg⁻¹ and RF treatments ($p < 0.05$), suggest the decisive effect of resveratrol, both alone and combined with fumaric acid, in promoting greater utilization of dietary carbohydrates compared to triglycerides and cholesterol, which are predominantly stored in the hepatopancreas. Therefore, the RF treatment proved to be a positive and effective modulator of the bioenergetic metabolism of *P. vannamei* shrimp.

Keywords: Aquaculture, nutrition, bioenergetics, phytochemical, organic acid

1. Introdução Geral

O metabolismo bioenergético pode ser definido como um somatório de fatores intrínsecos a biologia adaptativa de todos os organismos vivos os quais dependem da captação de suprimentos do ambiente para atender as constantes demandas energéticas associadas ao crescimento, reprodução e manutenção homeostática. Isso é determinante no sucesso reprodutivo, desenvolvimento e sobrevivência desses organismos frente a uma dinâmica ambiental altamente complexa e mutável (Lucas e Watson, 1996; Bureau *et al.*, 2003; Sokolova, 2021).

A organização geral do metabolismo se distribui na forma de uma rede ampla de camadas e vias, em sua maioria interconectadas por mecanismos e componentes reguladores como enzimas, transportadores, fatores de crescimento, citosinas, hormônios, fatores de transcrição, modificações covalentes de enzimas, dentre outros, os quais atuam como sensores e efetores de respostas metabólicas para garantir o perfeito funcionamento desse sistema integrado (Romani *et al.*, 2021).

Dentro desse contexto, a modulação metabólica é uma ferramenta que se busca explorar no sentido de aproveitar as propriedades bioquímicas de moléculas/fármacos de interesse as quais podem influenciar direta ou indiretamente alvos metabólicos pontuais, como vias de sinalização celular, ativação/inibição de enzimas ou ativação/inibição de fatores de transcrição, por exemplo, e com isso condicionar um organismo a uma reposta fisiológica ou zootécnica desejada (Freitag e Luckstadt, 2007; Chakraborty *et al.*, 2014).

A ideia de composto ou molécula nutracêutica indica uma atuação como antioxidantes, anti-inflamatórios, e também moduladores de vias metabólicas purinérgica, as quais estão diretamente relacionadas ao equilíbrio bioenergético celular (Marín-Aguilar *et al.*, 2017). No entanto, os efeitos dessas moléculas sob sistemas biológicos são altamente dinâmicos e estão associados a variáveis como o padrão de dose-resposta, o mecanismo metabólico alvo, podendo inclusive serem observadas diferentes respostas em diferentes órgãos, tecidos ou células, em um princípio denominado hormético (Calabrese, 2013; Calabrese *et al.*, 2015). A hormese é determinada principalmente através de modelos bifásicos de dose-resposta sob padrões de estimulação em doses baixas e inibição em doses altas (curva em forma de “U”), ou inibição em doses baixas e estimulação em dose altas (curva em forma de “J”) (Calabrese, 2013; Agathokleous *et al.*, 2020; Greenwood *et al.*, 2022).

Inúmeras moléculas vêm sendo exploradas como moduladores do metabolismo bioenergético na aquicultura, onde o ácido α -lipóico, succinato, acetado de sódio, L-

carnitina, metformina, ácido fumárico e resveratrol são alguns dos exemplos (Lobato *et al.*, 2018; Shi *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019; Rombenso *et al.*, 2020; Yu *et al.*, 2021; Buitrago Ramírez *et al.*, 2023; Ge *et al.*, 2023; Adjoumani *et al.*, 2024). Grande parte desses compostos, amplamente encontrados em substratos vegetais, são de ocorrência frequente em fontes residuais da agroindústria, cuja a geração de resíduos ricos em moléculas potencialmente aplicáveis na nutrição animal, é intensa e normalmente sub explorada ou até inexplorada (Leyva-Lopez *et al.*, 2020).

Diante disso, aprimorar as potencialidades desses compostos nutracêuticos na forma de um alimento funcional, ou seja, agregar a uma dieta mais do que os nutrientes básicos que esses organismos necessitam para sua sobrevivência e desenvolvimento, na busca por maior bem estar animal, redução de efeitos negativos associados ao estresse do ambiente de cultivo e manejo, e com isso atenuar restrições e ampliar, através dessa dieta, os resultados finais de produtividade (Benkendorff, 2009; Costa, 2017)

O ácido fumárico (C₄H₄O₄) é um ácido orgânico que possui pK de 3,03/4,44 (ácido fraco), baixa solubilidade em água, energia bruta de 11,5 kJ/g, não apresenta odor ou toxicidade e amplamente encontrado em plantas e fungos (Xie *et al.*, 2003). Esse composto ao ser absorvido no epitélio intestinal em animais, é convertido em fumarato, um intermediário do ciclo de Krebs que impulsiona o ciclo redutivo de coenzimas para síntese de ATP pela fosforilação oxidativa mitocondrial (Freitag e Luckstadt, 2007; Bonara *et al.*, 2012).

A partir de suas propriedades ácidas, a inclusão de ácido fumárico nas dietas do camarão branco (*Penaeus vannamei*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*) aumenta a digestibilidade de proteínas e lipídios, por influenciar diretamente a atividade enzimática do trato gastro intestinal, além de impulsionar o metabolismo bioenergético como intermediário do ciclo de Krebs. Isso se se reflete em melhores resultados de crescimento e taxa de conversão alimentar (FCR) (Silva *et al.*, 2015; Das Neves *et al.*, 2021).

O resveratrol (3,4',5-trihidroxi-stilbeno – C₁₄H₁₂O₃) é um polifenol e fitoalexina com baixa solubilidade em água (<0,05 mg/ml), encontrado principalmente na casca e semente de uvas vermelhas e seus derivados, possui propriedades antiinflamatórias, antioxidantes e capacidade de influenciar diversas vias de modulação do metabolismo bioenergético em diversas espécies animais tanto aquáticas quanto terrestres (Zhang *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2021; Kari *et al.*, 2024).

A ocorrência desse composto é majoritária nas famílias *Dipterocarpaceae*, *Vitaceae*, *Cyperaceae*, *Fabaceae*, *Gnetaceae*, e *Paeoniaceae* e está associada a fatores

ambientais, como temperatura e incidência de radiação ultravioleta (UV), e fatores endógenos como uma resposta metabólica contra ataques de fungos e outros agentes biológicos, além de ferimentos (Kang *et al.*, 2022). As uvas da espécie *Vitis vinifera*, de origem mediterrânea e cultivada mundialmente para produção de vinho, possui concentrações de resveratrol que podem chegar à 100 µg/g, principalmente na casca e sementes, as quais muitas vezes são até descartadas na forma de um bagaço que acumula os resíduos do processamento desse produto (Lekli *et al.*, 2010).

A estrutura química do resveratrol é formada por dois anéis aromáticos ligados por uma ponte de metileno, o que fornece considerável estabilidade molecular e justifica suas propriedades quimioprotetoras e bioativas (Fig. 1) (Moon, 2023).

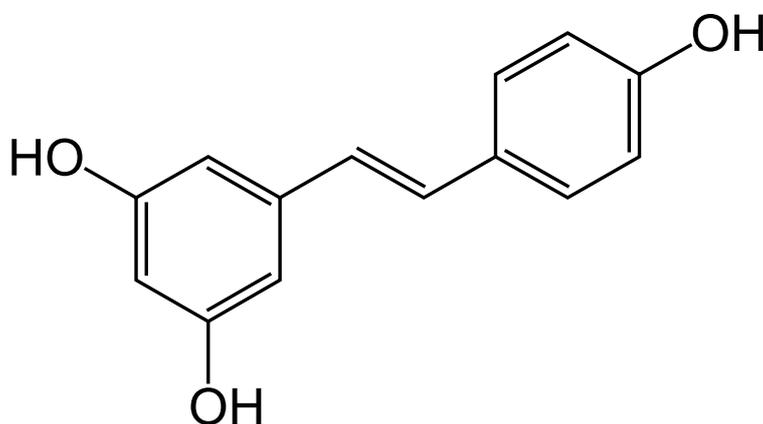


Figura 1. Estrutura molecular do resveratrol (Fonte: Moon, 2023).

O resveratrol possui diversas frentes de atuação em sistemas biológicos, principalmente associadas a modulação do metabolismo bioenergético (Zhang *et al.*, 2018). Essa molécula possui a capacidade de mimetizar os efeitos de uma restrição calórica, como será mencionado mais adiante, o que condiciona o organismo a mobilizar suas reservas energéticas frente a necessidade de síntese de ATP (Vallianou *et al.*, 2013; Pallauf *et al.*, 2021; Kari *et al.*, 2024). Essa propriedade é determinante para redução dos efeitos adversos associados a administração de dietas com níveis calóricos elevados (Ran *et al.* 2017; Zhang *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2022);

Quanto ao metabolismo glicolítico, o resveratrol promove o aumento da sensibilidade celular à insulina/ILP (*Insulin-like peptide*), aumentando a captação de glicose da circulação para o meio intracelular para aproveitamento frente a demandas bioenergéticas (Moon, 2023). Além disso, como potencial modulador do metabolismo

lipídico, promove a redução da lipogênese, aumento da lipólise e oxidação de lipídica na β -oxidação, além de aumentar significativamente a taxa de alongação e desaturação de ácidos graxos polinsaturados para formar ácidos graxos como EPA (ácido eicosapentaenoico) e DHA (Docosahaenoico) em espécies aquáticas alimentadas com dietas altamente calóricas (Ran *et al.*, 2017; Torno *et al.*, 2017; Torno *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018; Wu *et al.*, 2022).

Um dos principais sensores do metabolismo bioenergético é a proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK) a qual atua como um sensor regulador que auxilia na manutenção homeostática da produção de ATP pela mitocôndria frente a demandas energéticas (Wang *et al.*, 2020). O decréscimo na produção ou aumento na demanda por ATP eleva os níveis relativos de AMP-ADP/ATP, o que eleva a ligação desse AMP com a AMPK disponível no citoplasma, com posterior fosforilação e ativação da enzima. Esse sinal de restrição energética se reflete pelo aumento endógeno de NAD^+ que leva à ativação da Sirtuina -1 (SIRT-1), uma desacetilase dependente de NAD^+ , e o co-ativador 1-alfa do receptor ativador de proliferação de peroxissomo gamma (PGC-1 α) (Shi *et al.*, 2018).

O sistema AMPK/SIRT-1/PGC-1 α é o principal eixo de modulação do metabolismo bioenergético através de ativação de fatores de transcrição chave como o FoxO1 (*Forkhead box transcription factor -1*), por exemplo, e biogênese mitocondrial que resultam em mecanismos de inibição de vias metabólicas anabólicas e ativação de vias catabólicas como a glicólise e a β -oxidação no intuito de suprir a demanda energética do organismo (Fig. 2) (Kulkarni e Canto, 2015; Shi *et al.*, 2018; Mu *et al.*, 2024).

Segundo Mu *et al.* (2024), a regulação do metabolismo glicolítico em *Megalobrama amblycephala* é diretamente influenciada pela via molecular de ativação da SIRT-1 e consequente ativação do FoxO1, o que levou ao aumento da sensibilidade a insulina e melhor regulação de níveis de glicose na circulação.

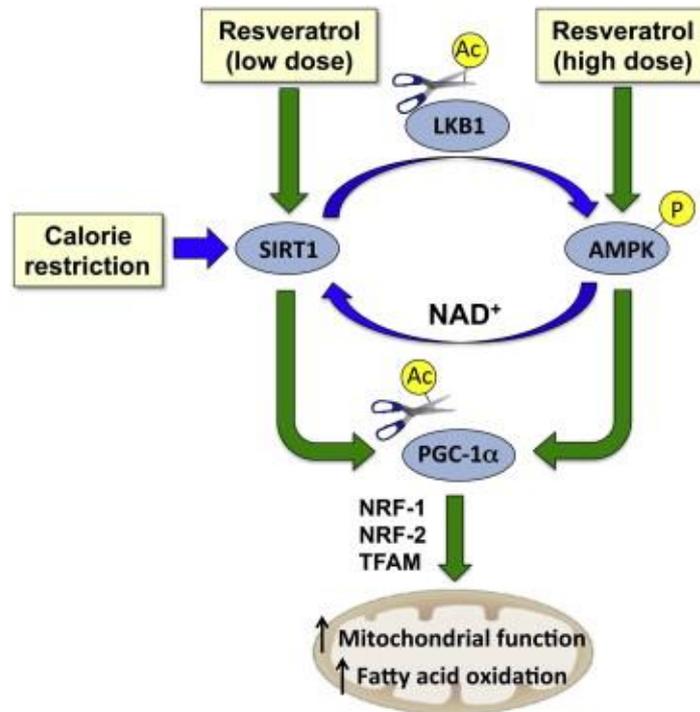


Figura 2. Rota metabólica da quinase hepática B1 (LKB1)/quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK)/Sirtuina 1(SIRT-1)/ co-ativador 1-alfa do receptor ativador de proliferação de peroxissomo gamma (PGC-1 α)ativada pelo resveratrol e com a modulação do metabolismo mitocondrial através do fator nuclear respiratório 1 (NRF-1), fator eritroide 2 (NRF-2), fator de transcrição mitocondrial A (TFAM) ((Fonte: Price et al., 2012).

O resveratrol possui a capacidade de ativar a sirtuina-1 (SIRT-1) diretamente, o que gera uma ativação da quinase hepática B1 (LKB1) (Fig. 3). Essa quinase é a responsável pela fosforilação de um resíduo de treonina¹⁷² na subunidade α da AMPK, desencadeando a sua ativação e amplificando a resposta catabólica (Price *et al.*, 2012). Outra forma de ativação da AMPK ocorre pela quinase cálcio/calmodulina quinase- β (CaMKK β) a qual fosforila o mesmo resíduo de treonina¹⁷² na subunidade α da AMPK em resposta ao aumento intracelular de Ca⁺, resultado de inúmeras repostas endócrinas de estresse moderado (Fig.3) (Ruderman *et al.*, 2010).

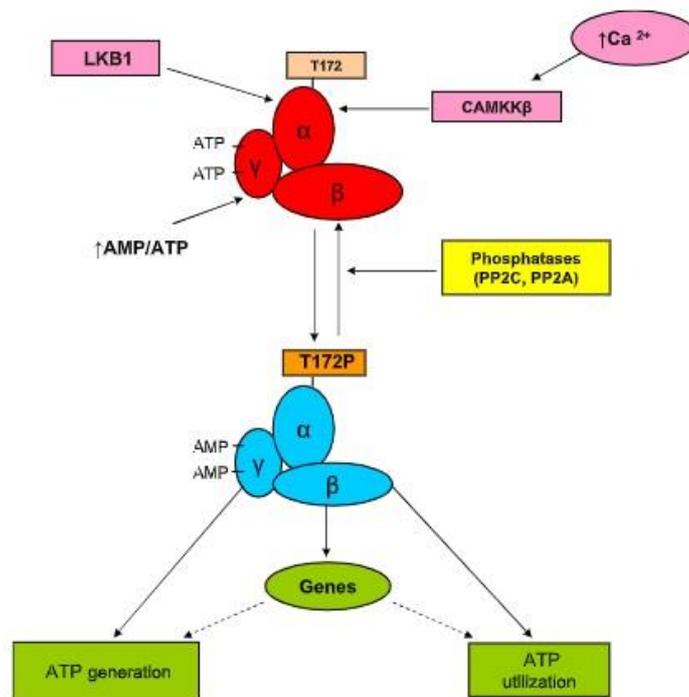


Figura 3. Proteína quinase hepática B1 (LKB1), proteína quinase cálcio/calmodulina quinase-β (CaMKKβ), resíduo de treonina 172 (T172P) e os sítios de interação com as subunidades (α, β e γ) da enzima quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK) (Fonte: Ruderman, 2010)

Alguns estudos com salmão do Atlântico (*Salmo salar*), peixe-zebra (*Danio rerio*) e “blunt snout bream” (*Megalobrama amblycephala*) demonstram a atuação do resveratrol como ativador da AMPK e SIRT1, a partir de reações de inibição de enzimas fosfodiesterases monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) dependentes, e modulação da via metabólica da AMPK/SIRT-1/PGC-1α, o que juntamente com a translocação de transportadores de glicose (GLUT), aumenta substancialmente a eficiência energética de carboidratos e lipídios como substrato energético nessas espécies e conseqüentemente seu crescimento (Menoyo *et al.*, 2018; Shi *et al.*, 2018; Tihn *et al.*, 2021).

A taxa de crescimento está diretamente associada à eficiência energética, que por sua vez depende da quantidade e a qualidade do alimento ofertado, o qual deverá suprir necessidades para hipertrofia de tecidos, mediadores fisiológicos para manutenções das atividades basais e produção de energia (Fraser e Rogers 2007). A integração entre um alimento balanceado e um ambiente adequado ditam o orçamento energético que um espécime irá desprender para o seu crescimento pleno, visto que são recursos valiosos e finitos. Um ambiente que gere algum tipo de estresse, muitas vezes relacionado a parâmetros ambientais fora das faixas ideais da espécie, restringem o crescimento frente a necessidade primordial da utilização de energia para a sobrevivência (Sokolova, 2021).

Para aquicultura, onde a fração mais custosa desta atividade é o alimento, alcançar o equilíbrio entre um ambiente favorável e uma dieta que possua qualidade nutricional e energética, com baixo custo e que sustente uma taxa de crescimento máxima da espécie sob cultivo, é o grande desafio (Lee e Lee, 2018). Para isso, o camarão *Penaeus vannamei*, o mais cultivado mundialmente por ser um animal robusto, altamente tolerante a condições de variações ambientais, ciclo de vida relativamente curto e altas taxas de produção em cultivos cada vez mais tecnológicos e precisos, são o centro de inúmeros estudos que buscam compreender as principais exigências nutricionais para sustentar o potencial produtivo da espécie (Joffre *et al.*, 2018; Emerenciano *et al.*, 2022; Tinh *et al.*, 2023).

A proteína, dentre os principais macronutrientes, é o componente mais custoso de uma ração para cultivo aquícola, enquanto os carboidratos são os mais baratos e diversos (Cuzon *et al.*, 2000; Tacon, 2002; Tacon *et al.*, 2013). No camarão *Penaeus vannamei*, grande parte dessa proteína ingerida é utilizada como fonte de energia a partir de mecanismos de desaminação, formação de cetoácidos sob os esqueletos carbônicos desses aminoácidos, geração de acetil-coa e poder redutor no ciclo de Krebs, em detrimento de um crescimento altamente custoso energeticamente, e isso é um fator limitante na produção frente ao aumento do valor agregado por kg de produto produzido (Velasco 2000; Cuzon *et al.*, 2004).

O metabolismo das proteínas supre a demanda de aminoácidos e proteínas para inúmeros processos celulares como funções estruturais, manutenção, regulação metabólica e crescimento (Zhang *et al.*, 2020). A proteína ingerida é hidrolisada e fragmentada em aminoácidos livres, os quais serão efetivamente absorvidos pelo trato intestinal para atender a essas necessidades do organismo (Carter e Houlihan, 2001; Mente *et al.*, 2002). No entanto, organismos não são capazes de armazenar aminoácidos e proteínas, o que condiciona o seu aproveitamento apenas para as necessidades pontuais, sendo o excedente ainda disponível convertido em esqueletos carbônicos e, a partir da remoção de grupos amino, aminoácidos cetogênicos ou glicogênicos que serão convertidos em piruvato ou intermediários do ciclo de Krebs, alimentando assim a demanda bioenergética do sistema. Além disso, os α -cetoácidos posteriormente podem ser convertidos em carboidratos, ácidos graxos ou até retornar à aminoácidos (Fraser e Rogers, 2007).

O aporte confiável e estável de proteína de alta qualidade, a partir de ingredientes com baixa pegada ambiental é o grande desafio para a eficiência alimentar e produtiva na

aquicultura (Xing *et al.*, 2023). Os aminoácidos podem ser categorizados como essenciais e não essenciais, de acordo com a sua importância metabólica e capacidade de síntese endógena. Os aminoácidos essenciais precisam obrigatoriamente serem ofertados na dieta do animal, sob risco de distúrbios metabólicos, baixa retenção proteica e consequente baixo desenvolvimento e sobrevivência. (McLean *et al.*, 2022).

Em crustáceos, os aminoácidos essenciais são 10: arginina, histidina, isoleucina, leucina, valina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina e triptofano. Um dos principais obstáculos para a substituição completa da proteína oriunda da farinha de peixe, ou outras fontes animais, por proteína de fontes vegetais em rações para camarões é a alteração crítica do perfil de aminoácidos, principalmente pela baixa concentração de metionina, lisina e treonina (Amaya *et al.*, 2007; Oliva-Teles *et al.*, 2015).

A amônia (NH_3) é um produto do metabolismo de aminoácidos, sendo um componente fundamental na síntese de novos aminoácidos, nucleotídeos, aminas e seus derivados. O excedente dessa amônia, juntamente com a amônia gerada pela degradação de aminoácidos no ciclo da uréia, será excretado (Carter e Houlihan, 2001). A produção excessiva de amônia é um indicador confiável de desequilíbrio nutricional, visto que grande parte da proteína ingerida pelo animal está sendo utilizada como substrato energético, e isso pode prejudicar o ambiente de cultivo em virtude da alta toxicidade desse resíduo (Zhao *et al.*, 2020; Nan *et al.*, 2024).

Dentre os principais reguladores do metabolismo de proteína, a serina/treonina proteína quinase “*mammalian target of rapamycin*” (mTOR), integrante da família de quinases PI3K (PIKK) e composta pelos complexos mTOR 1 (TORC1) e 2 (TORC2), integra uma das principais vias de sinalização para supressão de rotas catabólicas e regulação do crescimento através da supressão da autofagia, ativação de promotores de síntese proteica, como a quinase 1 p70S6 (S6K1) e a proteína de ligação IF4E (4EBP) e regulação da resposta à insulina/IGF (Saxton e Sabatini, 2017).

O ILP (*insuline like peptide*) desencadeia a uma via regulatória de ativação da TORC1 (Chantranupong *et al.*, 2015). A ligação da insulina/IGF aos seus respectivos receptores de membrana induz a fosforilação da proteína quinase B (Akt), inibição do complexo TSC1/2 (Inibidor da mTORC1) e ativação da GTPase Rheb a qual recruta e TORC1 para a superfície do lisossomo, enquanto aminoácidos e fatores de crescimento cooperam para a efetiva ativação do complexo que compõe a proteína mTOR (Zheng *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2019);

Grande parte dos estudos que abordam a nutrição dessa espécie indicam que de 20 à 45% de uma dieta deve ser composta por proteína, com variações de acordo com o estágio de vida, densidade de estocagem, parâmetros de qualidade de água, sistema de cultivo, qualidade da proteína, palatabilidade, e conteúdo energético da dieta (Velasco *et al.*, 2000; Yun *et al.*, 2016; Lee e Lee, 2018; Tihn *et al.*, 2021). Lee e Lee (2018) propõem uma dieta com 36% de proteína para camarões de 0,5 à 1 g, enquanto Kureshy e Davis (2002) sugerem 32% como concentração ideal de proteína na dieta de camarões entre 1 e 8 g.

A partir de aminoácidos glicogênicos podem ser sintetizados carboidratos para atenderem demandas metabólicas essenciais, enquanto o metabolismo de carboidratos está associado a fatores intrínsecos da biologia do organismo, o que restringe a eficiência desse substrato para um amplo espectro de espécies (Wang *et al.*, 2016). A inclusão eficiente de carboidratos na dieta do camarão branco atualmente está entre 20 e 30% e possui como principal limitação a baixa capacidade da espécie em sustentar um equilíbrio glicêmico e com isso, metabolizar efetivamente a glicose ingerida na dieta (Cuzon., *et al.*, 2000; Rosas *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2014).

Alguns trabalhos sugerem um efeito negativo da inclusão de carboidratos simples como frutose e glicose nas dietas de organismos aquáticos devido a rápida absorção e saturação glicêmica do sangue e hemolinfa, enquanto carboidratos complexos como amido, trealose mostram-se mais eficientes pois passam por hidrólise enzimática previamente a assimilação no trato gastrointestinal, o que reduz a velocidade da digestão, equilibrando taxa de absorção com as demandas teciduais (Cuzon *et al.*, 2000; Rosas *et al.*, 2001, Santos *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016).

O metabolismo de carboidratos em camarões começa pela ação principal de enzimas como α -amilase e α -glucosidase na hidrólise dos polissacarídeos presentes na dieta em monossacarídeos que serão efetivamente absorvidos no trato gastrointestinal por co transportadores dependentes de Na^+ 1 (SGLT1) por transporte ativo. Enquanto que os transportadores de glicose (GLUT) sustentam o transporte passivo dessa glicose da célula intestinal para a hemolinfa, com posterior distribuição para os tecidos (Lehman e Hornby, 2016; Chen *et al.*, 2016)

O hormônio ILP é o de modulador do mecanismo de mobilização celular dos transportadores GLUT do citoplasma para a membrana plasmática em crustáceos. Logo, quanto maior a sensibilidade celular ao ILP, maior será a mobilização de transportadores GLUT e conseqüentemente maior será a captação de glicose da circulação. No músculo

predominam os transportadores GLUT 2, enquanto no hepatopâncreas predominam os transportadores GLUT 4 (Singha *et al.*, 2023). Nas células do hepatopâncreas e músculo, a glicose incorporada é fosforilada em glicose-6-fosfato (G6P) pela enzima hexoquinase, o que impede um refluxo de glicose para a circulação. Essa G6P poderá ser convertida em glicogênio pela via enzimática da enzima glicogênio sintase e em condições de redução dos níveis de glicose circulantes, a enzima glicogênio fosforilase quebra esse glicogênio e mobiliza a glicose dessas reservas para a via glicolítica (Fig. 4) (Moon, 2023). A ingestão de carboidratos em excesso tem como principal implicação o aumento das reservas hepáticas e musculares de glicogênio, o que pode comprometer as funções metabólicas desses órgãos. (Palakof *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2022).

A G6P pode ser hidrolisada novamente à glicose pela enzima glicose-6-fosfatase, ser utilizada pela via das pentoses fosfato, uma rota catabólica alternativa cíclica que oxida essa G6P para geração de NADPH e pentoses fosfato, ou via glicolítica para produção de piruvato, o qual pode ser oxidado para formar acetil coenzima A (acetil-CoA) ou carboxilado para formação de oxaloacetato ou malato em processo denominado anaplerose (Fig. 4). A molécula de acetil-CoA pode ser utilizada para síntese de lipídios ou entrar no ciclo de Krebs onde será oxidada em produtos como CO₂ e poder redutor (NADH e FADH₂) que sustentará a produção de ATP na fosforilação oxidativa mitocondrial (Fig. 4) (Palakof *et al.*, 2012; Viegas *et al.*, 2012).

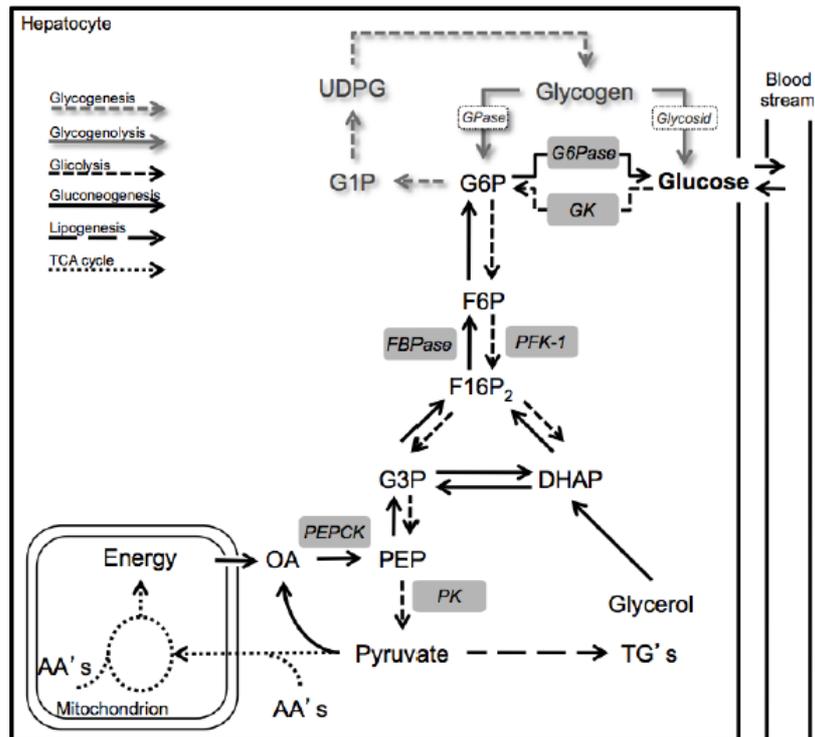


Figura 4. Metabolismo da glicose. Abreviações: UDPG (difosfato de uridina-glicose), G1P (glicose-1-fosfato), G6P (glicose-6-fosfato), G6Pase (glicose-6-fosfatase), GK (Glicocquinase), F6P (frutose-6-fosfato), FBPase (frutose-1,6-bifosfatase), PFK-1 (fosfofrutoquinase-1), F16P₂ (frutose-1,6-bifosfato), G3P (3-fosfoglicerato), DHAP (dihidroxiacetona), PEPCK (fosfoenolpiruvato carboxilase), PEP (fosfoenolpiruvato), PK (piruvato quinase), AO (oxaloacetato). TG (triglicerídeos). AA (aminoácidos) e TCA (ciclo do ácido cítrico) (Fonte: Viegas et al., 2012)

A inclusão de lipídios em formulações para o camarão *Penaeus vannamei* atualmente está entre 10 e 12%, em termos quantitativos e qualitativos, ocorre na forma de ácidos graxos saturados, insaturados, polinsaturados (PUFA), ácidos graxos altamente polinsaturados (HUFA), fosfolipídios e esteróis, essenciais para a sobrevivência desses animais, os quais suprem a demanda por energia, componentes estruturais de membrana plasmática e organelas, carreadores de vitaminas lipossolúveis, precursores de cofatores enzimáticos, eicosanóides e hormônios (Zhao *et al.*, 2015; Ayisi *et al.*, 2017). O excesso de lipídios na dieta aumenta o conteúdo energético da ração, reduz a taxa de ingestão de alimento, aumenta a composição lipídica da carcaça, reduz a eficiência proteica e reduz a sobrevivência frente ao aumento de dano oxidativo e depressão imunológica (Xie *et al.*, 2019; Ruvalcaba-Márquez *et al.*, 2021)

Os triglicerídeos são a principal forma de estocagem de ácidos graxos no hepatopâncreas e músculo, enquanto o colesterol atua como precursor de hormônios esteroides associados à reprodução e ecdise, promove a integridade estrutural e fluidez das membranas plasmáticas em condições ambientais adversas, além de ser um

componente fundamental de lipoproteínas que promovem a absorção e transporte de ácidos graxos na da circulação para os tecidos (Teshima *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 2019).

No período pós prandial, os níveis de lipídios, colesterol e glicose são abundantes na circulação do animal. Logo, as células β no hepatopâncreas captam a glicose e liberam ILP na circulação. (Sharabi *et al.*, 2019). O ILP estimula a captação de glicose nos tecidos e inibe a gliconeogênese nas células hepáticas. Enquanto a glicose é utilizada como substrato energético, nos adipócitos, a lipogênese é ativada e os ácidos graxos da dieta, além de produtos da síntese *de novo* a partir dos carboidratos e aminoácidos, são esterificados e estocados (Bosch *et al.*, 2020).

A transição de uma condição metabólica anabólica para catabólica é marcada pela queda dos níveis de glicose circulante e consumo de reservas hepáticas e musculares de glicogênio. De forma sequencial, a lipólise é ativada para mobilização de ácidos graxos e glicerol para a circulação onde serão captados pelos tecidos para síntese de intermediários metabólicos e energia na mitocôndria. Paralelamente, nas células hepáticas, a gliconeogênese é ativada para garantir o substrato energético de células dependentes exclusivamente de glicose (Duncan *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2011; Bosch *et al.*, 2020).

2. Objetivos e justificativas

O objetivo inicial desse trabalho foi identificar a dose-resposta de resveratrol que expressasse a melhor resposta zootécnica em juvenis de camarão *Penaeus vannamei*. A partir dessa dose obtida, o segundo objetivo foi observar os efeitos da suplementação isolada e combinada de resveratrol com ácido fumárico nos teores de proteínas, lipídios e carboidratos desses animais e, com isso, avaliar o potencial de modulação bioenergética dessas suplementações.

São poucos os trabalhos que abordam a aplicação de fitoquímicos como potenciais moduladores do metabolismo energético no camarão *Penaeus vannamei*. Logo, a importância de se explorar esse vácuo de informações em busca da potencialização de práticas de cultivo e de melhores resultados produtivos. O Brasil é um país emergente na aquicultura e se faz necessário o aporte de pacotes tecnológicos que explorem vias alternativas para ampliação da produtividade. Dentre essas, melhorar a nutrição desses organismos, que é uma das barreiras quantitativas e qualitativas ao estabelecimento de empreendimentos, é um caminho a ser pavimentado.

3. Referências Gerais

Adjoumani, J. Y., Abasubong, K. P. Zhang, L., 2024. Metformin attenuates high-carbohydrate diet-induced redox imbalance, inflammation and mitochondrial dysfunction in *Megalobrama amblycephala*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 50(6), 2237–2253. <https://doi.org/10.1007/s10695-024-01386-7>

Agathokleous, E., Kitao, M., Calabrese, E. J., 2020. Hormesis: highly generalizable and beyond laboratory. *Trends in Plant Science*, 25(11), 1076–1086. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.05.006>

Amaya, E., Davis, D.A., Rouse, D.B. (2007). Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared under pond conditions. *Aquaculture*, 262(2), 393–401. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.015>

Ayisi, C.B., Hua, X., Afriyie, A.A.G., Kyei, B., 2017. Recent studies toward the development of practical diets for shrimp and their nutritional requirements. *HAYATI Journal of Biosciences*, Volume 24, Issue 3, Pages 109-117, ISSN 1978-3019, <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2017.09.004>

Benkendorff, K., 2009. Aquaculture and the production of pharmaceuticals and nutraceuticals. *New Technologies in Aquaculture*, pp.866-891. <https://doi.org/10.1533/9781845696474.5.866>

Bonora, M., Patergnani S., Rimessi, A., De Marchi, E., Suski, J.M., Bononi, A., Giorgi, C., Marchi, S., Missiroli, S., Poletti, F., Wieckowski, M.R., Pinton, P., 2012. ATP synthesis and storage. *Purinergic Signal*. Sep; 8(3):343-57. doi: 10.1007/s11302-012-9305-8. Epub 2012 Apr 12. PMID: 22528680; PMCID: PMC3360099.

Bosch, M., Parton, R.G., Pol, A., 2020. Lipid droplets, bioenergetic fluxes, and metabolic flexibility. *In Seminars in Cell & Developmental Biology* (Vol. 108, pp. 33-46). Academic Press. doi: 10.1016/j.semcdb.2020.02.010

Bureau, D. P., Kaushik, S. J., Cho, C. Y., 2003. Bioenergetics. *Fish nutrition*, 1-59. Academic press. <https://doi.org/10.1016/B978-012319652-1/50002-1>

Calabrese E. J., 2013. Hormetic mechanisms. *Critical Reviews in Toxicology*, 43(7), 580–606. <https://doi.org/10.3109/10408444.2013.808172>

Calabrese, E. J., Dhawan, G., Kapoor, R., Iavicoli, I., Calabrese, V., 2015. Hormesis: a fundamental concept with widespread biological and biomedical applications. *Gerontology*, 62(5), 530–535. doi:10.1159/000441520

Carter, C. G., Houlihan, D. F., 2001. Protein synthesis. In *Fish Physiology: Nitrogen Excretion*, Vol. 20 (P. A. Wright and P. M. Andersen, eds), pp. 31–75. Academic Press, London.

Chantranupong, L., Scaria, S. M., Saxton, R. A., Gygi, M. P., Shen, K., Wyant, G. A., Wang, T., Harper, J. W., Gygi, S. P., Sabatini, D. M., 2016. The CASTor proteins are arginine sensors for the mTORC1 pathway. *Cell*. 165:153–164. PMID: 26972053 PMCID: PMC4808398 doi: 10.1016/j.cell.2016.02.035

Chakraborty, S. B., Horn, P., Hancz, C., 2014. Application of phytochemicals as growth-promoters and endocrine modulators in fish culture. *Reviews in Aquaculture*, 6(1), 1-19. <https://doi.org/10.1111/raq.12021>

Chen, L., Tuo, B., Dong, H., 2016. Regulation of intestinal glucose absorption by ion channels and transporters. *Nutrients*, Jan 14;8(1): 43. <https://doi.org/10.3390/nu8010043>

Cheng, Z. J., Hardy, R. W., 2004. Protein and lipid sources affect cholesterol concentrations of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Journal of Animal Science*, 82(4), 1136–1145. <https://doi.org/10.2527/2004.8241136x>

Cuzon, G., Rosas, C., Gaxiola, G., Taboada, G., Van Wormhoudt, A., 2000. Utilization of carbohydrates by Shrimp. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.

Cuzon, G., Lawrence, A., Gaxiola, G., Rosas, C. and Guillaume, J., 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture*, 235(1-4), pp.513-551. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.12.022>

Da Costa, J. P., 2017. A current look at nutraceuticals—Key concepts and future prospects. *Trends in Food Science & Technology*, 62, pp.68-78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.010>

Das Neves, S. C. V., Da Silva, S. M. B. C., Costa, G. K. A., Correia, E. S., Santos, A. L., Da Silva, L. C. R., Bicudo, Á.J.A., 2021. Dietary supplementation with fumaric acid improves growth performance in Nile tilapia juveniles. *Animals*. Dec 21;12(1):8. doi: 10.3390/ani12010008. PMID: 35011114; PMCID: PMC8744612.

Duncan, R. E., Ahmadian, M., Jaworski, K., Sarkadi-Nagy, E., Sul, H. S., 2007. Regulation of lipolysis in adipocytes. *Annual Review of Nutrition*.; 27:79-101. doi: 10.1146/annurev.nutr.27.061406.093734. PMID: 17313320; PMCID: PMC2885771.

Emerenciano, M. G. C., Rombenso, A. N., Vieira, F. D. N., Martins, M. A., Coman, G. J., Truong, H. H., Noble, T. H., Simon, C. J., 2022. Intensification of penaeid shrimp culture: an applied review of advances in production systems, nutrition and breeding. *Animals (Basel)*. Jan 19;12(3):236. doi: 10.3390/ani12030236. PMID: 35158558; PMCID: PMC8833552.

Fraser, K. P., Rogers A. D., 2007. Protein metabolism in marine animals: the underlying mechanism of growth. *Advances in Marine Biology*. 2007; 52:267-362. doi: 10.1016/S0065-2881(06)52003-6. PMID: 17298892.

Freitag, M. E. C. H. T. H. I. L. D., Lückstädt, C., 2007. Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry. *Acidifiers in Animal Nutrition*, 31(2), pp.131-139. *Nottingham University Press*; 1st edition.

Fu, Z., Shi, L., Chen, J., Yuan, H., Zheng, Y., Li, G., Ke, S., Zhang, S., 2025. Effects of dietary resveratrol supplementation on the growth, immunity, intestinal health, and transcriptome response of *Litopenaeus Vannamei*. *Aquaculture*, Volume 597,741927. SSRN: <https://ssrn.com/abstract=4873846> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4873846>

Ge, Y., Zhang, L., Chen W, Sun M, Liu W, Li X., 2023. Resveratrol modulates the redox response and bile acid metabolism to maintain the cholesterol homeostasis in fish *Megalobrama amblycephala* offered a high-carbohydrate diet. *Antioxidants (Basel)*. Jan 3;12(1):121. doi: 10.3390/antiox12010121. PMID: 36670983; PMCID: PMC9854748.

Greenwood, S. N., Belz, R. G., Weiser, B. P., 2022. A Conserved Mechanism for Hormesis in Molecular Systems. *Dose Response*. Aug 2;20(3):15593258221109335. doi: 10.1177/15593258221109335. PMID: 35936511; PMCID: PMC9350523.

Joffre, O. M., Klerkx, L., Khoa, T. N. D., 2018. Aquaculture innovation system analysis of transition to sustainable intensification in shrimp farming. *Agronomy for Sustainable Development*. 38, 34. <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0511-9>

Kang, J.E., Yoo, N., Jeon, B.J., Kim, B.S., Chung, E.H., 2022. Resveratrol oligomers, plant-produced natural products with anti-virulence and plant immune-priming roles. *Frontiers in Plant Science*. 2022 May 27;13: 885625. doi: 10.3389/fpls.2022.885625. PMID: 35712595; PMCID: PMC9197177.

Kari, Z. A., Téllez-Isaías, G., Khoo, M. I., Wee, W., Kabir, M. A, Cheadoloh, R., Wei, L. S., 2024. Resveratrol impacts on aquatic animals: a review. *Fish Physiology Biochemistry*. 2024 Feb;50(1):307-318. doi: 10.1007/s10695-024-01319-4. Epub 2024 Feb 20. PMID: 38376668.

Kulkarni S. S., Canto, C., 2015. The molecular targets of resveratrol. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1852:1114–1123. doi: 10.1016/j.bbadis.2014.10.005.

Kureshy, N., Davis, D.A., 2002. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, Volume 204, Issues 1–2, 2002, Pages 125-143, ISSN 0044-8486, [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00649-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00649-4).

Lee, C., Lee, J. K., 2018. Dietary protein requirement of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in three different growth stages. *Fisheries and Aquatic Sciences*. 21: 30. doi.org/10.1186/s41240-018-0105-0.

Lehmann, A., Hornby, P. J., 2016. Intestinal SGLT1 in metabolic health and disease. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver*. 310: G887–G898. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00068.2016>

Lekli, I., Ray, D., Das, D. K., 2009. Longevity nutrients resveratrol, wines and grapes. *Genes e Nutrição*. 2010 Mar; 5(1):55-60. doi: 10.1007/s12263-009-0145-2. Epub 2009 Sep. 4. PMID: 19730919; PMCID: PMC2820197.

Leyva-López, N., Lizárraga-Velázquez, C.E., Hernández, C., Sánchez-Gutiérrez, E.Y., 2020. Exploitation of agro-industrial waste as potential source of bioactive compounds for aquaculture. *Foods*. 2020 Jun. 28;9(7):843. doi: 10.3390/foods9070843. PMID: 32605275; PMCID: PMC7404778.

Li, I., Chen, Y., Chen, X., Zhang, S., Dong, X., Chi, S., Deng, J., Tan, B., Xie, S., 2022. Cholesterol supplementation improved growth performance, cholesterol metabolism, and intestinal health of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed a low fishmeal diet. *Aquaculture Reports*, Volume 27, 101351, ISSN 2352-5134, <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101351>.

Li, L.Q., Wang, W.L., Yusuf, A., Zhu, Y.M., Zhou, Y., Ji, P., Huang, X.X., 2020. Effects of dietary lipid levels on the growth, fatty acid profile and fecundity in the oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense*. *Aquaculture Research*. 51 (5), 1893–1902. <https://doi.org/10.1111/are.1453>

Li, L.Y., Limbu, S. M., Ma, Q., Chen, L. Q., Zhang, M. L., Du, Z. Y., 2019. The metabolic regulation of dietary L-carnitine in aquaculture nutrition: Present status and future research strategies. *Reviews in Aquaculture*, 11(4), 1228-1257. (2019). <https://doi.org/10.1007/s42995-019-00022-1>

Li, Y., Xu, S., Mihaylova, M. M., Zheng, B., Hou, X., Jiang, B., Park, O., Luo, Z., Lefai, E., Shyy, J. Y., Gao, B., Wierzbicki, M., Verbeuren, T. J., Shaw, R. J., Cohen,

R. A., Zang, M., 2011. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin-resistant mice. *Cell Metabolism*, 13(4), 376–388. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.03.009>

Lim, C., Ako, H., Brown, C. L., Hahn, K., 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. *Aquaculture*, 151(1-4), 143-153. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01500-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01500-1)

Liu, H., Yang, Z., Huang, Y., Yang, S., Huang, Y., Cai, S., Jian, J., 2021. Dietary resveratrol attenuates oxidative stress in Pacific whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in response to ammonia stress. *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, IJA.73.2021.1401912, 10 pagesCCBY-NC-ND-4.0 <https://doi.org/10.46989/001c.22219>

Liu, Y., Liu, N., Wang, A., Chen, N. and Li, S., 2022. Resveratrol inclusion alleviated high-dietary-carbohydrate-induced glycogen deposition and immune response of largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *British Journal of Nutrition*, 127(2), pp.165-176. doi: 10.1017/s0007114521000544

Lobato, R.O., Cruz, L.C., Josende, M.E., Tavares, P.B., Wasielesky, W., Maciel, F.E., Ventura-Lima, J., 2018. Lipoic acid modulates energetic metabolism and antioxidant defense systems in *Litopenaeus vannamei* under hypoxia/reoxygenation conditions. *Aquaculture*. Volume 497, Pages 396-404, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.020>.

Lucas, A., Watson, J.J., 1996. *Bioenergetics Of Aquatic Animals* (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781482295313>

McLean, E., Alfrey, K.B., Gatlin, D.M., Gaylord, T.G., Barrows, F.T., 2022. Muscle amino acid profiles of eleven species of aquacultured animals and their potential value in feed formulation. *Aquaculture and Fisheries*, Volume 9, Issue 4, 2024, Pages 642-652, ISSN 2468-550X, <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.04.010>.

Marín-Aguilar, F., Pavillard, L.E., Giampieri, F., Bullón, P., Cordero, M.D., 2017. Adenosine monophosphate (AMP) -activated protein kinase: a new target for nutraceutical compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), p.288. <https://doi.org/10.3390/ijms18020288>

Meng, Q., Li, J., Wang, C., Shan, A., 2023. Biological function of resveratrol and its application in animal production: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 14(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00822-z>

Menoyo, D., Kühn, G., Ruiz-Lopez, N., Pallauf, K., Stubhaug, I., Pastor, J. J., Ipharraguerre, I. R., Rimbach, G., 2019. Dietary resveratrol impairs body weight gain due

to reduction of feed intake without affecting fatty acid composition in Atlantic salmon. *Animal. An International Journal of Animal Bioscience*, 13(1), 25–32. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000812>

Mente, E., Coutteau, P., Houlihan, D., Davidson, I., Sorgeloos, P., 2002. Protein turnover, amino acid profile and amino acid flux in juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei*: effects of dietary protein source. *The Journal of Experimental Biology*, 205(Pt 20), 3107–3122. <https://doi.org/10.1242/jeb.205.20.3107>

Moon, D.O., 2023. A comprehensive review of the effects of resveratrol on glucose metabolism: unveiling the molecular pathways and therapeutic potential in diabetes management. *Molecular Biology Reports*, Oct;50(10):8743-8755. doi: 10.1007/s11033-023-08746-1. Epub 2023 Aug 29. PMID: 37642760.

Mu, Q., Miao, L., Qian, L., Lin, Y., Jiang, W., Ge, X., 2024. Regulation of sirt1 and foxO1 in glucose metabolism of *Megalobrama amblycephala*. *Gene*, Volume 903, 2024, 148172, ISSN 0378-1119, <https://doi.org/10.1016/j.gene.2024.148172>.

Nan, Y., Xiao, M., Duan, Y., Yang, Y., 2024. Toxicity of ammonia stress on the physiological homeostasis in the gills of *Litopenaeus vannamei* under seawater and low-salinity conditions. *Biology (Basel)*, 2024 Apr 21;13(4):281. doi: 10.3390/biology13040281. PMID: 38666893; PMCID: PMC11048301.

National Research Council, 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. *National Academies Press*.

Oliva-Teles, A., Enes, P., Peres, H., 2015. Replacing fishmeal and fish oil in industrial aquafeeds for carnivorous fish. *Feed and feeding practices in aquaculture*, pp.203-233. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100506-4.00008-8>

Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J. L., Moon, T. W., 2012. Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of comparative physiology. B, Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 182(8), 1015–1045. <https://doi.org/10.1007/s00360-012-0658-7>

Pallauf, K., Günther, I., Kühn, G., Chin, D., de Pascual-Teresa, S., Rimbach, G., 2021. The potential of resveratrol to act as a caloric restriction mimetic appears to be limited: Insights from studies in mice. *Advances in Nutrition*, 12(3), 995–1005. <https://doi.org/10.1093/advances/nmaa148>

Price, N. L., Gomes, A. P., Ling, A.J., Duarte, F. V., Martin-Montalvo, A., North, B. J., Agarwal, B., Ye, L., Ramadori, G., Teodoro, J. S., Hubbard, B. P., Varela, A.T., Davis, J. G., Varamini, B., Hafner, A., Moaddel, R., Rolo, A.P., Coppari, R., Palmeira,

C. M., De Cabo, R., Baur, J. A., Sinclair, D. A., 2012. SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. *Cell Metabolism*, May 2;15(5):675-90. doi: 10.1016/j.cmet.2012.04.003. PMID: 22560220; PMCID: PMC3545644.

Ramírez, J. R. B., Gomes, R. M. M., Araújo, A. C. S., Buitrago, S. A. M., Piraine, J. S., Monserrat, J. M., 2023. The effects of lipoic acid on yolk nutrient utilization, energy metabolism, and redox balance over time in *Artemia sp.* *Antioxidants (Basel)*. 2023 Jul 18;12(7):1439. doi: 10.3390/antiox12071439. PMID: 37507976; PMCID: PMC10376159.

Ran, G., Ying, L., Li, L., Yan, Q., Yi, W., Ying, C., Ye, X., 2017. Resveratrol ameliorates diet-induced dysregulation of lipid metabolism in zebrafish (*Danio rerio*). *PLoS One*, 12(7), e0180865. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180865>

Romani, P., Valcarcel-Jimenez, L., Frezza, C., Dupont, S., 2021. Crosstalk between mechanotransduction and metabolism. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 22(1), 22-38. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00306-w>.

Rombenso, A. N., Truong, H., Simon, C., 2020. Dietary butyrate alone or in combination with succinate and fumarate improved survival, feed intake, growth and nutrient retention efficiency of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 528, 735492. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735492>

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Arena, L., Lemaire, P., Soye, C. and Van Wormhoudt, A., 2000. Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *Litopenaeus stylirostris*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 249(2), pp.181-198. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(00\)00184-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(00)00184-2)

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Le Priol, Y., Pascual, C., Rossignol, J., Contreras, F., Sanchez, A., Van Wormhoudt, A., 2001. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 259:1-22. doi: 10.1016/s0022-0981(01)00222-2.

Ruderman, N.B., Xu, X.J., Nelson, L., Cacicedo, J.M., Saha, A.K., Lan, F., Ido, Y., 2010. AMPK and SIRT1: a long-standing partnership? *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. Apr;298(4): E751-60. doi: 10.1152/ajpendo.00745. Epub 2010 Jan 26. PMID: 20103737; PMCID: PMC2853213.

Ruvalcaba-Márquez, J. C., Álvarez-Ruiz, P., Zenteno-Savín, T., Martínez-Antonio, E., Goytortúa-Bores, E., Casillas-Hernández, R., Mejía-Ruiz, H. and Magallón-

Barajas, F. J., 2021. Performance, immune response, and oxidative stress parameters of *Litopenaeus vannamei* fed diets containing varying carbohydrate/protein, lipid/protein, and energy/protein ratios. *Aquaculture Reports*, 21, p.100771. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100771>

Santos, R.A., Caldas, S.; Primel, E.G., Tesser, M.B.; Monserrat, J.M., 2016. Effects of lipoic acid on growth and biochemical responses of common carp fed with carbohydrate diets. *Fish Physiology and Biochemistry*. 42: 1699–1707. doi:10.1007/s10695-016-0250-2

Saxton, R.A., Sabatini, D.M., 2017. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell*. 2017 Mar 9;168(6):960-976. doi: 10.1016/j.cell.2017.02.004. Erratum in: *Cell*. 2017 Apr 6;169(2):361-371. doi: 10.1016/j.cell.2017.03.035. PMID: 28283069; PMCID: PMC5394987.

Sharabi, K., Tavares, C.D.J., Puigserver, P., 2019. Regulation of hepatic metabolism, recent advances, and future perspectives. *Current Diabetes Reports*, 19(10), 98. <https://doi.org/10.1007/s11892-019-1224-4>

Shi, H.J., Xu, C., Liu, M.Y., Wang, B.K., Liu, W.B., Chen, D.H., Zhang, L., Xu, C.Y., Li, X.F. 2018. Resveratrol improves the energy sensing and glycolipid metabolism of blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* fed high-carbohydrate diets by activating the AMPK-SIRT1-PGC-1 α Network. *Frontiers in Physiology*. Sep 11;9: 1258. doi: 10.3389/fphys.2018.01258. PMID: 30254587; PMCID: PMC6141669.

Silva, B. C., Nolasco-Soria, H., Magallón-Barajas, F., Civera-Cerecedo, R., Casillas-Hernández, R., Seiffert, W., 2016. Improved digestion and initial performance of whiteleg shrimp using organic salt supplements. *Aquaculture Nutrition*, 22(5), pp.997-1005. <https://doi.org/10.1111/anu.12315>

Singha, K.P., Sahu, N.P., Sardar, P., Shamna, N., Kumar, V., 2023. A strategic roadmap for carbohydrate utilization in crustacean's feed. *Reviews in Aquaculture*. 1–32. <https://doi.org/10.1111/raq.12861>.

Sokolova, I., 2021. Bioenergetics in environmental adaptation and stress tolerance of aquatic ectotherms: linking physiology and ecology in a multi-stressor landscape. *Journal of Experimental Biology*. 2021 Feb 24;224 (Pt Suppl. 1): jeb236802. doi: 10.1242/jeb.236802. PMID: 33627464.

Tacon, A. G., 2002. Thematic review of feeds and feed management practices in shrimp aquaculture. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO

consortium program on shrimp farming and the environment. Work in Progress for Public Discussion. Published by the Consortium, 69.

Tacon, A.G. J., Jory, D., Nunes, A., 2013. Shrimp feed management: issues and perspectives. In M.R. Hasan and M.B. New, eds. On-farm feeding and feed management in aquaculture. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper* No. 583. Rome, FAO. pp. 481–488.

Teshima, S., Ishikawa, M., Koshio, S., Kanazawa, A., 1997. Assessment of cholesterol requirements in the shrimp, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture Nutrition*, 3:247–253. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.1997.00097.x>

Tinh, T. H., Kokou, F., Hai, T. N., Verreth, J. A., Verdegem, M. C., 2023. Effects of feed, carbohydrate addition and stocking density on Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production, *Aquacultural Engineering*, Volume 101, 2023, 102325, ISSN 0144-8609, <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2023.102325>.

Torno, C., Staats, S., Pascual-Teresa, S., Rimbach, G., Schulz, C., 2017. Fatty acid profile is modulated by dietary resveratrol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Marine Drugs*. 2017 Aug 11;15(8):252. doi: 10.3390/md15080252. PMID: 28800114; PMCID: PMC5577606.

Torno. C., Staats, S., Michl, S. C., Pascual-Teresa, S., Izquierdo, M., Rimbach, G., Schulz, C., 2018. Fatty acid composition and fatty acid associated gene-expression in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) are affected by low-fish oil diets, dietary resveratrol, and holding temperature. *Marine Drugs*. 2018 Oct 10;16(10):379. doi: 10.3390/md16100379. PMID: 30309000; PMCID: PMC6213562.

Vallianou, N.G., Evangelopoulos, A., Kazazis, C., 2013. Resveratrol and diabetes. *The Review of Diabetic Studies*. 10: 236-42. doi: 10.1900/RDS.2013.10.236.

Velasco M., Lawrence A. L., Castille F. L., Obaldo L. G., 2000. Dietary protein requirement for *Litopenaeus vannamei*,” in *Avances En Nutrición Acuícola* V. Eds. Cruz-Suárez L. E., Ricque-Marie D., Tapia-Salazar M., Olvera-Novoa M. A., Civera-Cerecedo R. (*Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola: Mérida, Yucatán, México*) 19–22.

Viegas, I., Carvalho, R.A., Pardal, M.A. and Jones, J.G., 2012. Advances and application of tracer measurements of carbohydrates metabolism in fish. *New Advances and Contributions to Fish Biology*, pp.247-269. doi: 10.5772/54053

Wang, H., Guo, Y., Qiao, Y., Zhang, J., Jiang, P., 2020. Nobiletin ameliorates NLRP3 inflammasome-mediated inflammation through promoting autophagy via the

AMPK pathway. *Molecular Neurobiology*, 57: 5056-5068. doi: 10.1007/s12035-020-02071-5.

Wang, T., Li, W., Shan, H., & Ma, S. (2021). Responses of energy homeostasis and lipid metabolism in *Penaeus vannamei* exposed to ammonia stress. *Aquaculture*, 544, 737092. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737092>

Wang, X., Li, E., Chen, L., 2016. A review of carbohydrate nutrition and metabolism in crustaceans. *North American Journal of Aquaculture*. 78: 178–187. doi:10.1080/15222055.2016.1141129

Wu, D., Li, J., Fan, Z., Wang, L., Zheng, X., 2022. Resveratrol ameliorates oxidative stress, inflammatory response and lipid metabolism in common carp (*Cyprinus carpio*) fed with high-fat diet. *Frontiers in Immunology*. 2022 Nov 3; 13:965954. doi: 10.3389/fimmu.2022.965954. PMID: 36405693; PMCID: PMC9669426.

Xie, S., Wei, D., Fang, W., Wan, M., Guo, T., Liu, Y., Niu, J., 2019. Optimal dietary lipid requirement of postlarval white shrimp, *Litopenaeus vannamei* in relation to growth performance, stress tolerance and immune response. *Aquaculture Nutrition*, 25(6), 1231-1240. <https://doi.org/10.1111/anu.12937>.

Xie, S., Zhang, L., Wang, D., 2003. Effects of several organic acids on the feeding behavior of tilapia nilotica. *Journal of Applied Ichthyology*, 19, 255–257. 25. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00451.x>

Xie, S., Wei, D., Fang, W., Wan, M., Guo, T., Liu, Y., Niu, J., 2019. Optimal dietary lipid requirement of postlarval white shrimp, *Litopenaeus vannamei* in relation to growth performance, stress tolerance and immune response. *Aquaculture Nutrition*, 25(6), 1231-1240. <https://doi.org/10.1111/anu.12937>

Xing, S., Liang, X., Zhang, X., Oliva-Teles, A., Peres, H., Li, M., Wang, H., Mai, K., Kaushik, S.J., Xue, M., 2024. Essential amino acid requirements of fish and crustaceans, a meta-analysis. *Reviews in Aquaculture*, 16(3), pp.1069-1086. <https://doi.org/10.1111/raq.12886> Xu, C., Li, E., Liu, Y., Wang, S., Wang, X., Chen, K., Chen, L. 2018. Effect of dietary lipid level on growth, lipid metabolism and health status of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at two salinities. *Aquaculture Nutrition*, 24, 204–214. <https://doi.org/10.1111/anu.12548>

Yu, C., Zhang, M., Liu, J., Zhang, J., Xu, J., Xu, W., 2021. Effects of sodium acetate on lipid metabolism, antioxidant capability and cell apoptosis of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) hepatocytes treated by sodium palmitate. *Aquaculture Research*. <https://doi.org/10.1111/are.15651>

Zhang, D., Yan, Y., Tian, H., Jiang, G., Li, X., Liu, W., 2017. Resveratrol supplementation improves lipid and glucose metabolism in high-fat diet-fed blunt snout bream. *Fish Physiology and Biochemistry*. 44: 163-173. doi: 10.1007/s10695-017-0421-9.

Zhang, L. X., Li, C. X., Kakar, M. U., Khan, M. S., Wu, P. F., Amir, R. M., Li, J. H., 2021. Resveratrol (RV): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 143, 112164., ISSN 0753-3322, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112164>.

Zhang W., Yang Q., Tan B., Wang F., Dong X., Chi S., Liu H., Zhang S., Wang H., 2019. Study of the requirements of dietary cholesterol at two different growth stages of Pacific white shrimps, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Int* 27, 1583–1597. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00411-4>

Zhang, Y., Lu, R., Qin, C., Nie, G., 2020. Precision nutritional regulation and aquaculture, *Aquaculture Reports*, Volume 18, 2020, 100496, ISSN 2352-5134, <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100496>.

Zhao, J., Wen. X., Li. S., Zhu. D., Li., Y., 2015. Effects of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and antioxidants of juvenile mud crab *Scylla paramamosain* (Estampador). *Aquaculture* 435:200e6. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.018>

Zhao, M., Yao, D., Li S., Zhang, Y., Aweya, J.J., 2020. Effects of ammonia on shrimp physiology and immunity: A review. *Reviews in Aquaculture*, 12:2194–2211. doi: 10.1111/raq.12429.

Zheng, L., Zhang, W., Zhou, Y., Li, F., Wei, H., Peng, J., 2016. Recent advances in understanding amino acid sensing mechanisms that regulate mTORC1. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(10), 1636. <https://doi.org/10.3390/ijms17101636>

Zheng, Y., Shi, Y., Yang, X., Gao, J., Nie, Z., Xu, G., 2022. Effects of resveratrol on lipid metabolism in liver of red tilapia *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology: CBP*, 261, 109408. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109408>

Capítulo 1

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE - FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA (IO)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Modulação do resveratrol e do ácido fumárico no metabolismo energético em *Penaeus vannamei*

Jean Piraine Souza^{a,*}, Juan Rafael Buitrago Ramirez^a, Robson Matheus Marreiro Gomez^a, Alan Carvalho de Sousa Araújo^a, Wilson Wasielesky^c, Marcelo Borges Tesser^b, Sergiane Caldas Barbosa^d, Jose Maria Monserrat ^{a,e}

^a Laboratório de Bioquímica Funcional de Organismos Aquáticos (BIFOA), Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, RS, Brasil

^b Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

^c Laboratório de Carcinocultura, Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

^d Laboratório de Análises de Compostos Orgânicos e Metais – Escola de Química de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

^e Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

Correspondência do autor: Laboratório de Bioquímica Funcional de Organismos Aquáticos (BIFOA), Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, RS, Brasil; 96210-030, Rio Grande, RS, Brazil. E-mail: jeanpiraine@gmail.com

Rio Grande, março de 2025

Resumo

Esse trabalho buscou identificar a melhor dose-resposta de resveratrol para juvenis de camarão *Penaeus vannamei* e a partir disso, avaliar os efeitos de uma suplementação combinada com ácido fumárico na modulação do metabolismo bioenergético e efeito economizador da proteína para essa espécie. Para isso, durante 28 dias foi efetuada uma curva de dose resposta (experimento 1) com cinco diferentes doses de resveratrol (0, 10, 60, 110 e 160 mg.kg⁻¹) e experimento 2, constituído de quatro grupos: controle (C) e ácido fumárico (F) com animais reestocados do grupo controle (experimento 1), além de resveratrol (R) e resveratrol + ácido fumárico (RF) com animais reestocados do grupo que apresentou melhor dose resposta. Tanto para o experimento 1, quanto para o experimento 2, foram quantificados o ganho de peso final (g), taxa de crescimento específica (SGR), e taxa de conversão alimentar (FCR), taxa de retenção proteica (PRR) e taxa de eficiência proteica (PER) na carcaça, além de análises de concentração de proteína, triglicerídeos totais, colesterol total, glicose e glicogênio no músculo, hepatopâncreas e hemolinfa (mg.g⁻¹). Como resultados pode-se observar a melhor dose-resposta de resveratrol no tratamento 60, com maior ganho de peso final, menor taxa de conversão alimentar e maior taxa de crescimento específico ($p<0,05$). Além disso, também no tratamento 60, se observou maior PRR, PER, concentração de proteína e glicose no músculo ($p<0,05$). No experimento 2, essa resposta do resveratrol se mostra amplificada pela combinação com o ácido fumárico (tratamento RF), onde se observam os melhores resultados de ganho de peso final, FCR, SGR, PER, PRR e concentração de proteína no músculo ($p<0,05$). Os dados referentes a concentração de glicose no músculo, hepatopâncreas e hemolinfa, além das contrações de glicogênio no músculo e hepatopâncreas no tratamento RF ($p<0,05$) sugerem o maior aproveitamento dos substratos carboidráticos da dieta como substratos energéticos devido ao aumento da captação de glicose nos tecidos e mobilização das reservas de glicogênio para atender o significativo crescimento nesse grupo, em contraste aos triglicerídeos e colesterol, os quais foram acumulados principalmente no hepatopâncreas. Logo, o tratamento RF foi efetivo modulador do metabolismo bioenergético do camarão *Penaeus vannamei*.

Palavras chave: Aquicultura, nutrição, bioenergética, fitoquímicos, ácido orgânico

Abstract

This study aimed to identify the optimal dose-response of resveratrol for juvenile *Penaeus vannamei* shrimp and, based on that, evaluate the effects of combined supplementation with fumaric acid on the modulation of bioenergetic metabolism and the protein-sparing effect in this species. To achieve this, a 28-day dose-response curve (experiment 1) was conducted with five different doses of resveratrol (0, 10, 60, 110, and 160 mg.kg⁻¹), followed by Experiment 2, which consisted of four groups: control (C) and fumaric acid (F) with animals restocked from the control group (experiment 1), as well as resveratrol (R) and resveratrol + fumaric acid (RF) with animals restocked from the group that showed the best dose response. For both Experiment 1 and Experiment 2, the following parameters were quantified: final weight gain (g), specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), protein retention rate (PRR), and protein efficiency ratio (PER) in the carcass, in addition to analyses of protein concentration, total triglycerides, total cholesterol, glucose, and glycogen in the muscle, hepatopancreas, and hemolymph (mg.g⁻¹). The results showed that the best dose-response for resveratrol was observed at 60 mg.kg⁻¹, with higher final weight gain, lower feed conversion ratio, and higher specific growth rate ($p < 0.05$). Additionally, at this dose, increased PRR, PER, and higher protein and glucose concentrations in the muscle were observed ($p < 0.05$). In Experiment 2, the response to resveratrol was further enhanced when combined with fumaric acid (RF treatment), resulting in the best outcomes for final weight gain, FCR, SGR, PER, PRR, and muscle protein concentration ($p < 0.05$). The glucose concentrations in the muscle, hepatopancreas, and hemolymph, along with glycogen concentrations in the muscle and hepatopancreas in the RF treatment group ($p < 0.05$), suggest a greater utilization of dietary carbohydrate substrates as energy sources. This effect is attributed to increased glucose uptake in tissues and the mobilization of glycogen reserves to support significant growth in this group, in contrast to triglycerides and cholesterol, which were primarily accumulated in the hepatopancreas. Thus, the RF treatment was an effective modulator of the bioenergetic metabolism of *Penaeus vannamei* shrimp.

Keywords: Aquaculture, nutrition, bioenergetics, phytochemicals, organic acid

1. Introdução

A fração mais custosa para estabelecimento de um cultivo de camarões é o alimento, representando entre 40 e 65% dos custos de produção finais associados ao manejo alimentar (Poersch *et al.*, 2021; Villarreal, 2023). Logo, o grande desafio é alcançar o equilíbrio entre um ambiente favorável, uma dieta com baixo custo e que possua qualidade nutricional e energética que sustente o potencial de crescimento máximo da espécie sob cultivo (Lee e Lee, 2018; Zhang *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2024).

O camarão *Penaeus vannamei* é uma das espécies mais cultivadas mundialmente por ser um animal robusto, altamente tolerante a condições de variações ambientais, ciclo de vida relativamente curto e altas taxas de produção em cultivos cada vez mais tecnológicos e precisos, é o centro de inúmeros estudos que buscam compreender quais as principais exigências nutricionais que possam sustentar o máximo potencial produtivo da espécie (Tacon, 2002; Ayisi *et al.*, 2017; Joffre *et al.*, 2018; Emerenciano *et al.*, 2022; Tinh *et al.*, 2023).

Desde o ponto de vista bioenergético, os carboidratos, lipídios e proteínas representam os macronutrientes essenciais para que uma espécie sobreviva e se desenvolva (Kaushik, 2022). A exigência nutricional associada a cada um desses elementos está correlacionada a múltiplos fatores como estágio de vida, densidade de estocagem, parâmetros de qualidade da água, qualidade do ingrediente, perfil bioquímico do macronutriente, digestibilidade, palatabilidade e conteúdo energético total da ração (Cuzon *et al.*, 2000; Rosas *et al.*, 2000; Gonzalez-Felix *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 2018; Lee e Lee, 2018).

Os carboidratos são os substratos energéticos mais diversos e baratos em comparação aos lipídios e proteínas (Wang *et al.*, 2016; Singha *et al.*, 2023). Para o camarão *Penaeus vannamei*, o nível de inclusão de carboidratos em dietas formuladas atualmente é de no máximo 30%, onde atuam majoritariamente como substrato energético e precursores para síntese de quitina. (Cuzon *et al.*, 2000; Rosas *et al.*, 2001; Singha *et al.*, 2023). Essa limitação está associada à complexidade do carboidrato empregado nas rações e a sua consequente digestibilidade, além de características metabólicas intrínsecas do animal, como a baixa efetividade da manutenção glicêmica frente altas taxas de absorção no trato intestinal e baixa sensibilidade ao hormônio semelhante à insulina (*Insuline-like peptide* - ILP) o qual sinaliza as vias de captação de glicose pelos tecidos frente ao aumento da ingestão (Cuzon *et al.*, 2000; Rosas *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016).

Enquanto isso, a inclusão de lipídios é 10 e 12%, sendo fundamentais para o desenvolvimento desses animais, atuando como precursores de hormônios, substrato energético, estruturação celular e reguladores metabólicos (Lim *et al.*, 1997; Gonzales-Felix *et al.*, 2002; Cuzon *et al.*, 2004; Gosh, 2018; Xie *et al.*, 2019). O excesso de lipídios em uma formulação compromete a estabilidade do pellet, aumenta o conteúdo energético dessa ração, reduz a taxa de ingestão de alimento, aumenta a composição lipídica da carcaça, reduz a eficiência proteica e a sobrevivência frente ao aumento de dano oxidativo e depressão imunológica (Xie *et al.*, 2019; Ruvalcaba-Márquez *et al.*, 2021).

A proteína é o macronutriente com custo mais elevado em uma dieta formulada para o camarão branco (Sanches-Muros *et al.*, 2020; Tacon *et al.*, 2013). A taxa de inclusão de proteína na dieta dessa espécie varia entre 20 a 45% (Velasco *et al.*, 2000; Kureshy e Davis, 2002; Yun *et al.*, 2016; Lee e Lee, 2018; Hamidoghli *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2019; Tihn *et al.*, 2021). Porém, diferentemente de outras macromoléculas, a proteína ingerida não pode ser estocada para mobilização sob condições de necessidade, o que limita sua utilização apenas para demandas pontuais frente a disponibilidade de aminoácidos para os tecidos, sendo o excedente excretado ou metabolizado em energia através da conversão desses aminoácidos à carboidratos, ácidos graxos, piruvato e intermediários do ciclo de Krebs (Kureshy e Davis, 2002). Isso reduz significativamente a eficiência e a retenção proteica, que se refletem na redução de produtividade (Fraser e Rogers, 2007; Carter e Houlihan, 2001; Mente *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2015).

O efeito economizador da proteína contribui para o aproveitamento eficiente da proteína ofertada na dieta frente à melhor utilização dos carboidratos e lipídios como substratos energéticos, enquanto essa proteína é utilizada prioritariamente para o crescimento e demais processos regulatórios (Hu *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2015; Wen *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2023). Não se observam estudos com uma abordagem direta da atuação de moduladores metabólicos para otimizar o efeito economizador das proteínas em organismos aquáticos. Basicamente, esse conceito tem sido avaliado através da manipulação da concentração de carboidratos, lipídios e proteínas nas dietas, com redução da concentração de proteína, com objetivo de dimensionar o limiar para o efetivo efeito economizador da proteína (Talukdar *et al.*, 2020; Arenas *et al.*, 2021; Wen *et al.*, 2022; Thirunavukkarasar *et al.*, 2022).

A aplicação de fito químicos e biomoléculas como potenciais moduladores metabólicos amplia a capacidade de implementação de dietas mais eficientes econômica e energeticamente (Freitag e Luckstadt, 2007; Abdel-Latif *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2023).

Os efeitos dessas moléculas sob sistemas biológicos são altamente dinâmicos e estão associados à variáveis como o padrão de dose-resposta, o mecanismo metabólico alvo em diferentes órgãos, tecidos ou células, através de mecanismos horméticos (Calabrese, 2013; Calabrese *et al.*, 2015). A hormese é determinada principalmente através de modelos bifásicos de dose-resposta sob padrões de estimulação em doses baixas e inibição em doses altas, ou inibição em doses baixas e estimulação em dose altas. (Calabrese *et al.*, 2015). Alguns estudos demonstram a atuação de moléculas como resveratrol, ácido fumárico, metformina, ácido α -lipóico e acetato de sódio como efetivos moduladores do metabolismo bioenergético em espécies de interesse para aquicultura (Santos *et al.*, 2016; Lobato *et al.*, 2018; Shi *et al.*, 2018; Yu *et al.*, 2021; Ramírez *et al.*, 2023; Ge *et al.*, 2023; Adjoumani *et al.*, 2024).

O resveratrol é um polifenol presente principalmente na casca de uvas escuras e seus subprodutos, cuja atuação em animais a nível de metabolismo biogenético favorece a redução de efeitos negativos de dietas hipercalóricas através da mimetização de uma condição de restrição energética, por intermédio da ativação da proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK) e sirtuina 1 (SIRT -1), as quais representam um dos principais eixos do monitoramento energético e sinalização para processos catabólicos de estoques lipídicos e glicogênicos (Price *et al.*, 2012; Kulkarni e Canto, 2015; Shi *et al.*, 2018; Menoyo *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2021; Meng *et al.*, 2023; Moon, 2023; Mu *et al.*, 2024).

Alguns estudos demonstraram que o resveratrol suplementado em dietas para peixes como *Megalobrama amblycephala*, *Sparus aurata*, *Oncorhynchus mikiss*, *Oreochromis niloticus* e *Micropterus salmoides* promove a modulação efetiva no metabolismo lipídico, glicolítico e proteico dessas espécies, proporcionando a atenuação dos efeitos negativos de formulações com altos níveis de inclusão de carboidratos e lipídios, modulação o perfil de ácidos graxos da carcaça, contribuição para melhores resultados de ganho de peso e produtividade (Torno *et al.*, 2017; Torno *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2017; Shi *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022). No entanto, a administração de doses elevadas de resveratrol na dieta de *Salmo salar* e *Oncorhynchus mikiss* influenciou na redução da ingestão de alimento, comprometendo assim nos resultados de ganho de peso e produtividade final (Menoyo *et al.*, 2019; Torno *et al.*, 2019).

A inclusão de ácidos orgânicos como suplementos nutricionais em dietas formuladas para organismos aquáticos tem se mostrado efetiva em resultados de

crescimento final e produtividade em cultivos de *Oreochromis niloticus* e *Penaeus vannamei*. (Xie *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2015; Rombenso *et al.*, 2020; Das Neves *et al.*, 2021; Da Silva *et al.*, 2023). O ácido fumárico é o precursor do fumarato, o qual atua como molécula intermediária no ciclo de Krebs e impulsiona a geração de poder redutor para posterior síntese de ATP na mitocôndria (Bonara *et al.*, 2012). De acordo com Das Neves *et al.* (2021), a suplementação com ácido fumárico influencia no aumento das vilosidades intestinais em *Oreochromis niloticus*, otimizando a absorção de nutrientes essenciais da dieta.

Logo, o objetivo inicial desse trabalho foi identificar a dose-resposta de resveratrol que expressasse a melhor resposta zootécnica em juvenis de camarão *Penaeus vannamei*. A partir dessa dose obtida, o segundo objetivo foi observar os efeitos da suplementação isolada e combinada de resveratrol com ácido fumárico nos teores de proteínas, lipídios e carboidratos desses animais e, com isso, avaliar o potencial de modulação bioenergética dessas suplementações.

2. Materiais e Métodos

2.1. Infraestrutura

Os experimentos e análises foram conduzidos no Laboratório de Bioquímica Funcional de Organismos Aquáticos (BIFOA) na Estação Marinha de Aquicultura (EMA/IO) da Universidade Federal do Rio Grande - FURG. As pós-larvas (PL) de *Penaeus vannamei* foram obtidos da empresa Aquatech Ltda (Natal/RN) e mantidos em sistema de bioflocos (BFT) durante o berçário até o tamanho de juvenil com 0,5 g (\pm 0,03 g).

2.2. Preparação da ração

A ração utilizada nos experimentos foi a linha para juvenis de camarão marinho da Guabitech, com 40% de proteína, 30% de carboidratos, 10% de extrato etéreo, 10% de umidade, 4% de fibra bruta e 6% de minerais, probióticos, antioxidantes e outros suplementos. O resveratrol (97,33% de pureza) utilizado para a preparação das rações foi adquirido junto ao laboratório Xtreme manipulações, na cidade de Pelotas (RS/Brasil) e teve sua pureza validada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a um detector de varredura de diodo (HPLC-DAD), onde se utilizou como padrão o resveratrol fornecido pela Sigma-Aldrich (PHR2201), seguindo o método proposto por Ji *et al.*

(2014). O ácido fumárico (INS 297) foi adquirido junto a empresa Allimetari da cidade de São Paulo (SP/Brasil).

As rações foram pesadas e dispostas em bandejas de alumínio, com 100 g de ração por bandeja, em uma camada única no fundo dessa bandeja para evitar sobreposição de pellets e espaços de bandeja vazios. Tanto o resveratrol quanto o ácido fumárico foram pesados e diluídos em álcool etílico absoluto (50 ml/kg ração) para então serem borrifados sobre os pellets de acordo com as respectivas concentrações (mg.kg^{-1}), enquanto os controles foram borrifados apenas com álcool etílico absoluto, seguindo os métodos propostos por Hassona *et al.* (2020) e Bulfon *et al.* (2016). Utilizou-se uma proporção de 50 ml de solução por kg de ração para evitar a saturação dos pellets, acúmulo residual de solução no fundo da bandeja e consequente subutilização dos suplementos. Ao final, as bandejas foram colocadas em estufa à 40 °C, durante 24 h para que o álcool presente nos pellets volatilizasse. Logo após, as rações foram armazenadas em freezer à -20°C.

2.3. Procedimento Experimental

2.3.1. Experimento 1

Para o experimento de dose-resposta (experimento 1) foram estocados 15 animais por unidade experimental ($0,5 \text{ g} \pm 0,03 \text{ g}$) preenchida com 25 L de água marinha (salinidade $30 \text{ ppt} \pm 1,42 \text{ ppt}$). Foram definidos cinco grupos com base na concentração de resveratrol suplementada em 1 kg de ração: grupo controle (sem suplementação com resveratrol), grupo 10 mg.kg^{-1} , grupo 60 mg.kg^{-1} , 110 mg.kg^{-1} e grupo 160 mg.kg^{-1} . Cada grupo foi avaliado em três tanques diferentes (tréplicas) (fig. 1).

O ensaio teve 28 dias de duração e diariamente foram avaliados parâmetros de qualidade água como amônia total (mg.TAN.L^{-1}), nitrito (mg.L^{-1}), salinidade (ppt), pH, temperatura (°C), alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3.\text{L}^{-1}$) e oxigênio dissolvido (mg. L^{-1}), com trocas de água parciais para adequação das condições ideais da espécie e retirada de restos de ração não consumida e resíduos.

Foram efetuadas biometrias semanais para acompanhamento dos parâmetros zootécnicos, sendo que a taxa diária de arraçoamento na primeira semana de experimento seguiu o método desenvolvido por Garza de Yta *et al.* (2004), com alimentações em função de uma conversão alimentar esperada de 1,25 e um ganho de peso de 1,5 g por semana. Nas semanas subsequentes, a taxa de arraçoamento seguiu os dados coletados pelas biometrias para aplicação do método proposto por Jory *et al.* (2001), com oferta de ração em função do peso médio (g), porcentagem da biomassa e temperatura do tanque.

Ao final dos 28 dias, os animais foram submetidos à biometria e efetuada uma coleta parcial de 10 animais de cada réplica do grupo controle e grupo com melhor dose resposta, enquanto os demais animais foram eutanasiados para análises subsequentes (fig.1).

2.3.2. Experimento 2

Os resultados obtidos por Silva *et al.* (2015) serviram de referência para a definição da dose de 8,47 g.kg⁻¹ de ácido fumárico utilizada nesse experimento. Logo, a partir dos animais coletados no experimento 1, 10 animais oriundos de cada tanque do grupo controle e da concentração de melhor dose-resposta foram reestocados em novos, distribuídos em unidades experimentais preenchidas com 25 L de água marinha (salinidade 30 ppt ± 2 ppt).

Com três tanques por grupo, foram definidos quatro grupos com base na concentração de resveratrol e ácido fumárico suplementada em 1 kg de ração: grupo controle (C), grupo fumarato (F), grupo resveratrol (R) e grupo resveratrol + fumarato (RF). Os animais estocados nos tanques referentes a C e F foram oriundos do grupo controle do experimento 1, enquanto os animais dos grupos R e RF são oriundos do grupo de melhor dose resposta do Experimento 1 (fig. 1).

O ensaio dois teve 14 dias de duração e diariamente foram avaliados os mesmos parâmetros de qualidade água do experimento 1. Foram efetuadas trocas de água parciais para adequação das condições ideais da espécie e retirada de restos de ração não consumida e resíduos. foram efetuadas biometrias para acompanhamento dos parâmetros zootécnicos e ajustes da taxa diária de arraçoamento, a partir do método proposto por Jory *et al.* (2001), e ao final do período experimental, os animais foram eutanasiados para análises subsequentes (fig. 1).

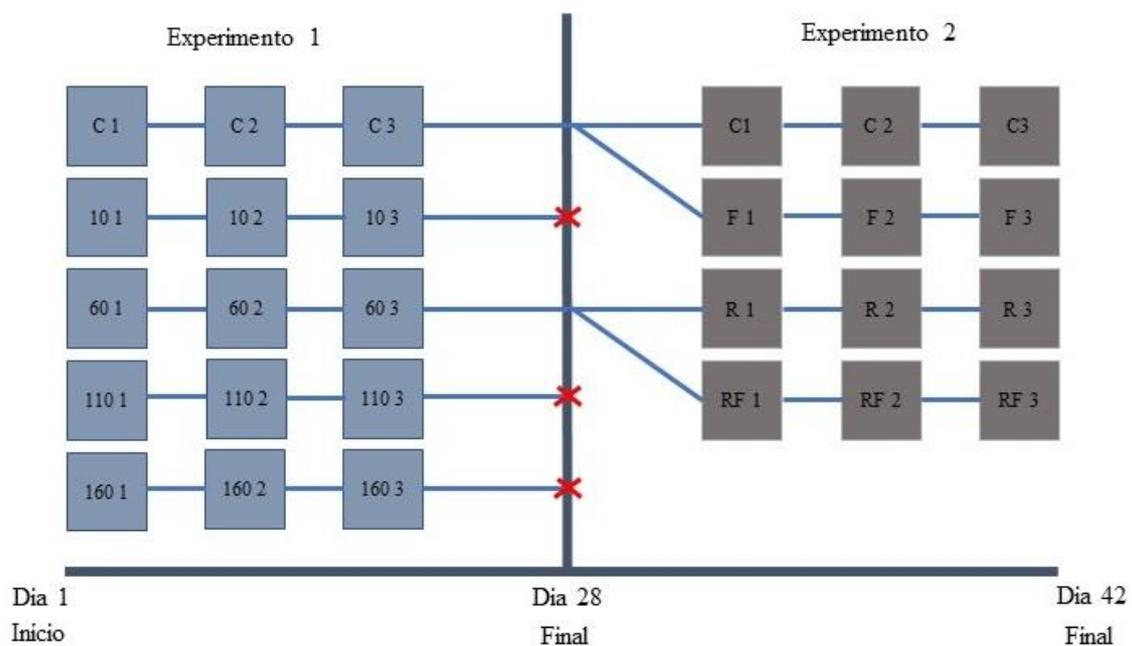


Figura 1. Representação esquemática dos experimentos 1 e 2, com os grupos controle (C) 10 mg.kg⁻¹ (10), 60 mg.kg⁻¹ (60), 110 mg.kg⁻¹ (110) e 160 mg.kg⁻¹ (160) referentes ao experimento 1, os grupos controle (C), fumarato (F), resveratrol (R) e fumarato¹ + resveratrol (RF) experimento 2.

2.4. Análises

Os parâmetros zootécnicos avaliados foram o ganho de peso total, taxa de conversão alimentar (FCR), taxa de crescimento específico (SGR) e sobrevivência. Tanto para na coleta intermediária, quanto na coleta final, foram separados animais para análises da taxa de retenção proteica (PRR) e taxa de eficiência proteica (PER), além de amostragem de hemolinfa e tecidos do músculo e hepatopâncreas para posteriores análises de glicose, colesterol total, triglicerídeos totais, proteínas totais e glicogênio.

Os parâmetros zootécnicos foram avaliados de acordo com as seguintes fórmulas:

Fórmula 1. Sobrevivência:

$$S = \frac{Nf}{Ni} \times 100$$

Onde:

S: Sobrevivência (%.dia⁻¹);

Nf: Número de organismos no final do experimento;

Ni: Número de organismos no início do experimento;

Fórmula 2. Taxa de conversão alimentar:

$$FCR = \frac{Do}{(Bf)}$$

Onde:

FCR: Taxa de conversão alimentar;

Do: Dieta ofertada (g);

Bf: Biomassa final (g);

Fórmula 3. Taxa de crescimento específica:

$$SGR = \left(\frac{\ln Pf - \ln Pi}{t} \right) \times 100$$

Onde:

SGR: Taxa de crescimento específica (%.dia⁻¹);

lnPf: Logarítmo natural do peso final (g);

lnPi: Logarítmo natural do peso inicial (g);

t: Tempo (dias);

Fórmula 4: Ganho de peso total:

$$GPt = GPf - GPi$$

Onde:

GPt: Ganho de peso total (g);

GPf: Peso final (g);

GPi: Peso inicial (g);

Fórmula 5: Taxa de retenção proteica:

$$PRR = \frac{(Pf \times PSf) - Pi \times PSi}{Pt}$$

Onde:

PRR: Taxa de retenção proteica (g);

PSf: Peso seco final da carcaça (g);

Pf: Proteína final da carcaça (g);

PSi: Peso seco inicial da carcaça (g);

Pi: Proteína inicial da carcaça (g);

Pt: Proteína total ingerida (g);

Fórmula 6. Taxa de eficiência proteica:

$$PER = \frac{Gpt}{Pt} \times 100$$

Onde:

PER: Taxa de eficiência proteica (%);

GPt: Ganho de peso total (g);

Pt: Proteína total ingerida (g);

Fórmula 7. Matéria seca:

$$\text{Matéria seca} = \frac{\text{Peso seca}}{\text{Peso úmido}} \times 100$$

2.4.1. Processamento das amostras

As amostras de tecidos do músculo hepatopâncreas e matéria seca da carcaça foram pesadas em microtubos de 2 ml e homogeneizadas em tampão de homogeneização (Tris-base 20 mM, EDTA 1 mM e KCl 150 mM), pH 7,4 e diluição de 1:5 da amostra em tampão. O homogeneizador utilizado foi um sonicador à 50 kHz, com ponteira de 3 mm, em pulsos de 30 segundos por 3-5 min, com as amostras mantidas permanentemente no gelo.

A matéria seca na carcaça foi avaliada na estocagem e no final tanto do experimento 1, quanto no experimento 2. Para isso, foram coletados animais para pesagem e verificação da matéria úmida, secagem em estufa à 60 °C por 4 h e posterior pesagem para obtenção da matéria seca, calculada a partir da fórmula 7.

2.4.2. Análise da concentração de proteínas totais

Para análises da concentração amostral de proteína no músculo, hepatopâncreas, hemolinfa e matéria seca da carcaça foi utilizado o kit Bioclin para proteínas totais (K031). Em microtubos de 1,5 ml, postos em duplicatas, foram adicionados 7,5 µl da amostra homogeneizada, 7,5 µl de tampão de homogeneização nos microtubos do branco e 7,5 µl do padrão de albumina (40 mg.ml⁻¹) nos tubos do padrão. Para completar o meio de reação, adicionou-se 375 µl do monoreagente de Biureto em todos os microtubos que foram então homogeneizados com auxílio de um vórtex para posterior montagem da placa de leitura. Em placas transparentes com 96 poças de fundo liso, foram adicionados 150 µl do meio de reação, com duas poças por microtubo de amostra, branco ou padrão. A absorbância foi mensurada à 550 nm em leitor de microplaca Biotek, Sinergy HT e a

concentração de proteína foi calculada com base na absorvância obtida do padrão e expressa em $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$.

2.4.3. Análise da concentração de glicose

Para análises da concentração amostral de glicose no músculo, hepatopâncreas e hemolinfa foi utilizado o kit Labtest para glicose liquiform (133-1). Em microtubos de 1,5 ml, postos em duplicatas, foram adicionados 5 μl da amostra homogeneizada, 5 μl de tampão de homogeneização nos microtubos do branco e 5 μl do padrão de glicose ($1\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) nos tubos do padrão. Para completar o meio de reação, adicionou-se 500 μl do monoreagente do kit em todos os microtubos que foram então homogeneizados com auxílio de um vórtex, mantidos em banho maria à 37 °C por 30 min para posterior montagem da placa de leitura. Em placas transparentes com 96 poças de fundo liso, foram adicionados 150 μl do meio de reação, com duas poças por microtubo de amostra, branco ou padrão. A placa foi incubada à 37 °C por 10 min antes da leitura da absorvância à 505 nm em leitor de microplaca Biotek, Sinergy HT. A concentração de glicose foi calculada com base na absorvância obtida do padrão e expressa em $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$.

2.4.4. Análise da concentração de glicogênio

Para análise da concentração amostral de glicogênio no músculo e hepatopâncreas, em microtubos de 2 ml, adicionou-se uma alíquota de 180 μl de amostra homogeneizada, 20 μl de solução de hidróxido de sódio 5 M. Na sequência, os microtubos foram colocados em banho maria à 100 °C por 30 min. Após, adicionou-se 50 μl de uma solução supersaturada de sulfato de sódio (Na_2SO_4) e 600 μl de etanol absoluto nas amostras já frias que foram então centrifugadas à 2000 G por 10 min. O sobrenadante resultante foi descartado e os pellets conduzidos para uma estufa à 60 °C por 60 min para volatilização do excesso de álcool. Os pellets já secos foram ressuspensos em 200 μl de água destilada. Em microtubos de 1,5 ml, postos em duplicatas, foram adicionados 50 μl da suspensão obtida na etapa anterior, 50 μl de água destilada nos microtubos do branco e 50 μl do padrão de glicose ($1\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) nos tubos do padrão. Para completar o meio de reação, adicionou-se 120 μl de ácido sulfúrico puro (H_2SO_4) e 60 μl de Fenol 5% em todos os microtubos que foram então homogeneizados com auxílio de um vórtex para posterior montagem da placa de leitura. Em placas transparentes com 96 poças de fundo liso, foram adicionados 150 μl do meio de reação, com duas poças por microtubo de amostra, branco ou padrão. A absorvância foi mensurada à 490 nm em leitor de

microplaca Biotek, Sinergy HT e a concentração de glicogênio foi calculada com base na absorbância obtida do padrão e expressa em $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$.

2.4.5. Análise da concentração de triglicerídeos

Para análises da concentração amostral de triglicerídeos no músculo, hepatopâncreas e hemolinfa foi utilizado o kit Bioclin para triglicerídeos (K117-2). Em microtubos de 1,5 ml, postos em duplicatas, foram adicionados 5 μl da amostra homogeneizada, 5 μl de tampão de homogeneização nos microtubos do branco e 5 μl do padrão de triglicerídeos ($1\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) nos tubos do padrão. Para completar o meio de reação, adicionou-se 500 μl do monoreagente do kit em todos os microtubos que foram então homogeneizados com auxílio de um vórtex para posterior montagem da placa de leitura. Em placas transparentes com 96 poças de fundo liso, foram adicionados 150 μl do meio de reação, com duas poças por microtubo de amostra, branco ou padrão. A absorbância foi mensurada à 500 nm em leitor de microplaca Biotek, Sinergy HT e a concentração de triglicerídeos foi calculada com base na absorbância obtida do padrão e expressa em $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$.

2.4.6. Análise da concentração de colesterol total

Para análises da concentração amostral de colesterol total no músculo, hepatopâncreas e hemolinfa, foi utilizado o kit Labtest para colesterol liquiform (76.1). Em microtubos de 1,5 ml, postos em duplicatas, foram adicionados 5 μl da amostra homogeneizada, 5 μl de tampão de homogeneização nos microtubos do branco e 5 μl do padrão de colesterol ($1\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) nos tubos do padrão. Para completar o meio de reação, adicionou-se 500 μl do monoreagente do kit em todos os microtubos que foram então homogeneizados com auxílio de um vórtex para posterior montagem da placa de leitura. Em placas transparentes com 96 poças de fundo liso, foram adicionados 150 μl do meio de reação, com duas poças por microtubo de amostra, branco ou padrão. A absorbância foi mensurada à 510 nm em leitor de microplaca Biotek, Sinergy HT e a concentração de colesterol foi calculada com base na absorbância obtida do padrão e expressa em $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$.

2.4.7. Processamento dos dados e análise

Os dados obtidos do experimento de dose-resposta foram analisados através análise de variância (ANOVA) de uma via, onde o fator central foi a dose de resveratrol

administrada. Para o experimento com suplementação com resveratrol e ácido fumárico, os dados obtidos foram analisados através de uma ANOVA de duas vias, onde os fatores avaliados foram a presença de resveratrol na ração (fator resveratrol), presença de ácido fumárico na ração (fator fumarato) e a presença simultânea desses suplementos (interação). Os pressupostos de normalidade e homocedasticidade dos dados obtidos de ambos os experimentos foram mensurados por testes de Shapiro-Wilk e Levene respectivamente ($\alpha=0,05$), enquanto para comparação entre as médias se utilizou o teste de *post hoc* Tukey HSD ($p<0,05$).

3. Resultados

3.1. Parâmetros de qualidade de água

Os resultados referentes aos parâmetros de qualidade de água do experimento 1 ao longo dos 28 dias estão listados na Tabela 1, onde não foram obtidas diferenças significativas entre os tratamentos para nenhum dos parâmetros avaliados ($p>0,05$).

Tabela 1. Parâmetros de qualidade da água experimento 1, com os dados expressos como média \pm erro padrão (n=3). Diferentes letras na mesma linha indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, avaliadas pelo teste Tukey HSD, com nível de significância 0,05.

Parâmetros	Tratamentos				
	C	10	60	110	160
Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	5,99 \pm 0,08	6,03 \pm 0,06	6,02 \pm 0,03	5,97 \pm 0,09	6,12 \pm 0,08
Temperatura (°C)	28,6 \pm 0,03	28,3 \pm 0,02	28,8 \pm 0,02	28,8 \pm 0,03	28,7 \pm 0,05
Salinidade (ppt)	29,52 \pm 0,1	28,9 \pm 0,12	29,1 \pm 0,09	29,3 \pm 0,18	29,2 \pm 0,15
pH	7,91 \pm 0,05	8,01 \pm 0,06	7,89 \pm 0,08	7,99 \pm 0,05	8,2 \pm 0,05
Amônia (mg TAN.L ⁻¹)	0,32 \pm 0,19	0,28 \pm 0,21	0,29 \pm 0,25	0,51 \pm 0,26	0,37 \pm 0,24
Nitrito (mg.L ⁻¹)	0,59 \pm 0,16	0,62 \pm 0,15	0,51 \pm 0,25	0,49 \pm 0,19	0,41 \pm 0,17
Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	143,25 \pm 8,9	155,1 \pm 11,6	140,52 \pm 5,62	149,69 \pm 6,52	156 \pm 7,66

Os resultados dos parâmetros de qualidade de água ao longo dos 14 dias do experimento 2 estão listados na Tabela 2, onde não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para nenhum dos parâmetros avaliados ($p>0,05$).

Tabela 2. Parâmetros de qualidade da água experimento 2. O grupo controle é representado pela letra C, fumarato letra F, resveratrol letra R e fumarato+resveratrol RF. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão (n=3), onde diferentes letras na mesma linha indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, avaliadas pelo teste Tukey HSD com nível de significância 0,05.

Parâmetros	Tratamentos			
	C	F	R	RF
Oxigênio Dissolvido (mg. L ⁻¹)	6,01 \pm 0,04	6,08 \pm 0,02	5,89 \pm 0,1	5,92 \pm 0,07
Temperatura (°C)	28,2 \pm 0,01	27,9 \pm 0,06	28,1 \pm 0,04	28 \pm 0,03
Salinidade (ppt)	29 \pm 0,05	28,9 \pm 0,09	28,6 \pm 0,12	29,2 \pm 0,09
pH	8,23 \pm 0,14	7,98 \pm 0,16	8,02 \pm 0,12	8,03 \pm 0,1
Amônia (mg TAN.L ⁻¹)	0,12 \pm 0,06	0,15 \pm 0,05	0,18 \pm 0,05	0,16 \pm 0,04
Nitrito (mg. L ⁻¹)	0,29 \pm 0,23	0,28 \pm 0,18	0,32 \pm 0,16	0,19 \pm 0,12
Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	152,25 \pm 15,32	150,1 \pm 12,61	149,2 \pm 9,62	149,12 \pm 8,52

3.2. Parâmetros zootécnicos e bromatológicos

Os dados de ganho de peso final e FCR do experimento 1 estão representados na Figura 2, onde no tratamento 60 mg/kg⁻¹ se observa o maior ganho de peso dentre grupos experimentais (Fig. 2A) ($p < 0,05$), com ganho de peso máximo estimado em 76,43 mg/kg⁻¹ ($R^2 = 0,6058$), e menor FCR (Fig. 2B) ($p < 0,05$), com menor FCR em 80,72 mg/kg⁻¹ ($R^2 = 0,5259$). Os grupos C, 10, 110 e 160 mg.kg⁻¹ não apresentaram diferenças significativas quanto ao ganho de peso final e FCR ($p > 0,05$) (Fig. 2A e 2B).

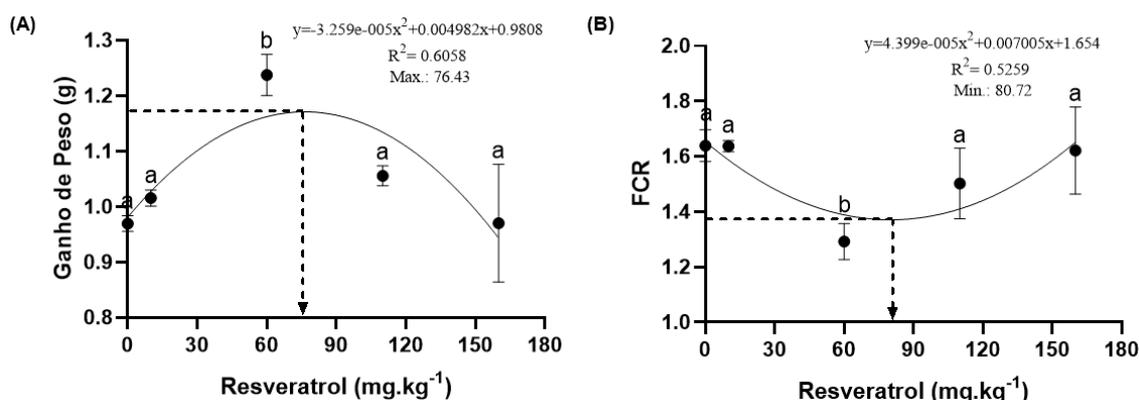


Figura 2. Ganho de peso final (A) e FCR (B) experimento 1, com os dados expressos como média \pm erro padrão (n=15). Diferentes letras indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, avaliadas pelo teste Tukey HSD com nível de significância 0,05.

Os resultados da SGR do experimento 1 estão representados na Tabela 3, onde o grupo 60 mg.kg⁻¹ teve valores superiores em comparação aos grupos C, 10 e 160 mg.kg⁻¹ ($p < 0,05$) e estatisticamente igual ao grupo 110 mg.kg⁻¹ ($p > 0,05$). Para os resultados da PRR do experimento 1 (Tabela 3), no tratamento 60 mg.kg⁻¹ se observa a maior PRR, enquanto o tratamento 10 mg.kg⁻¹, estatisticamente menor que 60, foi maior que C, 110

e 160 mg.kg⁻¹ ($p < 0,05$). Entre os tratamentos C, 110 e 160 mg.kg⁻¹ não se observam diferenças significativas ($p > 0,05$) (Tabela 3).

Quanto aos dados da PER do experimento 1, se observa o aumento significativo no grupo 60 mg.kg⁻¹ em comparação aos grupos C, 10 e 160 mg.kg⁻¹ ($p < 0,05$), enquanto não houve diferença entre os grupos C, 60, 110 e 160 mg.kg⁻¹ ($p > 0,05$) (Tabela 3). Ademais, não houve diferença de sobrevivência entre os tratamentos ao final do experimento 1 ($p > 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Taxa de crescimento específico (SGR) do experimento 1 (n=15). Taxa de retenção proteica (PRR) do experimento 1 (n=3). Taxa de eficiência proteica (PER) do experimento 1 (n=3). Sobrevivência do experimento 1 (n=15). Os dados foram expressos como média \pm erro padrão e os grupos estão representados pelos seus respectivos volumes em mg de resveratrol por unidade kg de ração. Diferentes letras na mesma linha indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, avaliadas pelo teste Tukey HSD com nível de significância 0,05.

Parâmetros	Tratamentos				
	C	10	60	110	160
SGR (%.dia ⁻¹)	3,59 \pm 0,03 ^a	3,893 \pm 0,03 ^a	4,485 \pm 0,05 ^b	4,071 \pm 0,09 ^{ab}	3,855 \pm 0,22 ^a
PRR	28,69 \pm 0,71 ^a	41,004 \pm 0,21 ^b	52,32 \pm 1,53 ^c	28,84 \pm 0,33 ^a	30,80 \pm 0,22 ^a
PER	1,526 \pm 0,03 ^a	1,527 \pm 0,01 ^a	1,938 \pm 0,05 ^b	1,626 \pm 0,05 ^{ab}	1,551 \pm 0,09 ^a
Sobrevivência (%)	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0

No experimento 2, o maior ganho de peso foi observado no tratamento RF frente aos demais tratamentos ($p < 0,05$). O grupo R foi superior aos grupos C e F ($p < 0,05$), enquanto não houve diferença significativa entre C e F ($p > 0,05$) (Tabela 4). Além disso, a menor FCR do experimento 2 foi obtida também no tratamento RF em comparação aos demais tratamentos ($p < 0,05$), com os grupos C, F e R sendo estatisticamente iguais ($p > 0,05$) (Tabela 4).

A maior SGR no experimento 2 foi obtida no tratamento RF ($p < 0,05$) em comparação aos grupos C, F e R (Tabela 4). Em RF também se observa o aumento significativo da PRR em relação aos demais tratamentos ($p < 0,05$), onde o tratamento R, menor estatisticamente que RF ($p < 0,05$), foi maior que C e F, enquanto entre F e R houve diferença. ($p < 0,05$) (Tabela 4). A PER em RF foi significativamente maior em relação a C e F ($p < 0,05$), enquanto entre os grupos C, F e R não houve diferença significativa ($p > 0,05$) (Tabela 4).

Não houve diferença quanto a sobrevivência dentre os tratamentos ao final do experimento 2 ($p > 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4. Ganho de peso do experimento 2 (n=5). Taxa de conversão alimentar (FCR) do experimento 2 (n=15). Taxa de crescimento específico (SGR) do experimento 2 (n=5). Taxa de retenção proteica (PRR) do experimento 2 (n=3). Taxa de eficiência proteica (PER) do experimento 2 (n=3). Sobrevivência do experimento 2 (n=5) Os com dados foram expressos como média \pm erro padrão. O grupo controle é representado pela letra C, fumarato letra F, resveratrol letra R e fumarato+resveratrol RF. Diferentes letras na mesma linha indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, avaliadas pelo teste Tukey HSD com nível de significância 0,05.

Parâmetros	Tratamentos			
	C	F	R	RF
Ganho de peso (g)	1,65 \pm 0,04 ^a	1,93 \pm 0,07 ^a	2,24 \pm 0,06 ^b	2,87 \pm 0,07 ^c
FCR	1,57 \pm 0,03 ^a	1,39 \pm 0,05 ^a	1,34 \pm 0,04 ^a	1,14 \pm 0,03 ^b
SGR (%.dia ⁻¹)	5,33 \pm 0,09 ^a	5,93 \pm 0,13 ^a	5,92 \pm 0,15 ^a	6,99 \pm 0,17 ^b
PRR	16,98 \pm 3,14 ^a	25,36 \pm 1,87 ^a	55,71 \pm 6,27 ^b	74,16 \pm 1,91 ^c
PER	1,58 \pm 0,033 ^a	1,79 \pm 0,064 ^a	1,86 \pm 0,061 ^{ab}	2,18 \pm 0,068 ^b
Sobrevivência (%)	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0

3.3. Concentração de proteínas totais

A análise de proteínas totais das amostras de músculo do experimento 1, representadas na Figura 3A, indicam o aumento significativo da concentração de proteína no grupo 60 mg.kg⁻¹ e redução no grupo 160 mg.kg⁻¹ ($p < 0,05$). Nos dados do hepatopâncreas do experimento 1, se observa um aumento da concentração de proteína no grupo 10 mg.kg⁻¹ em relação ao controle ($p < 0,05$), porém sem diferenças para os demais tratamentos ($p > 0,05$) (Fig. 3B).

Para o experimento 2, a concentração de proteínas aumenta significativamente no grupo RF em relação aos demais tratamentos ($p < 0,05$), enquanto que entre os grupos R, F e C não houveram diferenças significativas ($p > 0,05$) (Fig. 3C). Na análise de concentração de proteínas do hepatopâncreas para o experimento 2 não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$) (Fig. 3D).

Em amostras de hemolinfa do experimento 2, a concentração de proteína diminuiu significativamente no grupo RF em comparação aos demais tratamentos, enquanto entre os grupos R, F e C não se observam diferenças ($p < 0,05$) (Fig. 3E).

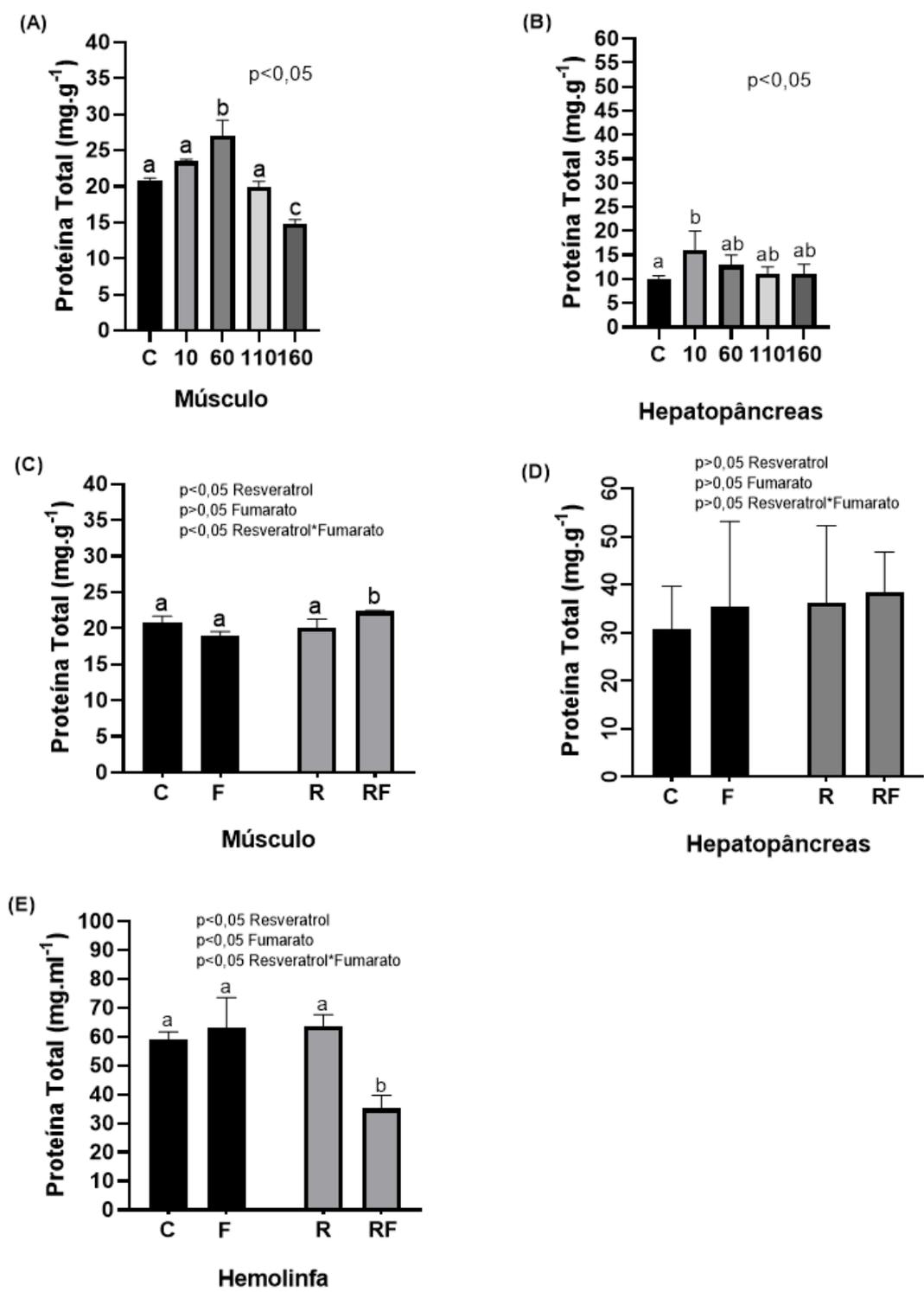


Figura 3. (A) Proteínas totais do músculo (experimento 1), (B) Proteínas totais do hepatopâncreas (experimento 1), (C) Proteínas totais do músculo (experimento 2) (D) Proteínas totais do hepatopâncreas (experimento 2) (E) Proteínas totais da hemolinfa (experimento 2). Os dados foram expressos como média \pm erro padrão (n=3) e no experimento 2: grupo controle (C), grupo fumarato (F), grupo resveratrol (R) e grupo resveratrol+fumarato (RF). Diferentes letras indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, avaliadas pelo teste Tukey HSD com nível de significância 0,05.

3.4. Concentração de triglicerídeos

A análise de concentração de triglicerídeos das amostras de músculo do experimento 1, representadas na Figura 4A, indicam o aumento significativo da concentração de triglicerídeos nos tratamentos 110 e 160 mg.kg⁻¹ ($p < 0,05$), enquanto não houve diferença significativa entre os grupos C, 10 e 60 mg.kg⁻¹ ($p > 0,05$). Para as amostras de hepatopâncreas do experimento 1, se observa um padrão oposto ao músculo, com a significativa redução da concentração de triglicerídeos nos grupos 110 e 160 mg.kg⁻¹, enquanto os grupos C, 10 e 60 mg.kg⁻¹ permanecem iguais ($p > 0,05$). (Fig. 4B).

Para o experimento 2, os tratamentos não diferem quanto a concentração de triglicerídeo do músculo ($p > 0,05$) (Fig. 4C). No hepatopâncreas, o grupo RF foi significativamente superior ($p < 0,05$) aos demais tratamentos, onde praticamente duplicou o seu perfil de triglicerídeos em relação ao grupo R. Entre os tratamentos C, F e R não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) (Fig. 4D).

Em amostras de hemolinfa do experimento 2, a concentração de triglicerídeos diminui significativamente no grupo R e aumenta no grupo RF em comparação aos grupos C e F que permanecerem iguais. ($p < 0,05$) (Fig. 4E).

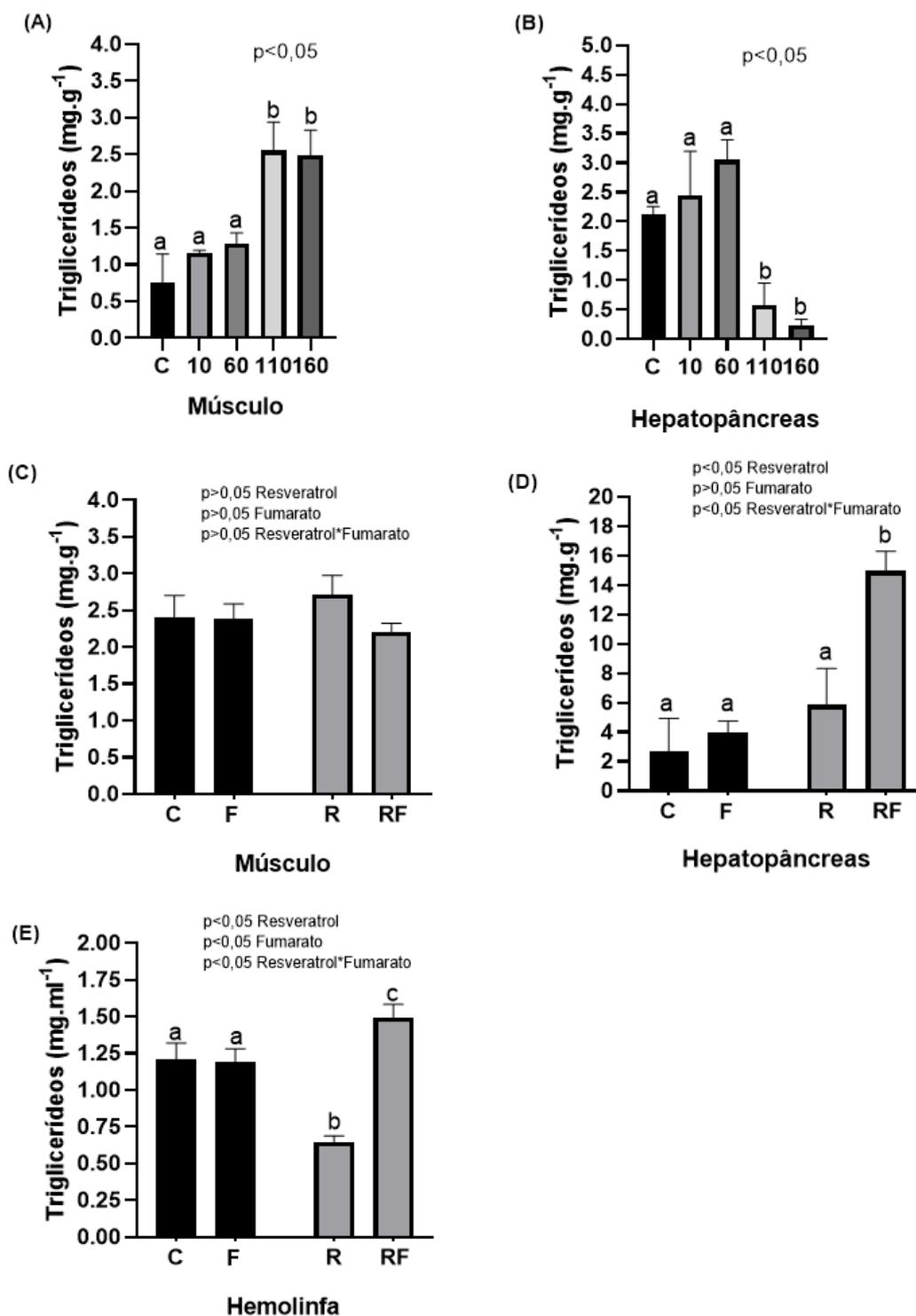


Figura 4. (A) Concentração de triglicerídeos do músculo (experimento 1), (B) Concentração de triglicerídeos do hepatopâncreas (experimento 1), (C) Concentração de triglicerídeos do músculo (experimento 2), (D) Concentração de triglicerídeos do hepatopâncreas (experimento 2) e (E) Concentração de triglicerídeos da hemolinfa (experimento 2). Os dados foram expressos como média \pm erro padrão (n=3) e no experimento 2: grupo controle (C), grupo fumarato (F), grupo resveratrol (R) e grupo resveratrol+fumarato (RF). Diferentes letras indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, avaliadas pelo teste Tukey HSD com nível de significância 0,05.

3.5. Concentração de colesterol total

A análise de concentração de colesterol das amostras de músculo do experimento 1, representadas na Figura 5A, indicam o aumento significativo da concentração de colesterol no tratamento 160 mg.kg⁻¹ em comparação aos grupos C e 60 mg.kg⁻¹ ($p < 0,05$), porém sem diferenças significativas para os grupos 10 e 110 mg.kg⁻¹ ($p > 0,05$). Para as amostras de hepatopâncreas do experimento 1, se observa a redução da concentração de colesterol nos grupos 60 e 160 mg.kg⁻¹ e aumento no grupo 110 ($p < 0,05$) em relação aos grupos C e 10 mg.kg⁻¹, que se mantiveram semelhantes ($p > 0,05$) (Fig. 5B).

Para o experimento 2, a maior concentração de colesterol no músculo é observada no tratamento RF, aproximadamente o dobro do tratamento R ($p < 0,05$) enquanto os tratamentos C, F e R não foram significativamente diferentes (Fig. 5C). No hepatopâncreas o grupo RF foi maior em relação aos demais tratamentos ($p < 0,05$), o grupo F foi superior ao grupo C ($p < 0,05$) e entre R e F não houve diferença na concentração de colesterol ($p > 0,05$) (Fig. 5D).

Em amostras de hemolinfa do experimento 2 o tratamento RF foi significativamente superior aos demais tratamentos ($p < 0,05$), enquanto os tratamentos C, R e RF não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) (Fig. 5E).

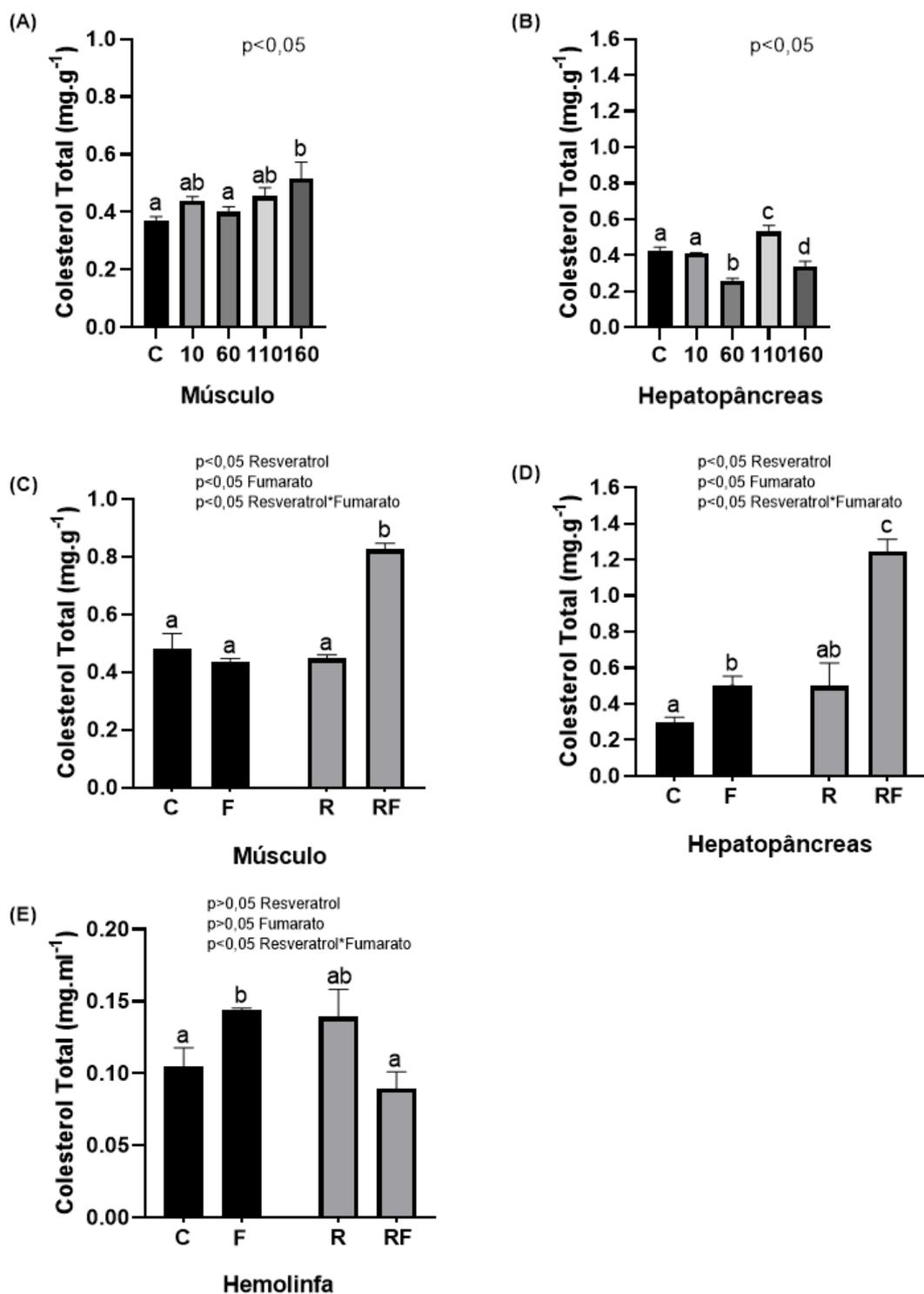


Figura 5. (A) Concentração de colesterol do músculo (experimento 1), (B) Concentração de colesterol do hepatopâncreas (experimento 1), (C) Concentração de colesterol do músculo (experimento 2), (D) Concentração de colesterol do hepatopâncreas (experimento 2), (E) Concentração de colesterol da hemolinfa (experimento 2). Os dados foram expressos como média \pm erro padrão (n=3) e no experimento 2: grupo controle (C), grupo fumarato (F), grupo resveratrol (R) e grupo resveratrol+fumarato (RF). Diferentes letras indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, avaliadas pelo teste Tukey HSD com nível de significância 0,05.

3.6. Concentração de glicose

A análise de concentração de glicose do músculo do experimento 1, representadas na Figura 6A, indicam o aumento significativo da concentração de glicose nos tratamentos 10 e 60 mg.kg⁻¹ em relação aos demais tratamentos ($p < 0,05$). O grupo 160 mg/kg⁻¹ foi menor que o controle ($p < 0,05$), porém sem diferença para o grupo 110 mg.kg⁻¹, enquanto este e o grupo C não apresentaram diferenças ($p > 0,05$). Para as amostras de hepatopâncreas do experimento 1, se observa um aumento significativo na concentração de glicose nos tratamentos 10, 60 e 110 mg.kg⁻¹ ($p < 0,05$) em relação aos grupos C e 160 mg.kg⁻¹, que permaneceram estatisticamente iguais (Fig. 6B).

Para o experimento 2, a maior concentração de glicose no músculo é observada no tratamento RF ($p < 0,05$), enquanto entre os grupos C, F e R não se observam diferenças ($p > 0,05$) (Fig. 6C). No hepatopâncreas a concentração de glicose no grupo RF foi aproximadamente duas vezes maior que os demais tratamentos ($p < 0,05$), os quais não apresentaram diferenças significativas entre si ($p > 0,05$) (Fig. 6D).

Em amostras de hemolinfa do experimento 2, o tratamento RF foi significativamente superior aos demais tratamentos ($p < 0,05$), ao passo que entre os grupos C, F e R não houve diferenças ($p > 0,05$) (Fig. 6E).

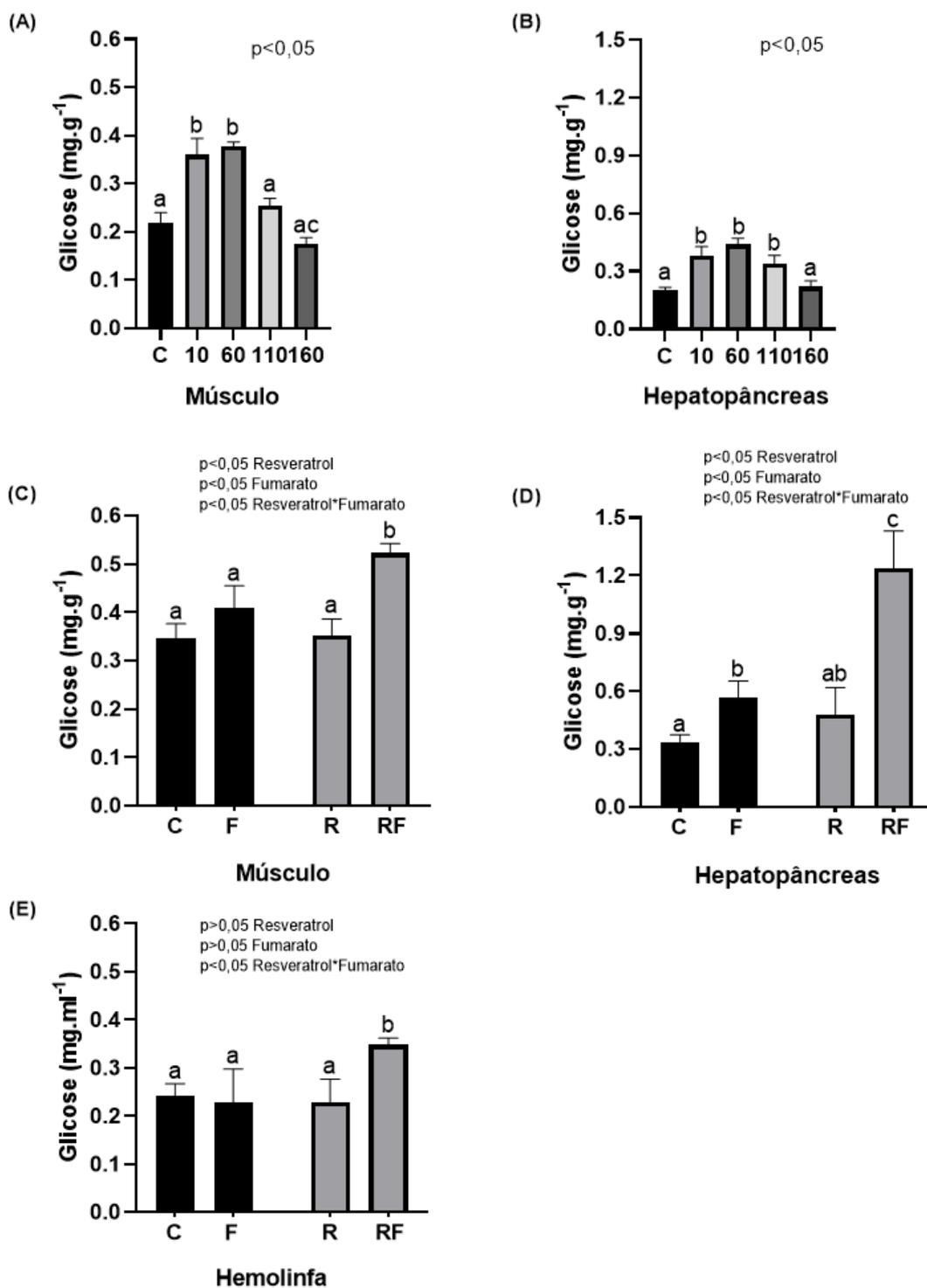


Figura 6. (A) Concentração de glicose do músculo (experimento 1), (B) Concentração de glicose do hepatopâncreas (experimento 1), (C) Concentração de glicose do músculo (experimento 2), (D) Concentração de glicose do hepatopâncreas (experimento 2), (E) Concentração de glicose da hemolinfa (experimento 2). Os dados foram expressos como média \pm erro padrão (n=3) e no experimento 2: grupo controle (C), grupo fumarato (F), grupo resveratrol (R) e grupo resveratrol+fumarato (RF). Diferentes letras indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, avaliadas pelo teste Tukey HSD com nível de significância 0,05.

3.7. Concentração de glicogênio

A análise de concentração de glicogênio do músculo do experimento 1, representadas na Figura 7A, indicam o aumento significativo da concentração de glicogênio no tratamento 10 mg.kg⁻¹ ($p < 0,05$) e redução no tratamento 110 mg.kg⁻¹ ($p < 0,05$) em relação aos demais tratamentos que não apresentaram diferenças entre si ($p > 0,05$). Para as amostras de hepatopâncreas do experimento 1, se observa a redução na concentração de glicogênio nos tratamentos 110 e 160 mg.kg⁻¹ ($p < 0,05$), enquanto C, 10 e 60 mg.kg⁻¹ permaneceram iguais (Fig. 7B).

Para o experimento 2, se observa a redução da concentração de glicogênio no músculo dos tratamentos F e RF, sendo F significativamente menor que RF ($p < 0,05$), enquanto C e R não foram significativamente diferentes ($p > 0,05$) (Fig. 7C). No hepatopâncreas, assim como no músculo, a concentração de glicogênio em F e RF foi menor que os demais tratamentos, porém o tratamento RF foi menor que o tratamento F, ($p < 0,05$). Os grupos C e R permaneceram iguais quanto a sua concentração de glicogênio ($p < 0,05$) (Fig. 7D).

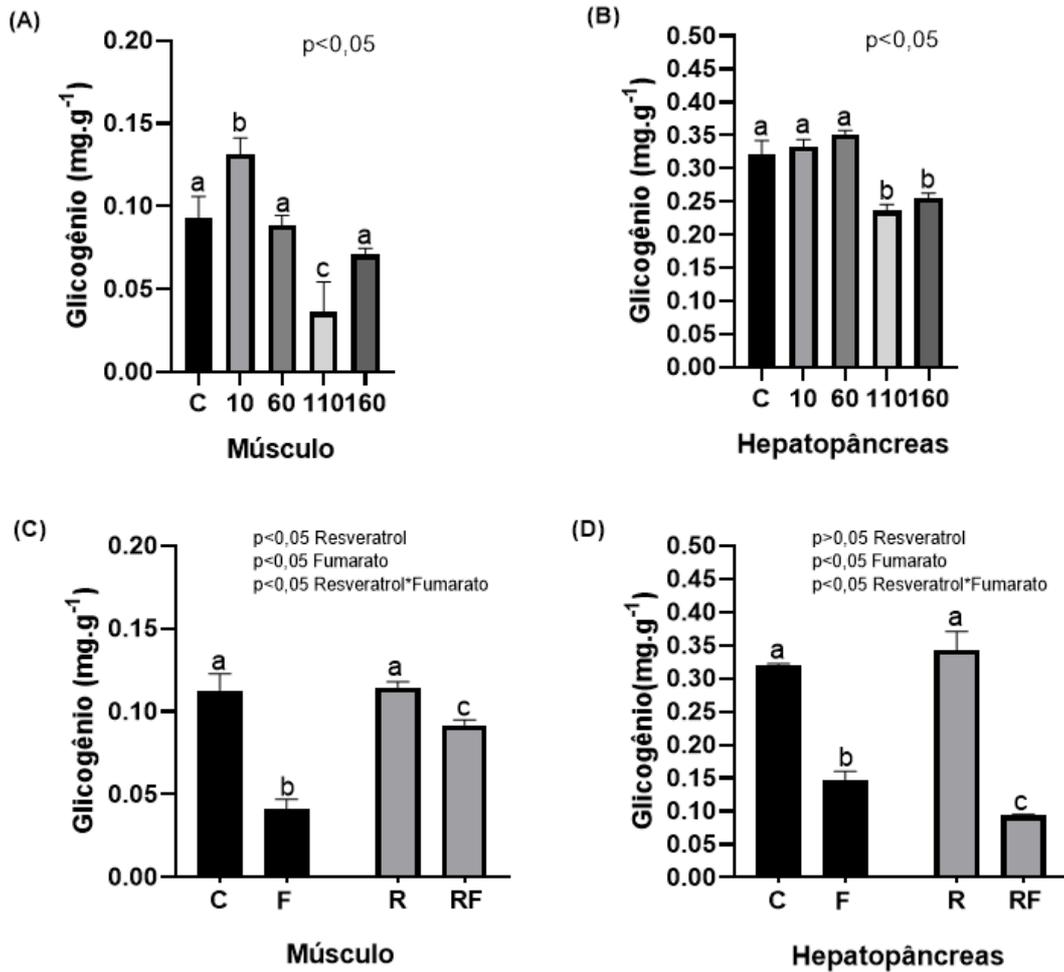


Figura 7. (A) Concentração de glicogênio do músculo (experimento 1), (B) Concentração de glicogênio do hepatopâncreas (experimento 1), com dados expressos como média \pm erro padrão (n=3). (C) Concentração de glicogênio do músculo (experimento 2), (D) Concentração de glicogênio do hepatopâncreas (experimento 2). Os dados foram expressos como média \pm erro padrão (n=3) e no experimento 2: grupo controle (C), grupo fumarato (F), grupo resveratrol (R) e grupo resveratrol+fumarato (RF). Diferentes letras indicam diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, avaliadas pelo teste Tukey HSD com nível de significância 0,05.

4. Discussão

Muitos trabalhos indicam o resveratrol como um modulador efetivo do metabolismo bioenergético em roedores, aves, suínos e peixes, porém pouco tem sido explorado em relação a crustáceos e outros invertebrados (Zhang *et al.*, 2017; Sun *et al.*, 2019; Rašković *et al.*, 2019; Ge *et al.*, 2023; Meng *et al.*, 2023).

Liu *et al.* (2021) observaram que níveis de inclusão de 80 e 120 mg.kg⁻¹ de resveratrol em dietas formuladas para o camarão *Penaeus vannamei* influenciam positivamente o sistema de defesa antioxidante desses animais sob condições de estresse induzido por níveis elevados de amônia no meio. Para o peixe *Channa argus*, inclusões

entre 75 e 125 mg.kg⁻¹ de resveratrol contribuíram para os melhores resultados de SGR, ganho de peso final (Tian *et al.*, 2021). Logo, a partir dos dados obtidos no experimento de dose-reposta, onde o melhor ganho de peso final, SGR e FCR foi no tratamento 60 mg.kg⁻¹ e a igualdade dos demais tratamentos na curva (Figura 1 e Tabela 3) evidenciam uma resposta hormética do resveratrol no resultado zootécnico para essa espécie, com máximo crescimento em 76,53 mg.kg⁻¹ e FCR em 80,72 mg.kg⁻¹ diferentemente de Fu *et al.* (2024), o qual sugere que a suplementação com 400 mg.kg⁻¹ de resveratrol em dietas extrusadas para juvenis de camarões brancos (0,4 g ± 0,02) favorecem o aumento significativo do ganho de peso final (g) e SGR. A estabilidade térmica do resveratrol pode ser comprometida em temperaturas elevadas por um período prolongado de tempo (Kosovic *et al.*, 2020). Logo, a adição de 400 mg.kg⁻¹ em uma dieta extrusada pode não representar uma dose final de 400 mg.kg⁻¹.

Sob um aspecto prático de inclusão do resveratrol e ácido fumárico nas rações experimentais, o método utilizado se mostrou eficiente e viável para ser utilizado em larga escala. Alguns estudos exploram essa metodologia e reforçam sua eficiência e praticidade (Mirbakhs *et al.*, (2020), Hassona *et al.* (2020) e Bulfon *et al.* (2016). O método de inclusão de compostos bioativos e nutracêuticos diretamente na formulação da ração, cujo processamento e extrusão, podem alterar substancialmente as propriedades dessas biomoléculas, em sua maioria termo sensíveis (Wang *et al.*, 2022; Pismag *et al.*, 2024).

Em relação a suplementação com ácido fumárico, de acordo com Silva *et al.* (2015), dietas suplementadas com 8,47 g.kg⁻¹ melhoram significativamente a digestão, o ganho de peso, SGR e FCR de juvenis de *Penaeus vannamei*, em comparação com outros ácidos orgânicos como succinato, acetado, butirato, propionato, lactato e citrato. Além disso, a suplementação de dietas de tilápias (*Oreochromis niloticus*) com 15 g.kg⁻¹ ácido fumárico promove o aumento significativo do ganho de peso final principalmente por influenciar positivamente a digestibilidade e a absorvidade de macronutrientes no epitélio intestinal, além de contribuir como intermediário do ciclo de Krebs em reações do metabolismo glicolítico (Das Neves *et al.*, 2021). Para o camarão *Penaeus monodon*, Rombenso *et al.* (2020) observaram o efeito positivo da suplementação com 10 g.kg⁻¹ de butirato, succinato e fumarato na sobrevivência, ingestão de alimento, produtividade e eficiência da retenção de nutrientes.

Alguns autores identificaram um efeito negativo da suplementação com doses elevadas de resveratrol, acima de 400 mg.kg⁻¹, em dietas para *Salmo salar* e *Megalobrama amblycephala* na ingestão de alimento e consequente inibição do

crescimento, possivelmente pela redução da palatabilidade da ração (Zhang *et al.*, 2017; Menoyo *et al.*, 2019). A inclusão de 300 mg.kg⁻¹ de resveratrol na dieta de *Oncorhynchus mykiss* contribui para a redução da ingestão de alimento em virtude de uma saciedade prematura. (Torno *et al.* 2017, 2019). Por outro lado, o ácido fumárico tem sido usado amplamente como suplemento em culturas para porcos e frangos, onde uma das suas propriedades é a amplificação da palatabilidade das dietas (Huyghebaert *et al.*, 2011; Suiryanrayna e Ramana, 2015). Nesse contexto, o ácido fumárico pode estar atuando na redução dos possíveis efeitos negativos associados ao resveratrol, além de aumentar a palatabilidade da dieta e melhorar a digestibilidade dos nutrientes.

Quanto ao metabolismo da proteína, de acordo com Salomão *et al.* (2019), o resveratrol promove o aumento do crescimento a partir modulação do metabolismo de aminoácidos em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Além disso, Wilson *et al.* (2015) observaram um efeito positivo da suplementação com resveratrol no ganho de peso e redução da degradação da proteína muscular em linguados (*Paralichthys lethostigma*). Como se observou no experimento 1, o resveratrol em 60 mg.kg⁻¹ contribui efetivamente para o aumento da proteína muscular, PER e PRR no camarão *Penaeus vannamei*, o que indica a efetiva contribuição para o melhor aproveitamento desse substrato para construção de biomassa.

No experimento 2 esse efeito é amplificado pela suplementação combinada de ácido fumárico e resveratrol (tratamento RF), onde o aumento da proteína no músculo associada a redução de concentração de proteína na hemolinfa nesse grupo indicam o fluxo do nutriente absorvido da circulação para os tecidos. Os maiores resultados de PER e PRR também em RF reforçam o resultado obtido da concentração muscular, demonstrando que a proteína ingerida está sendo retida nos tecidos sendo economizada diante das demandas por energia.

A concentração de triglicerídeos no músculo e fígado são indicadores confiáveis da eficiência e equilíbrio alimentar, onde o excesso de reservas indica um desequilíbrio nutricional e podem comprometer a sobrevivência do animal (Wang *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2017; Pallauf *et al.*, 2021; Zheng *et al.*, 2022). A inclusão de resveratrol em dietas experimentais para ratos impulsiona e otimiza a captação de ácidos graxos da circulação, biogênese mitocondrial e a β -oxidação no músculo esquelético (Chen *et al.*, 2011). Em tilápias (*Oreochromis niloticus*) e zebrafish (*Danio rerio*) o resveratrol auxilia na modulação do metabolismo lipídico, reduzindo a concentração de triglicerídeos circulatórios e hepáticos, atenuando danos associados a dietas altamente calóricas (Ran

et al., 2017; Zheng *et al.*, 2022). Além disso, Xu *et al.* (2022) demonstrou que o resveratrol modula efetivamente o metabolismo de triglicerídeos no fígado de carpas (*Cyprinus carpio*) através da inibição de vias metabólicas associadas à lipogênese.

O experimento 1 mostra a atuação do resveratrol na redução de triglicerídeos no hepatopâncreas em doses elevadas, mesmo que isso não se reflita em ganho de peso. Isso indica uma sensibilidade diferencial dentre os diferentes tecidos ao resveratrol, cuja atuação pode reduzir os efeitos negativos de uma dieta mais calóricas. No entanto, o aumento das reservas musculares diante de uma taxa de crescimento baixa, demonstra a ineficiência dessas doses em modular a conversão desse substrato em energia para sustentar o crescimento.

Entretanto, a suplementação combinada do ácido fumárico e resveratrol (Grupo RF), além de promover altas taxas de crescimento, elevou a concentração de triglicerídeos no hepatopâncreas e hemolinfa, o que indica um desequilíbrio nutricional e a modulação ineficiente do metabolismo lipídico e a mobilização preferencial de reservas glicogênicas nesse tecido para suprimento energético. No entanto, quando considerada a concentração de triglicerídeos no músculo, a ausência de diferença entre os tratamentos sugere que as reservas musculares de triglicerídeos no grupo RF estão abastecendo bioenergeticamente o rápido e significativo crescimento desse tratamento.

Crustáceos, de uma forma geral, não são capazes de promover a síntese *de novo* de colesterol, o que restringe a captação desse macronutriente exclusivamente da dieta. O colesterol atua como precursor dos hormônios esteroides os quais modularam diretamente o ciclo de ecdise e reprodução. Além disso, o colesterol é fundamental na manutenção estrutural da membrana plasmática, juntamente com os fosfolipídios, os quais atenuam os efeitos adversos do estresse térmico e osmótico, por exemplo (Teshima *et al.*, 1997; Yang *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2018).

Inúmeros estudos relacionam a capacidade do resveratrol de modular o metabolismo lipídico através da redução das concentrações circulatórias e teciduais de triglicerídeos e colesterol (Torno *et al.*, 2017; Desouky *et al.*, 2023; Ge *et al.*, 2023). Logo, como se pode observar nos resultados do experimento 1, a dose de melhor resposta zootécnica (60 mg.kg⁻¹) efetivamente contribuiu para a redução concentração de colesterol hepatopancreáticas, assim como a maior dose (160 mg.kg⁻¹). Isso indica que esse colesterol pode estar sendo mobilizado do hepatopâncreas para atender as demandas anabólicas teciduais. No entanto isso, não se refletiu de forma linear no ganho de peso final, visto que a redução da concentração de colesterol no hepatopâncreas e aumento no

músculo do grupo 160 mg.kg⁻¹ não contribuíram efetivamente para o ganho de peso final nesse grupo, enquanto no grupo 60 mg.kg⁻¹, com maior ganho de peso final, não se observa o aumento significativo do colesterol muscular.

Na sequência do experimento 2, o aumento significativo da concentração de colesterol no músculo e hepatopâncreas no grupo RF associada a redução da concentração circulatória evidenciam a eficiência da suplementação combinada para captação do colesterol circulante e que possivelmente influenciou o ganho muscular, principalmente. No entanto, por ser um componente essencial em lipoproteínas que promovem a absorção de triglicerídeos da circulação, o aumento da concentração de colesterol normalmente está relacionado ao aumento da concentração de triglicerídeos tecidual (Zhang *et al.*, 2019). Logo, pode-se observar uma proporcionalidade no aumento das concentrações de triglicerídeos e colesterol no tratamento RF, principalmente a nível de hepatopâncreas, o que indica a subutilização dos lipídios como substratos energéticos.

Muitos trabalhos abordam a capacidade do resveratrol em modular o metabolismo glicolítico em espécies de interesse para aquicultura. No entanto, não se observam investigações concretas em relação a aplicação dessa ferramenta na nutrição do camarão *Pennaeus vannamei*. Liu *et al.* (2022), em *Micropterus salmoides*, e Shi *et al.* (2018), em *Megalobrama amblycephala*, demonstraram que dietas suplementadas com resveratrol impulsionam significativamente a ativação da via metabólica da AMPK/SIRT-1, o que aumenta a sensibilidade à insulina e mobilização de reservas de glicogênio hepáticas como substrato energético. De acordo com Moon (2023), o resveratrol melhora captação de glicose circulatória a partir do aumento da mobilização de canais de glicose tanto no músculo (GLUT 2), quanto no fígado (GLUT 4), o que auxilia na manutenção da homeostase glicêmica.

Diante disso, a concentração de glicose no músculo e hepatopâncreas dos animais do experimento 1 demonstrou uma resposta hormética para as concentrações intermediárias de resveratrol, onde se observa a correlação positiva entre o maior ganho de peso final e a concentração de glicose nesses tecidos. Ao se analisar a resposta na concentração de glicogênio em ambos os tecidos também em doses intermediárias pode-se observar a baixa acumulação mesmo com o maior ganho de peso no tratamento 60 mg.kg⁻¹, o que sugere um metabolismo glicolítico ativo no sentido de utilizar essa glicose que está sendo captada da circulação para suprimento energético.

Ao longo do experimento 2, a suplementação com ácido fumárico e a combinação entre os suplementos foram fatores os fatores que influenciaram diretamente no

metabolismo glicolítico dos animais cultivados. No grupo RF, o aumento da concentração de glicose na hemolinfa, músculo e hepatopâncreas, associado à redução do glicogênio muscular e hepatopancreático indicam um metabolismo glicolítico eficiente, principalmente quando se associa esse padrão metabólico aos melhores resultados zootécnicos, ganho de proteína muscular, PER e PERR obtidos nesse tratamento. Além disso, demonstra a efetiva capacidade do resveratrol e do ácido fumárico em modularem o metabolismo bioenergético do camarão *Penaeus vannamei*.

5. Conclusões

A dosagem de 60 mg.kg⁻¹ é a dose mais eficaz para atuação como moduladora do metabolismo energético nessa espécie. Além disso, o resveratrol expressa um padrão de resposta hormético, o que reforça a resposta positivo em concentrações intermediárias. Além disso, a suplementação combinada entre resveratrol e ácido fumárico foi altamente eficiente na modulação do metabolismo bioenergético do camarão *Penaeus vannamei*. Isso se mostra evidente principalmente no ganho de peso final, SGR e FCR em RF, onde em 14 dias os animais ganharam praticamente três gramas de peso, com uma FCR de 1,14 e SGR de 7% ao dia.

A convergência entre os resultados da concentração de proteína, triglicerídeos, colesterol, glicose e glicogênio no músculo, hepatopâncreas e hemolinfa sugerem o aproveitamento preferencial dos carboidratos presentes na dieta como substrato energético no tratamento RF. Logo, através do mecanismo economizador da proteína, o animal investiu essa proteína da dieta majoritariamente no crescimento, o que se refletiu principalmente na maior taxa de retenção proteica e eficiência proteica.

6. Perspectivas

Como perspectiva para aplicação efetiva dos resultados obtidos, se fazem necessárias complementações com testes sob diferentes níveis de inclusão de carboidratos em dietas experimentais, aplicação de possíveis períodos de restrição calórica para estímulo do crescimento compensatório frente a dietas suplementadas, além da ampliação do número de marcadores metabólicos avaliados para que se possa compreender o amplo espectro de atuação desses moduladores frente ao metabolismo bioenergético desses animais.

7. Referências

Abdel-Latif, H.M.R., Yilmaz, S., Kucharczyk, D., 2023. Editorial: Functionality and applications of phytochemicals in aquaculture nutrition. *Front Vet Sci.* May 26; 10:1218542. doi: 10.3389/fvets.2023.1218542. PMID: 37303733; PMCID: PMC10250716.

Adjoumani, J.Y., Abasubong, K.P. Zhang, L., 2024. Metformin attenuates high-carbohydrate diet-induced redox imbalance, inflammation and mitochondrial dysfunction in *Megalobrama amblycephala*, 13 March, Preprint (Version 1) available at Research Square (<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4003913/v1>)

Arenas, M., Álvarez-González, C.A., Barreto, A., Sánchez-Zamora, A., Suárez-Bautista, J., Cuzon, G., Gaxiola, G., 2021. Physiological and metabolic protein-sparing effects of dietary lipids on common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 27(4), pp.1089-1102. <https://doi.org/10.1111/anu.13250>

Ayisi, C.B., Hua, X., Afriyie, A.A.G., Kyei, B., 2017. Recent studies toward the development of practical diets for shrimp and their nutritional requirements. *HAYATI Journal of Biosciences*, Volume 24, Issue 3, Pages 109-117, ISSN 1978-3019, <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2017.09.004>

Bonora, M., Patergnani S., Rimessi, A., De Marchi, E., Suski, J.M., Bononi, A., Giorgi, C., Marchi, S., Missiroli, S., Poletti, F., Wieckowski, M.R., Pinton, P., 2012. ATP synthesis and storage. *Purinergic Signal*, Sep;8(3):343-57. doi: 10.1007/s11302-012-9305-8. Epub 2012 Apr 12. PMID: 22528680; PMCID: PMC3360099.

Bulfon, C., Bongiorno, T., Messina, M., Volpatti, D., Tibaldi, E., Tulli, F., 2017. Effects of Panax ginseng extract in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on growth performance, immune response and resistance to *Yersinia ruckeri*. *Aquaculture Research*, 48(5), 2369-2379. doi:10.1111/are.13072

Calabrese E. J., 2013. Hormetic mechanisms. *Critical Reviews in Toxicology*, 43(7), 580–606. <https://doi.org/10.3109/10408444.2013.808172>

Calabrese, E. J., Dhawan, G., Kapoor, R., Iavicoli, I., Calabrese, V., 2015. Hormesis: a fundamental concept with widespread biological and biomedical applications. *Gerontology*, 62(5), 530–535. doi:10.1159/000441520

Carter, C. G., Houlihan, D. F., 2001. Protein synthesis. In *Fish Physiology: Nitrogen Excretion*, Vol. 20 (P. A. Wright and P. M. Andersen, eds), pp. 31–75. Academic Press, London.

Chen, L. L., Zhang, H. H., Zheng, J., Hu, X., Kong, W., Hu, D., Wang, S. X., Zhang, P., 2011. Resveratrol attenuates high-fat diet-induced insulin resistance by influencing skeletal muscle lipid transport and subsarcolemmal mitochondrial β -oxidation. *Metabolism*, 60(11), pp.1598-1609. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2011.04.002>

Cuzon, G., Rosas, C., Gaxiola, G., Taboada, G., Van Wormhoudt, A., 2000. Utilization of carbohydrates by Shrimp. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán.

Cuzon, G., Lawrence, A., Gaxiola, G., Rosas, C. and Guillaume, J., 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture*, 235(1-4), pp.513-551. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.12.022>

Das Neves, S. C. V., Da Silva, S. M. B. C., Costa, G. K. A., Correia, E. S., Santos, A. L., Da Silva, L. C. R., Bicudo, Á.J.A., 2021. Dietary supplementation with fumaric acid improves growth performance in Nile tilapia juveniles. *Animals*, Dec .21;12(1):8. doi: 10.3390/ani12010008. PMID: 35011114; PMCID: PMC8744612.

Da Silva, V. G., Favero, L. M., Mainardi, R. M., Ferrari, N. A., Chideroli, R. T., Di Santis, G. W., De Pádua Pereira, U., 2023. Effect of an organic acid blend in Nile tilapia growth performance, immunity, gut microbiota, and resistance to challenge against francisellosis. *Research in Veterinary Science*, 159, 214-224. PMID: 37167686 doi: 10.1016/j.rvsc.2023.04.019

Desouky, H. E., Jiang, G. Z., Abasubong, K. P., Dai, Y. J., Yuan, X., Adjoumani, J. J. Y., Liu, W. B., 2023. Plant-Based Additives Improved the Growth Performance and Immune Response, and Mitigated the Inflammatory Signaling in Channel Catfish Fed a High-Fat Diet. *Aquaculture Research*, (1), 3525041. <https://doi.org/10.1155/2023/3525041>

Emerenciano, M. G. C., Rombenso, A. N., Vieira, F. D. N., Martins, M. A., Coman, G. J., Truong, H. H., Noble, T. H., Simon, C. J., 2022. Intensification of penaeid shrimp culture: an applied review of advances in production systems, nutrition and breeding. *Animals (Basel)*. Jan 19;12(3):236. doi: 10.3390/ani12030236. PMID: 35158558; PMCID: PMC8833552.

Fraser, K. P., Rogers A. D., 2007. Protein metabolism in marine animals: the underlying mechanism of growth. *Advances in Marine Biology*, 2007; 52:267-362. doi: 10.1016/S0065-2881(06)52003-6. PMID: 17298892.

Freitag, M. E. C. H. T. H. I. L. D., Lückstädt, C., 2007. Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry. *Acidifiers in Animal Nutrition*, 31(2), pp.131-139. *Nottingham University Press*; 1st edition.

Fu, Z., Shi, L., Chen, J., Yuan, H., Zheng, Y., Li, G., Ke, S., Zhang, S., 2025. Effects of dietary resveratrol supplementation on the growth, immunity, intestinal health, and transcriptome response of *Litopenaeus Vannamei*. *Aquaculture*, Volume 597,741927. SSRN: <https://ssrn.com/abstract=4873846> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4873846>

Garza de Yta, A., Rouse, D. B., Davis, D.A. 2004. Influence of nursery period on the growth and survival of *Litopenaeus vannamei* under pond production conditions. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 35, n. 3, p. 357-365. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2004.tb00099.x>.

Ge, Y., Zhang, L., Chen W, Sun M, Liu W, Li X., 2023. Resveratrol modulates the redox response and bile acid metabolism to maintain the cholesterol homeostasis in fish *Megalobrama amblycephala* offered a high-carbohydrate diet. *Antioxidants (Basel)*. Jan 3;12(1):121. doi: 10.3390/antiox12010121. PMID: 36670983; PMCID: PMC9854748.

Gonzalez-Félix, M. L., Gatlin, D. M., Lawrence, A. L., Perez-Velazquez, M., 2002. Effect of various dietary lipid levels on quantitative essential fatty acid requirements of juvenile pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33, 330–340. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2002.tb00509.x>

Ghosh, A. K., 2018. Effect of feeding level on growth, body composition, fatty acid profile, and nutrient accumulation in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture International*, 26, pp.405-417. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0225-z>

Hamidoghli, A., Yun, H., Shahkar, E., Won, S., Hong, J., Bai, S.C., 2018. Optimum dietary protein-to-energy ratio for juvenile whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in a biofloc system. *Aquaculture Research*, 49(5), pp.1875-1886. <https://doi.org/10.1111/are.13643>

Hassona, N. N., Zayed, M. M., Eltras, W. F., Mohamed, R. A., 2020. Dietary supplementation of *Tribulus terrestris* extract improves growth and reproductive

performances of the male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research*, () are.14767–. doi:10.1111/are.14767

Hu, Y., Tan, B., Mai, K., Ai, Q., Zheng, S., Cheng, K., 2008. Growth and body composition of juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed different ratios of dietary protein to energy. *Aquaculture Nutrition*, 14(6), pp.499-506. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00555.x>

Huyghebaert, G., Ducatelle, R., Van Immerseel, F., 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal*, 187(2), pp.182-188. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.03.003>

Ji, M., Li, Q., Ji, H., Lou, H., 2014. Investigation of the distribution and season regularity of resveratrol in *Vitis amurensis* via HPLC-DAD-MS/MS. *Food Chemistry*, 142, 61–65. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.131>

Joffre, O.M., Klerkx, L., Khoa, T.N.D., 2018. Aquaculture innovation system analysis of transition to sustainable intensification in shrimp farming. *Agron. Sustain. Dev.* 38, 34. <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0511-9>

Jory, D., Cabrera, T., Dugger, D., Fegan, D., Berger, C., Orrantia, J., Evans, L. 2001. A global review of shrimp feed management: status and perspectives. *Aquaculture 2001: Book of Abstracts*. 318.

Kaushik, S.J., Schrama, J.W., 2022. Bioenergetics. *In Fish Nutrition* (pp. 17-55). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819587-1.00011-2>

Kosović, E., Topiař, M., Cuřínová, P., & Sajfrtová, M., 2020. Stability testing of resveratrol and viniferin obtained from *Vitis vinifera* L. by various extraction methods considering the industrial viewpoint. *Scientific Reports*, 10(1), 5564. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62603-w>

Kulkarni S. S., Canto, C., 2015. The molecular targets of resveratrol. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1852:1114–1123. doi: 10.1016/j.bbadis.2014.10.005.

Kumar, V., Sinha, A.K., Romano, N., Allen, K.M., Bowman, B.A., Thompson, K.R., Tidwell, J.H., 2018. Metabolism and nutritive role of cholesterol in the growth, gonadal development, and reproduction of crustaceans. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26(2), pp.254-273. <https://doi.org/10.1080/23308249.2018.1429384>

Kureshy, N., Davis, D.A., 2002. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, Volume 204, Issues 1–2, 2002, Pages 125-143, ISSN 0044-8486, [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00649-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00649-4)

Lee, C., Lee, J. K., 2018. Dietary protein requirement of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in three different growth stages. *Fisheries and Aquatic Sciences*. 21: 30. doi.org/10.1186/s41240-018-0105-0.

Li, S., Wang, J., Xiong, Y., Zheng, J., Zhou, D., Zhao, J., Ding, Z., 2023. Protein-sparing effect of α -lipoic acid in diets with different protein/carbohydrate ratios for the oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense*. *Aquaculture Research* (1), p.5614359. <https://doi.org/10.1155/2023/5614359>

Lim, C., Ako, H., Brown, C. L., Hahn, K., 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. *Aquaculture*, 151(1-4), 143-153. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01500-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01500-1)

Liu, C., Wang, X., Zhou, H., Mai, K., He, G., 2019. Recent advances in amino acid sensing and new challenges for protein nutrition in aquaculture. *Marine Life Science and Technology* 1, 50–59 (2019). <https://doi.org/10.1007/s42995-019-00022-1>

Liu, H., Yang, Z., Huang, Y., Yang, S., Huang, Y., Cai, S., Jian, J., 2021. Dietary resveratrol attenuates oxidative stress in Pacific whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in response to ammonia stress. *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgah*, IJA.73.2021.1401912, 10 pagesCCBY-NC-ND-4.0 <https://doi.org/10.46989/001c.22219>

Liu, Y., Liu, N., Wang, A., Chen, N. and Li, S., 2022. Resveratrol inclusion alleviated high-dietary-carbohydrate-induced glycogen deposition and immune response of largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *British Journal of Nutrition*, 127(2), pp.165-176. doi: 10.1017/s0007114521000544

Lobato, R.O., Cruz, L.C., Josende, M.E., Tavares, P.B., Wasielesky, W., Maciel, F.E., Ventura-Lima, J., 2018. Lipoic acid modulates energetic metabolism and antioxidant defense systems in *Litopenaeus vannamei* under hypoxia/reoxygenation conditions, *Aquaculture*, Volume 497, Pages 396-404, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.020>.

Meng, Q., Li, J., Wang, C., Shan, A., 2023. Biological function of resveratrol and its application in animal production: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 14(1), 25.<https://doi.org/10.1186/s40104-022-00822-z>

Menoyo, D., Kühn, G., Ruiz-Lopez, N., Pallauf, K., Stubhaug, I., Pastor, J. J., Ipharraguerre, I. R., Rimbach, G., 2019. Dietary resveratrol impairs body weight gain due to reduction of feed intake without affecting fatty acid composition in Atlantic salmon. *Animal. An International Journal of Animal Bioscience*, 13(1), 25–32. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000812>

Mente, E., Coutteau, P., Houlihan, D., Davidson, I., Sorgeloos, P., 2002. Protein turnover, amino acid profile and amino acid flux in juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei*: effects of dietary protein source. *The Journal of Experimental Biology*, 205(Pt 20), 3107–3122. <https://doi.org/10.1242/jeb.205.20.3107>

Mirbakhsh, M., Ghaednia, B., Zorriehzahra, M. J., Esmaeili, F., Faggio, C., 2022. Dietary mixed and sprayed probiotic improves growth performance and digestive enzymes of juvenile whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931). *Journal of Applied Aquaculture*, 35(3), 823–836. <https://doi.org/10.1080/10454438.2022.2032528>

Moon, D.O., 2023. A comprehensive review of the effects of resveratrol on glucose metabolism: unveiling the molecular pathways and therapeutic potential in diabetes management. *Molecular Biology Reports*, Oct;50(10):8743-8755. doi: 10.1007/s11033-023-08746-1. Epub 2023 Aug 29. PMID: 37642760.

Mu, Q., Miao, L., Qian, L., Lin, Y., Jiang, W., Ge, X., 2024. Regulation of sirt1 and foxO1 in glucose metabolism of *Megalobrama amblycephala*. *Gene*, Volume 903, 2024, 148172, ISSN 0378-1119, <https://doi.org/10.1016/j.gene.2024.148172>.

Pallauf, K., Günther, I., Kühn, G., Chin, D., de Pascual-Teresa, S., Rimbach, G., 2021. The potential of resveratrol to act as a caloric restriction mimetic appears to be limited: Insights from studies in mice. *Advances in Nutrition*, 12(3), 995–1005. <https://doi.org/10.1093/advances/nmaa148>

Pismag, R. Y., Polo, M. P., Hoyos, J. L., Bravo, J. E., Roa, D. F., 2024. Effect of extrusion cooking on the chemical and nutritional properties of instant flours: a review. *F1000Research*, 12, 1356. <https://doi.org/10.12688/f1000research.140748.1>

Poersch, L.H., Magalhães, V., Lara, G., Chaves, F., Wasielesky, W., Fóes, G.K., 2021. Comparative strategies for intensive shrimp production in ponds using biofloc technology system in Southern Brazil: Water quality, zootechnical performance and economic viability for *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 52(8), pp.3713-3722. <https://doi.org/10.1111/are.15216>

Price, N.L., Gomes, A.P., Ling, A.J., Duarte, F.V., Martin-Montalvo, A., North, B.J., Agarwal, B., Ye, L., Ramadori, G., Teodoro, J.S., Hubbard, B.P., Varela, A.T., Davis, J.G., Varamini, B., Hafner, A., Moaddel, R., Rolo, A.P., Coppari, R., Palmeira, C.M., De Cabo, R., Baur, J.A., Sinclair, D.A., 2012. SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. *Cell Metabolism*. May 2;15(5):675-90. doi: 10.1016/j.cmet.2012.04.003. PMID: 22560220; PMCID: PMC3545644.

Ramírez, J. R. B., Gomes, R. M. M., Araújo, A. C. S., Buitrago, S. A. M., Piraine, J. S., Monserrat, J. M., 2023. The effects of lipoic acid on yolk nutrient utilization, energy metabolism, and redox balance over time in *Artemia sp.* *Antioxidants (Basel)*. 2023 Jul 18;12(7):1439. doi: 10.3390/antiox12071439. PMID: 37507976; PMCID: PMC10376159

Ran, G., Ying, L., Li, L., Yan, Q., Yi, W., Ying, C., Ye, X., 2017. Resveratrol ameliorates diet-induced dysregulation of lipid metabolism in zebrafish (*Danio rerio*). *PLoS One*, 12(7), e0180865. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180865>

Rašković, A., Čučuz, V., Torović, L., Tomas, A., Gojković-Bukarica, L., Čebović, T., Milijašević, B., Stilinović, N., Cvejić-Hogervorst, J., 2019. Resveratrol supplementation improves metabolic control in rats with induced hyperlipidemia and type 2 diabetes. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(7):1036-1043. doi: 10.1016/j.jsps.2019.08.006. Epub 2019 Aug 30. PMID: 31997911; PMCID: PMC6978634.

Rombenso, A. N., Truong, H., Simon, C., 2020. Dietary butyrate alone or in combination with succinate and fumarate improved survival, feed intake, growth and nutrient retention efficiency of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 528, 735492. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735492>

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Arena, L., Lemaire, P., Soye, C. and Van Wormhoudt, A., 2000. Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *Litopenaeus stylirostris*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 249(2), pp.181-198. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(00\)00184-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(00)00184-2)

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Le Priol, Y., Pascual, C., Rossignol, J., Contreras, F., Sanchez, A., Van Wormhoudt, A., 2001. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 259:1-22. doi: 10.1016/s0022-0981(01)00222-2.

Ruvalcaba-Márquez, J. C., Álvarez-Ruíz, P., Zenteno-Savín, T., Martínez-Antonio, E., Goytortúa-Bores, E., Casillas-Hernández, R., Mejía-Ruíz, H. and Magallón-Barajas, F. J., 2021. Performance, immune response, and oxidative stress parameters of *Litopenaeus vannamei* fed diets containing varying carbohydrate/protein, lipid/protein, and energy/protein ratios. *Aquaculture Reports*, 21, p.100771. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100771>

Salomão, R.A.S., De Paula, T.G., Zanella, B.T.T., Carvalho, P.L.P.F., da Silva Duran, B.O., Valente, J.S., De Almeida-Fantinatti, B.E., Fernandes, A.A., Barros, M.M., Mareco, E.A., Carvalho, R.F., 2019. The combination of resveratrol and exercise enhances muscle growth characteristics in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 235, pp.46-55. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.05.002>

Sánchez-Muros, M.J., Renteria, P., Vizcaino, A., Barroso, F.G., 2020. Innovative protein sources in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) feeding. *Reviews in Aquaculture*, 12(1), pp.186-203. <https://doi.org/10.1111/raq.12312>

Santos, R.A., Caldas, S.; Primel, E.G., Tesser, M.B.; Monserrat, J.M., 2016. Effects of lipoic acid on growth and biochemical responses of common carp fed with carbohydrate diets. *Fish Physiology and Biochemistry*. 42: 1699–1707. doi:10.1007/s10695-016-0250-2

Shi, H.J., Xu, C., Liu, M.Y., Wang, B.K., Liu, W.B., Chen, D.H., Zhang, L., Xu. C.Y., Li, X.F. 2018. Resveratrol improves the energy sensing and glycolipid metabolism of blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* fed high-carbohydrate diets by activating the AMPK-SIRT1-PGC-1 α Network. *Frontiers in Physiology*. Sep 11;9: 1258. doi: 10.3389/fphys.2018.01258. PMID: 30254587; PMCID: PMC6141669.

Silva, B.C., Nolasco-Soria, H., Magallón-Barajas, F., Civera-Cerecedo, R., Casillas-Hernández, R., Seiffert, W., 2016. Improved digestion and initial performance of whiteleg shrimp using organic salt supplements. *Aquaculture Nutrition*, 22(5), pp.997-1005. <https://doi.org/10.1111/anu.12315>

Singha, K.P., Sahu, N.P., Sardar, P., Shamna, N., Kumar, V., 2023. A strategic roadmap for carbohydrate utilization in crustacean's feed. *Reviews in Aquaculture*. 1–32. <https://doi.org/10.1111/raq.12861>..

Suiryanrayna, M. V., Ramana, J. V., 2015. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 6, pp.1-11.

Sun, S., Meng, Q., Luo, Z., Shi, B., Bi, C., Shan, A., 2019. Effects of dietary resveratrol supplementation during gestation and lactation of sows on milk composition of sows and fat metabolism of sucking piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103(3), 813–821. <https://doi.org/10.1111/jpn.13064>

Tacon, A. G., 2002. Thematic review of feeds and feed management practices in shrimp aquaculture. Report prepared under the World Bank, NACA, WWF and FAO

consortium program on shrimp farming and the environment. Work in Progress for Public Discussion. Published by the Consortium, 69.

Tacon, A. G. J., Jory, D., Nunes, A., 2013. Shrimp feed management: issues and perspectives. In M.R. Hasan and M.B. New, eds. On-farm feeding and feed management in aquaculture. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper* No, 583. Rome, FAO. pp. 481–488.

Talukdar, A., Dharmendra Deo, A., Prasad Sahu, N., Sardar, P., Aklakur, M., Harikrishna, V., Prakash, S., Shamna, N., Jana, P., 2021. Effects of different levels of dietary protein on the growth performance, nutrient utilization, digestive enzymes and physiological status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* juveniles reared in inland saline water. *Aquaculture Nutrition*, 27(1), pp.77-90. <https://doi.org/10.1111/anu.13166>

Teshima, S., Ishikawa, M., Koshio, S., Kanazawa, A., 1997. Assessment of cholesterol requirements in the shrimp, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture Nutrition*, 3:247–253. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.1997.00097.x>

Thirunavukkarasar, R., Kumar, P., Sardar, P., Sahu, N.P., Harikrishna, V., Singha, K.P., Shamna, N., Jacob, J., Krishna, G., 2022. Protein-sparing effect of dietary lipid: Changes in growth, nutrient utilization, digestion and IGF-I and IGFBP-I expression of Genetically Improved Farmed Tilapia (GIFT), reared in Inland Ground Saline Water. *Animal Feed Science and Technology*, 284, p.115150. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115150>

Tian, J., Han, G., Li, Y., Zhao, L., Wang, G., 2021. Effects of resveratrol on growth, antioxidative status and immune response of snakehead fish (*Channa argus*). *Aquaculture Nutrition*, 27(5), pp.1472-1481. <https://doi.org/10.1111/anu.13290>

Torno, C., Staats, S., Michl, S. C., Pascual-Teresa, S., Izquierdo, M., Rimbach, G., Schulz, C., 2018. Fatty acid composition and fatty acid associated gene-expression in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) are affected by low-fish oil diets, dietary resveratrol, and holding temperature. *Marine Drugs*. 2018 Oct 10;16(10):379. doi: 10.3390/md16100379. PMID: 30309000; PMCID: PMC6213562.

Torno, C., Staats, S., Pascual-Teresa, S., Rimbach, G., Schulz, C., 2017. Fatty acid profile is modulated by dietary resveratrol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Marine Drugs*. 2017 Aug 11;15(8):252. doi: 10.3390/md15080252. PMID: 28800114; PMCID: PMC5577606.

Torno, C., Staats, S., de Pascual-Teresa, S., Rimbach, G., Schulz, C., 2019. Effects of resveratrol and genistein on growth, nutrient utilization and fatty acid composition of

rainbow trout. *Animal: On International Journal of Animal Bioscience*, 13(5), 933–940. <https://doi.org/10.1017/S1751731118002458> 77606.

Tinh, T. H., Kokou, F., Hai, T. N., Verreth, J. A., Verdegem, M. C., 2023. Effects of feed, carbohydrate addition and stocking density on Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production, *Aquacultural Engineering*, Volume 101, 2023, 102325, ISSN 0144-8609, <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2023.102325>.

Velasco M., Lawrence A. L., Castille F. L., Obaldo L. G., 2000. Dietary protein requirement for *Litopenaeus vannamei*,” in *Avances En Nutrición Acuícola* V. Eds. Cruz-Suárez L. E., Ricque-Marie D., Tapia-Salazar M., Olvera-Novoa M. A., Civera-Cerecedo R. (*Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola: Mérida, Yucatán, México*) 19–22.

Villarreal, H., 2023. Shrimp farming advances, challenges, and opportunities. *Journal of the World Aquaculture Society*, 54(5). <https://doi.org/10.1111/jwas.13027>

Wang, Q., Li, L., Wang, T., Zheng, X., 2022. A review of extrusion-modified underutilized cereal flour: chemical composition, functionality, and its modulation on starchy food quality. *Food chemistry*, 370, 131361. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131361>

Wang, T., Li, W., Shan, H., Ma, S., 2021. Responses of energy homeostasis and lipid metabolism in *Penaeus vannamei* exposed to ammonia stress. *Aquaculture*, 544, 737092. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.737092>

Wang, X., Li, E., Chen, L., 2016. A review of carbohydrate nutrition and metabolism in crustaceans. *N. North American Journal of Aquaculture*. 78: 178–187. doi:10.1080/15222055.2016.1141129.

Wang, X. D., Li, E.C., Wang, S. F., Qin, J. G., Chen, X. F., Lai, Q. M., Chen, K., Xu, C., Gan, L., Yu, N., Du, Z. Y., 2015. Protein-sparing effect of carbohydrate in the diet of white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low salinity. *Aquaculture Nutrition*, 21(6), pp.904-912. <https://doi.org/10.1111/anu.12221>

Wen, C., Ma, S., Tian, H., Jiang, W., Jia, X., Zhang, W., Jiang, G., Li, X., Chi, C., He, C., Liu, W., 2022. Evaluation of the protein-sparing effects of carbohydrates in the diet of the crayfish, *Procambarus clarkii*. *Aquaculture*, 556, p.738275. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738275>

Wilson, W.N., Baumgarner, B.L., Watanabe, W.O., Alam, M.S., Kinsey, S.T., 2015. Effects of resveratrol on growth and skeletal muscle physiology of juvenile

southern flounder. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 183, pp.27-35. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.12.014>

Wu, D., Li, J., Fan, Z., Wang, L., Zheng, X., 2022. Resveratrol ameliorates oxidative stress, inflammatory response and lipid metabolism in common carp (*Cyprinus carpio*) fed with high-fat diet. *Frontiers in Immunology*. Nov 3; 13:965954. doi: 10.3389/fimmu.2022.965954. PMID: 36405693; PMCID: PMC9669426.

Xie, S., Wei, D., Fang, W., Wan, M., Guo, T., Liu, Y., Niu, J., 2019. Optimal dietary lipid requirement of postlarval white shrimp, *Litopenaeus vannamei* in relation to growth performance, stress tolerance and immune response. *Aquaculture Nutrition*, 25(6), 1231-1240. <https://doi.org/10.1111/anu.12937>.

Xie, S., Zhang, L., Wang, D., 2003. Effects of several organic acids on the feeding behavior of tilapia nilotica. *Journal of Applied Ichthyology*, 19, 255–257. 25. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00451.x>

Xu, C., Li, E., Liu, Y., Wang, S., Wang, X., Chen, K., Chen, L. 2018. Effect of dietary lipid level on growth, lipid metabolism and health status of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at two salinities. *Aquaculture Nutrition*, 24, 204–214. <https://doi.org/10.1111/anu.12548>

Yang, S. T., Kreutzberger, A. J. B., Lee, J., Kiessling, V., Tamm, L. K., 2016. The role of cholesterol in membrane fusion. *Chemistry and physics of lipids*, 199, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2016.05.003>

Yu, C., Zhang, M., Liu, J., Zhang, J., Xu, J., Xu, W., 2021. Effects of sodium acetate on lipid metabolism, antioxidant capability and cell apoptosis of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) hepatocytes treated by sodium palmitate. *Aquaculture Research*. <https://doi.org/10.1111/are.15651>

Yun, H., Shahkar, E., Katya, K., Jang, I.K., Kim, S.K. and Bai, S.C., 2016. Effects of bioflocs on dietary protein requirement in juvenile whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 47(10), pp.3203-3214. <https://doi.org/10.1111/are.12772>

Zhang, D., Yan, Y., Tian, H., Jiang, G., Li, X., Liu, W., 2017. Resveratrol supplementation improves lipid and glucose metabolism in high-fat diet-fed blunt snout bream. *Fish Physiology and Biochemistry*. 44: 163-173. doi: 10.1007/s10695-017-0421-9.

Zhang, L. X., Li, C. X., Kakar, M. U., Khan, M. S., Wu, P. F., Amir, R. M., Li, J. H., 2021. Resveratrol (RV): A pharmacological review and call for further

research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 143, 112164., ISSN 0753-3322, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112164>.

Zhang W., Yang Q., Tan B., Wang F., Dong X., Chi S., Liu H., Zhang S., Wang H., 2019. Study of the requirements of dietary cholesterol at two different growth stages of Pacific white shrimps, *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult Int* 27, 1583–1597. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00411-4>

Zhang, Y., Lu, R., Qin, C., Nie, G., 2020. Precision nutritional regulation and aquaculture, *Aquaculture Reports*, Volume 18, 2020, 100496, ISSN 2352-5134, <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100496>.

Zheng, Y., Shi, Y., Yang, X., Gao, J., Nie, Z., Xu, G., 2022. Effects of resveratrol on lipid metabolism in liver of red tilapia *Oreochromis niloticus*. Comparative biochemistry and physiology. *Toxicology & Pharmacology: CBP*, 261, 109408. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109408>