

**Efeito da suplementação de metionina e
taurina no crescimento e resposta ao *stress* de
juvenis de corvina (*Argyrosomus regius*)**

Bárbara Alexandra Alves Requeijo

2019

Efeito da suplementação de metionina e taurina no crescimento e resposta ao stress de juvenis de corvina (*Argyrosomus regius*)

Bárbara Alexandra Alves Requeijo

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação do Doutor Pedro Pousão Ferreira (IPMA) e Co-orientação da Especialista Teresa Baptista (IPL)

Título: Efeito da suplementação de metionina e taurina no crescimento e resposta ao *stress* de juvenis de corvina (*Argyrosomus regius*).

Copyright © Bárbara Alexandra Alves Requeijo

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche

Instituto Politécnico de Leiria, 2019.

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Agradecimentos

Este trabalho não seria possível sem a ajuda do seguinte grupo de pessoas, a quem estou profundamente grata:

- Em primeiro lugar, aos meus pais e ao meu irmão, por todo o amor, apoio e motivação, pois sem eles nada disto teria sido possível;
- À minha grande amiga, quase irmã, Teresa Viegas, por toda a paciência, carinho, apoio e ajuda desde o primeiro dia em que cheguei ao Algarve;
- Ao meu orientador externo, Doutor Pedro Pousão (IPMA – Instituto Português do Mar e da Atmosfera), por me ter recebido tão bem em Olhão e por me ter acompanhado durante todo o meu percurso na EPPO – Estação Piloto de Piscicultura de Olhão;
- À minha orientadora interna, Especialista Teresa Baptista, por ter acompanhado, mesmo estando longe, todo o trabalho realizado em Olhão, e por todo o carinho e apoio despendido ao longo de toda a realização deste trabalho;
- À Ana Catarina Matias e à Margarida Saavedra, por toda a disponibilidade, toda a ajuda e por todo o que me ensinaram ao longo da escrita deste trabalho;
- À Marisa Barata, porque me ensinou e ajudou em toda a parte prática deste trabalho e porque sem ela o ensaio não tinha corrido tão bem;
- À Paula e à Lurdes, porque ser mãe de estranhos não é para qualquer um;
- A todos os elementos da EPPO por me fazerem sentir em casa, por me terem acolhido e por serem o grupo de trabalho que são: um especial agradecimento à Doutora Laura Ribeiro, por toda a ajuda na parte da estatística;
- Ao Doutor Jorge Dias e à SPAROS, Lda. pelo fornecimento das dietas utilizadas neste ensaio;
- A todos os meus amigos que mesmo estando longe me apoiaram e me fizeram sentir perto, um obrigada especial à Carolina Campos;
- A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, tornaram este trabalho possível, um muito obrigada.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Resumo

A corvina (*Argyrosomus regius* Asso, 1801) é uma espécie de elevado valor comercial, sendo que as suas características a qualificam como uma candidata de excelência para a diversificação da aquacultura que incluem o ciclo de vida fechado, a boa adaptação a cativeiro, o rápido crescimento e a boa taxa de conversão alimentar. Sendo a alimentação um dos maiores custos na produção em aquacultura, é necessário aumentar a eficiência da mesma de modo a evitar desperdícios. Neste sentido, torna-se extremamente essencial avaliar os requisitos nutricionais desta espécie, de forma a melhorar a eficiência e rentabilidade de cultivo.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial da suplementação de metionina e taurina numa dieta rica em ingredientes de origem vegetal, como uma estratégia nutricional no crescimento e resposta ao *stress* de juvenis de corvina. Para isso, foi realizado um ensaio de nutrição com um total de 1080 juvenis de corvina, com peso médio inicial de $12,0 \pm 1,6$ g e $10,8 \pm 0,4$ cm de comprimento, aleatoriamente distribuídos por 9 tanques. O ensaio teve a duração de 60 dias, e durante este período foram utilizadas três dietas isoproteicas (56%) e isolipídicas (16%) com diferentes níveis de metionina e taurina, as quais foram fornecidas *ad libitum*.

O peso vivo final, a ingestão diária de alimento (IDA), a taxa de crescimento específico (SGR) e a taxa de conversão alimentar (FCR) mostraram melhores resultados para os peixes alimentados com a dieta D2, enquanto que os parâmetros de *stress* analisados (níveis plasmáticos de cortisol, glucose, lactato e a peroxidação lipídica) não foram afetados. A suplementação de taurina de 1% para 2% não teve um efeito significativo no crescimento, desempenho e resposta ao *stress* de juvenis de corvina. No entanto, a suplementação de metionina de 0,7% para 1,1% teve efeito nos parâmetros de crescimento analisados e desempenho desta espécie. Desta forma, a dieta D2 sugere como a dieta que induz um melhor crescimento de juvenis de corvina sem causar alterações significativas nos parâmetros de *stress* fisiológico analisados. Adicionalmente, esta dieta, D2 é a que poderá apresentar custos de produção mais reduzidos, uma vez que é apenas necessário suplementar com 1% de taurina em comparação com 2% na dieta D3.

Palavras-chave: corvina (*Argyrosomus regius*); crescimento; *stress* fisiológico; nutrição; proteína; aminoácidos.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Abstract

Meagre (*Argyrosomus regius*, Asso, 1801) is a species of high commercial value. It is considered an excellent candidate for the diversification of aquaculture due to its closed life cycle, good adaptation to captivity, fast growth and good feed conversion rate. However, in order to increase its production to an industrial level, it is still necessary to investigate and develop strategies to optimize its production towards good growth rates at reduced costs. Since feed is responsible for one of the major costs in aquaculture production, it is necessary to increase its efficiency in order to avoid nutrient losses. In this sense, it becomes essential to evaluate the nutritional requirements of this species in order to improve the efficiency and profitability of the production of meagre.

The objective of this study is to evaluate the potential use of taurine and methionine supplementation on growth performance and physiological *stress* response of meagre juveniles fed plant-based feedstuffs. A nutrition 60 days trial started with 1080 juvenile meagre with an initial average weight of $12,0 \pm 1,6$ g and $10,8 \pm 0,4$ cm of length, randomly distributed into 9 tanks. Three diets were formulated to be isoproteic (56%) and isolipid (16%) with different levels of methionine and taurine, provided to fish *ad libitum*.

Final body weight, daily intake of food (DIF), specific growth rate (SGR) and feed conversion rate (FCR) showed better results for fish fed diet D2, while the analysed *stress* parameters (plasma levels of cortisol, glucose, lactate and lipidic peroxidation) were not affected.

Thus, diet D2 seemed to be the one that improved fish growth without causing significant changes in meagre physiological *stress* response. Additionally, among all the experimental diets, D2 presents the lowest production costs because it is only necessary to supplement with 1% of taurine in comparison with 2% of diet D3. Dietary taurine inclusion showed no effect on fish growth performance while methionine supplementation seemed to improve growth of juvenile meagre.

Keywords: meagre (*Argyrosomus regius*); growth; physiological *stress*; nutrition; protein; amino acids.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Índice

1. Introdução	1
1.1. Panorama da aquacultura	1
1.2. Estado mundial da aquacultura	2
1.3. Estado da aquacultura em Portugal	5
1.4. Corvina – <i>Argyrosomus regius</i> (Asso, 1801)	9
1.5. Aquacultura de corvina	10
1.6. Nutrição em aquacultura	14
1.7. Alternativas aos óleos e farinhas de peixe	15
1.8. Proteína	16
1.9. Metionina e taurina	18
1.10. <i>Stress</i> fisiológico nos peixes	19
1.11. Objetivo	21
2. Material e métodos	22
2.1. Dietas experimentais	22
2.2. Ensaio de crescimento	25
2.2.1. Registos e Amostragem	26
2.2.2. Alimento ingerido	26
2.3. Métodos analíticos	27
2.3.1. Cálculos analíticos	27
2.3.2. Parâmetros sanguíneos	27
2.3.3. Peroxidação lipídica	28
2.4. Análise estatística	28
3. Resultados	30
3.1. Ensaio de crescimento	30
3.2. Análises de parâmetros sanguíneos	34
4. Discussão	38
5. Conclusão	42
6. Referências	44

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Índice de Figuras

Figura 1: Produção de aquacultura e capturas mundiais por milhões de toneladas de 1950 a 2015 (FAO Fishstat, 2017)	2
Figura 2: Produção de aquacultura por grupo taxonómico, por milhões de toneladas, de 1950 a 2015 (FAO Fishstat, 2017)	3
Figura 3: Comparação da produção de aquacultura, em milhares de toneladas, e do valor comercial, em milhões de euros, nos anos de 2013 e 2014 (INE, 2016)	7
Figura 4: Número de estabelecimentos de aquacultura licenciados e a sua área, de 2004 e 2014 (INE, 2016)	7
Figura 5: Estrutura dos estabelecimentos de aquacultura licenciados em 2014, baseado na publicação do INE, 2016	8
Figura 6: Produções de produtos de aquacultura por tipo de água e regime, em 2015 baseado na publicação do INE, 2017	9
Figura 7: Fotografia da corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) utilizada neste ensaio.....	10
Figura 8: Evolução da produção de corvina em aquacultura (FAO, 2016)	11
Figura 9: Ciclo de produção da <i>Argyrosomus regius</i> , FAO, 2010.....	13
Figura 10: Tanques de ensaio, Estação Piloto de Piscicultura de Olhão	26
Figura 11: Exemplar de juvenil de corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) utilizado neste ensaio.....	26
Figura 12: Peso final, em gramas, de <i>Argyrosomus regius</i> alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3)	31
Figura 13: Evolução do peso, em gramas, da amostragem inicial, intermédia e final ao longo de 60 dias de ensaio, de <i>Argyrosomus regius</i> alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3).....	32

Figura 14: Taxa de crescimento específico, em %/dia, de <i>Argyrosomus regius</i> alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3).....	32
Figura 15: Ingestão diária alimentar de <i>Argyrosomus regius</i> alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3).....	33
Figura 16: Taxa de conversão alimentar de <i>Argyrosomus regius</i> alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3).....	34
Figura 17: Níveis de cortisol ($\mu\text{g}/\text{dl}$) medidos no plasma, em condições de pré e pós- <i>stress</i> , de <i>Argyrosomus regius</i> alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3).....	35
Figura 18: Níveis de glucose (mg/dl) medidos no plasma, em condições de pré e pós- <i>stress</i> , de <i>Argyrosomus regius</i> alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3).....	36
Figura 19: Níveis de lactato (mg/dl) medidos no plasma, em condições de pré e pós- <i>stress</i> , de <i>Argyrosomus regius</i> alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3).....	37
Figura 20: Níveis de MDA (nmol/mg) medidos no fígado de <i>Argyrosomus regius</i> alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3).....	37

Índice de tabelas

Tabela I: Top 10 dos países com maior produção de aquacultura, por milhões de toneladas, de 2010 a 2014 (FAO, 2016)	4
Tabela II: Top 10 dos países com maiores capturas, por milhões de toneladas, de 2010 a 2014 (FAO, 2016)	4
Tabela III: Consumo de pescado e produtos da aquacultura a nível mundial, em 2011, em kg/habitante/ano (Eurostat, 2016)	6
Tabela IV: Formulação e composição proximal das dietas experimentais.....	24
Tabela V: Composição em aminoácidos das dietas experimentais.....	25
Tabela VI: Fator de hidratação das dietas experimentais utilizadas.....	27
Tabela VII: Crescimento, ingestão e eficiência da utilização do alimento de <i>Argyrosomus regius</i> alimentada com as dietas experimentais.....	34
Tabela VIII: Análises dos parâmetros de <i>stress</i> , cortisol, glucose e lactato medidos no plasma e <i>stress</i> oxidativo, medido no fígado, de <i>Argyrosomus regius</i> alimentada com as dietas experimentais.....	38

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Lista de siglas

AAs: Aminoácidos

DGRM: Direção Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos

DNA: do inglês *deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)

EPPO: Estação Piloto de Piscicultura de Olhão

FAO: Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura

FCR: do inglês *feed conversion rate* (Taxa de conversão alimentar)

GOD: glucose oxidase

HPI: hipotálamo-hipófise interrenal

IDA: Ingestão diária de alimento

INE: Instituto Nacional de Estatística

IPMA: Instituto Português do Mar e da Atmosfera

LPO: do inglês *lipid peroxidation* (peroxidação lipídica)

MDA: do inglês *malondialdehyde* (malondialdeído)

MS: Matéria seca

POD: peroxidase

PUFA: do inglês *polyunsaturated fatty acids* (ácidos gordos polinsaturados)

ROSs: do inglês *Oxygen-reactive species* (Espécies Reativas de Oxigénio)

SGR: do inglês *specific growth rate* (Taxa de crescimento específico)

UE: União Europeia

ZEE: Zona Económica Exclusiva

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

1. Introdução

1.1. Panorama da aquacultura

O crescimento mundial da população é uma realidade inquestionável. Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO, 2016) prevê-se que seja necessário alimentar 9 bilhões de pessoas em 2050. Paralelamente, o fornecimento global de pescado para consumo humano tem também aumentado, devido ao aumento da produção em aquacultura, permitindo um consumo crescente de pescado per capita (FAO, 2016).

Como poderemos alimentar mais de 9 bilhões de pessoas até 2050 num contexto de mudança climática, incerteza económica e financeira?

A aquacultura pode ser definida como a produção em cativeiro de organismos aquáticos (peixes, moluscos, crustáceos, répteis, equinodermes) ou plantas que tenham um habitat predominantemente aquático, em pelo menos uma fase da sua vida. O cultivo destes seres vivos implica a sua manutenção e, muitas vezes a sua reprodução e crescimento da sua descendência. Para se poder considerar que um produto tem origem na aquacultura é necessário que durante o seu ciclo de vida este seja objeto de algum tipo de intervenção humana. O objetivo é o aumento da produção através de práticas como a alimentação à base de rações, a proteção contra predadores, a integração com outras espécies ou o controlo populacional (FAO, 2007). É importante salientar que atualmente um terço do abastecimento mundial de pescado provém da aquacultura o que irá, seguramente, reforçar ainda mais a sua importância como fonte de alimentos para a população mundial.

Mas para além disso, as técnicas de aquacultura permitem ainda explorar diversas oportunidades de negócio nesta área, que podem ser tão variadas como a produção de peixes ornamentais e corais para fins decorativos ou a produção de ostras para produzir pérolas. Outro exemplo da importância da aquacultura é a produção de animais aquáticos ameaçados de extinção e a sua reintrodução no meio natural (Pillay & Kutty, 2005).

A médio prazo pretende-se que a aquacultura seja uma forma de fornecer em grande escala produtos de qualidade e que ajude a preservar a biodiversidade ambiental (Appleford et al., 2003). Para tal, ao longo das últimas décadas têm sido desenvolvidos

projetos que visam o desenvolvimento de tecnologias para tornar a arte da aquacultura mais rentável e sustentável.

1.2. Estado mundial da aquacultura

A produção de animais aquáticos passou a ser principalmente baseada na captura de peixes selvagens para a cultura de um número crescente de espécies cultivadas. Em 2014 e 2015, o sector da aquacultura para o fornecimento de peixe para consumo humano ultrapassou pela primeira vez a do peixe capturado na natureza. Com base na FAO, em 2015 a produção de aquacultura atingiu os 106 milhões de toneladas, já a quantidade de capturas perfez 93,7 milhões de toneladas (figura 1) (FAO Fishstat, 2017).

O crescimento da oferta mundial de peixe para consumo humano ultrapassou o crescimento populacional humano nas últimas cinco décadas. O consumo mundial *per capita* de peixe aumentou de uma média de 9,9 kg, do ano de 1960 para 14,4 kg no ano de 1990 e de 19,7 kg em 2013, com estimativas preliminares para 2014 apontando para um crescimento superior a 20 kg (FAO, 2016).

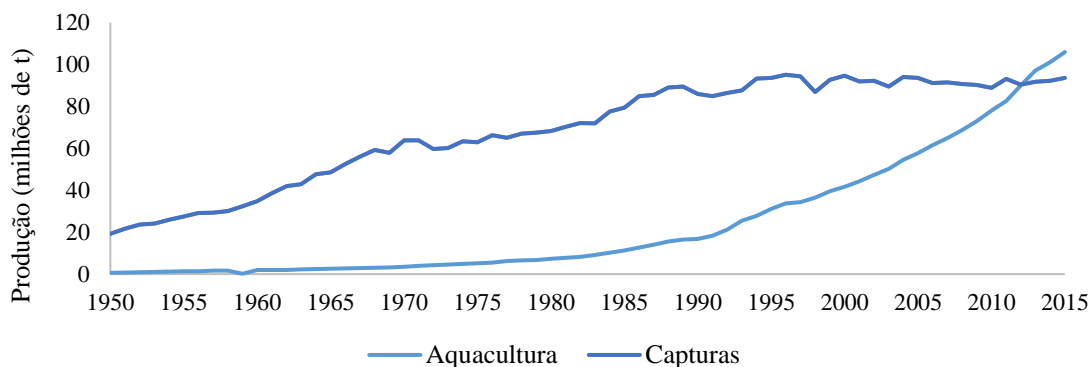


Figura 1. Produção de aquacultura e capturas mundiais por milhões de toneladas de 1950 a 2015 (FAO Fishstat, 2017).

Além do aumento da produção, outros fatores contribuíram para o aumento do consumo, como por exemplo reduções no desperdício, melhor utilização e melhores vias de distribuição. Embora o consumo anual *per capita* de peixe tenha crescido de forma constante nos países em desenvolvimento e nos países pouco desenvolvidos ainda é consideravelmente inferior em relação aos países desenvolvidos, embora esta diferença tenha vindo a reduzir.

Em 2015, a produção de aquacultura mundial totalizou 106 milhões de toneladas. Sendo repartido pela produção de peixes (55,2 milhões de toneladas), moluscos (16,5 milhões de toneladas), crustáceos (7,4 milhões de toneladas), plantas aquáticas (29,4 milhões de toneladas) e outros animais aquáticos (909 milhares de toneladas) (figura 2) (FAO Fishstat, 2017).

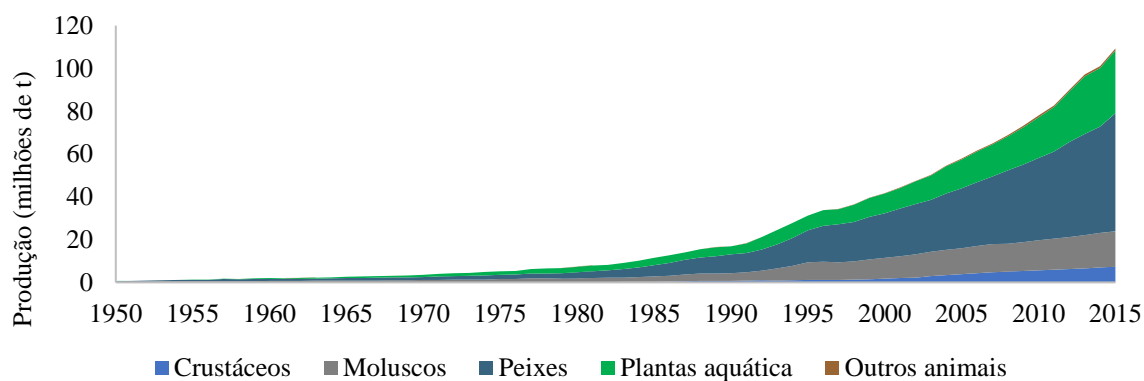


Figura 2. Produção de aquacultura por grupo taxonômico, por milhões de toneladas, de 1950 a 2015 (FAO Fishstat, 2017).

A China ocupa o primeiro lugar com uma produção de cerca de 45,5 milhões de toneladas, mais de 60% da produção mundial, seguido pela Índia, Indonésia, Vietname e Bangladesh (tabela I). Já no caso das capturas, é também a China que ocupa o primeiro lugar na tabela com aproximadamente 17,9 milhões de toneladas seguido pela Indonésia, Estados Unidos da América e Rússia (tabela II) (FAO, 2016).

A percentagem da produção mundial de peixe utilizada para consumo humano aumentou significativamente nas últimas décadas, passando de 67% nos anos 60 para 87%, ou mais de 146 milhões de toneladas, em 2014. Os restantes 21 milhões de toneladas destinavam-se a produtos não alimentares dos quais 76% foram reduzidos a farinha de peixe e óleo de peixe em 2014. Um exemplo de que a indústria destinada à utilização de subprodutos está a tornar-se cada vez mais importante, reduzindo assim o desperdício (FAO, 2016).

Tabela I. Top 10 dos países com maior produção de aquicultura, por milhões de toneladas, de 2010 a 2014 (FAO, 2016).

	2010	2011	2012	2013	2014
TOTAL	58.972.772	61.808.953	66.465.614	70.260.700	73.783.725
China	36.734.215	38.621.269	41.108.306	43.549.739	45.468.960
Índia	3.785.779	3.673.082	4.209.478	4.550.707	4.881.019
Indonésia	2.304.828	2.718.421	3.067.660	3.973.843	4.253.896
Vietnam	2.670.596	2.845.562	3.084.807	3.206.510	3.397.064
Bangladesh	1.308.515	1.523.759	1.726.066	1.859.808	1.956.925
Noruega	1.019.802	1.143.893	1.321.119	1.247.865	1.332.497
Chile	701.062	954.845	1.071.421	1.033.206	1.214.523
Egipto	919.585	986.820	1.017.738	1.097.544	1.137.091
Myanmar	850.697	816.820	885.169	929.180	962.156
Tailândia	1.286.122	1.201.455	1.272.100	997.515	934.758

Tabela II. Top 10 dos países com maiores capturas, por milhões de toneladas, de 2010 a 2014 (FAO, 2016).

	2010	2011	2012	2013	2014
TOTAL	89.130.056	9.368.233	91.310.941	92.669.169	93.445.234
China	15.414.830	15.768.630	16.768.630	16.274.926	17.106.547
Indonésia	5.373.503	5.647.990	5.647.990	6.037.781	6.436.715
USA	4.397.488	5.113.453	5.091.381	5.141.874	4.975.947
Índia	4.689.316	4.311.132	4.872.129	4.645.182	4.718.821
Rússia	4.069.879	4.254.877	4.331.398	4.348.382	4.225.556
Myanmar	3.063.210	3.332.979	3.579.250	3.786.840	4.083.270
Japão	4.066.881	3.776.512	3.650.951	3.655.650	3.660.966
Peru	4.301.607	8.249.157	4.849.211	5.854.347	3.573.371
Vietnam	2.414.400	2.514.300	2.715.400	2.803.800	2.919.200
Filipinas	2.611.768	1.363.228	2.322.974	2.331.721	2.350.886

Em 2014, 46% (67 milhões de toneladas) do peixe para consumo humano era sob a forma de peixe vivo, fresco ou refrigerado. O restante da produção para este fim era processado noutras formas, com cerca de 12% (17 milhões de toneladas) em formas secas, salgadas, fumadas ou curadas, 13% (19 milhões de toneladas) em formas preparadas e conservadas e 30% (44 milhões de toneladas) em forma congelada (FAO, 2016).

Com todos estes fatores, é fácil perceber que o sector das pescas e da aquacultura desempenham um papel importante na sociedade, como criador de emprego, fornecedor de alimentos, gerador de rendimento e contribui para o crescimento e desenvolvimento económico, bem como para a segurança alimentar e nutricional, sendo o peixe e os produtos da pesca uma das frações mais comercializadas do sector alimentar mundial (Tidwell & Allan, 2001).

1.3. Estado da aquacultura em Portugal

O conjunto dos setores pesca por captura, aquacultura e indústria transformadora dos produtos da pesca representa cerca de 0.6% de empregabilidade em Portugal, um valor bastante reduzido comparativamente com outros países. Contudo, Portugal revela um grande potencial para o setor da aquacultura, apesar de não ser reconhecido. Esta atividade pode servir de complemento para ajudar a estabilizar o preço de determinadas espécies e fornecer proteína de qualidade em quantidades consideráveis e a preços acessíveis (DGRM, 2013).

Os primeiros dados da aquacultura em Portugal surgem em 1965, em que o cultivo de espécies marinhas e salobras começou por ser feito em águas interiores, em estuários e lagoas costeiras, utilizando-se regimes extensivos de produção, reaproveitando, nomeadamente, infraestruturas da indústria de sal. Na década de 70, a produção de espécies de aquacultura centrava-se em espécies de baixo valor comercial, que representavam cerca de 80% da produção. Os anos 80 caracterizaram-se pelo grande aumento das aquaculturas em águas interiores (particularmente de truta arco-íris), acompanhada pelos bivalves (especialmente a amêijoia) nas águas salobras e marinhas. A década de 90 é caracterizada pelo forte crescimento e modernização da aquacultura de espécies marinhas (DGRM, 2013).

Portugal é o maior consumidor, por habitante, de pescado na União Europeia (UE) e o segundo a nível mundial, logo a seguir à Islândia. O total do pescado em Portugal permite satisfazer níveis de consumo *per capita* da população com 56,8 kg/ano, o que representa um valor muito superior à média do pescado assim, em 2011, Portugal posiciona-se no 2º lugar a nível europeu e em 2º lugar a nível mundial, sendo ultrapassado unicamente pela Islândia, em termos de consumo de pescado (tabela III) (Eurostat, 2016). Porém, apesar de Portugal apresentar uma linha de costa de 1 214 km e uma ZEE (Zona

Económica Exclusiva) de 1 656 km², fica apenas em 10º lugar na produção de produtos pesqueiros da UE, contribuindo com 188 mil toneladas nas 6,7 milhões de toneladas produzidas pelos 28 países (Eurostat, 2016).

Tabela III. Consumo de pescado e produtos da aquacultura a nível mundial, em 2011, em kg/habitante/ano (Eurostat, 2016).

País	Consumo (kg/habitante/ano)
Islândia	90,1
Portugal	56,8
Japão	53,7
Noruega	53,4
Lituânia	43,4
Espanha	42,4
Finlândia	35,6
França	34,6
China	32,9
Suécia	31
Malta	30,5
Luxemburgo	29,1
Letónia	27,5
Itália	25,4
Bélgica	25,1
MÉDIA EU-28	24,9
Países Baixos	23,6
Chipre	23,3
Dinamarca	23
Canadá	22,3
Rússia	22,3
EUA	21,7
MÉDIA MUNDIAL	18,9

Em 2014, a produção de aquacultura (10 791 toneladas) gerou uma receita de 50,3 milhões de euros. Estes resultados traduzem um aumento em quantidade (+7,2%) e um decréscimo em valor (-8,3%) relativamente a 2013. Este resultado justifica-se pela maior produção de pregado e pela sua menor valorização em relação ao ano anterior, em consequência do aumento da produção e da procura de peixes de tamanhos inferiores (figura 3) (INE, 2016).

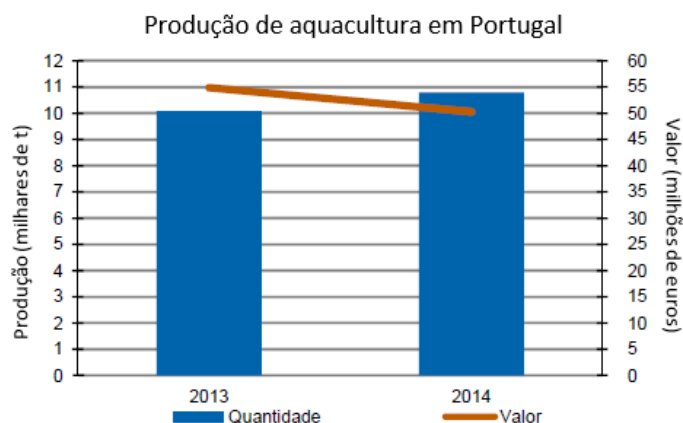


Figura 3. Comparação da produção de aquacultura, em milhares de toneladas, e do valor comercial, em milhões de euros, nos anos de 2013 e 2014 (INE, 2016).

Relativamente à estrutura da produção, a água salobra e marinha é a mais importante e expressiva ao longo dos últimos anos. Em 2014, foram produzidas cerca de 5576 toneladas, representando 50% da produção total, seguida pela produção de moluscos, com aproximadamente 47% da produção total (4852 toneladas) e por fim, a produção em água doce, com aproximadamente 7% da produção (789 toneladas) (INE, 2016).

Em território nacional, no final de 2015, existiam 1 504 estabelecimentos licenciados para produção de aquacultura em águas doces, salobras e marinha, destas apenas 1 433 aquaculturas se encontravam ativas com produção. Em termos de área total, verificou-se uma dimensão média de 3,03 hectares por estabelecimento aquícola (figura 4) (INE, 2016).

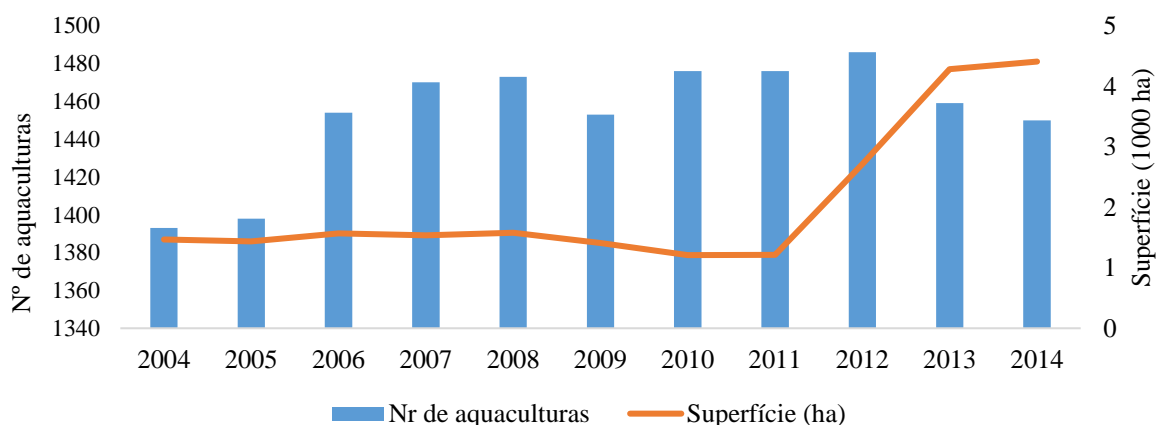


Figura 4. Número de estabelecimentos de aquacultura licenciados e a sua área (1000 ha), de 2004 e 2014 (INE, 2016).

Em termos do tipo de estabelecimentos, a estrutura manteve-se em relação a 2013, com cerca de 88,3% de viveiros para produção de moluscos bivalves, a maioria dos quais localizados na Ria Formosa. Os tanques para a produção de peixe correspondem a 9,2% e as estruturas flutuantes (maioritariamente destinadas à produção de moluscos bivalves) a 2,1% do total dos estabelecimentos licenciados) e 0,4% correspondia a unidades de reprodução (7 estabelecimentos dos quais apenas 3 se encontram ativos) (figura 5) (INE, 2016).

Estruturas dos estabelecimentos de aquacultura

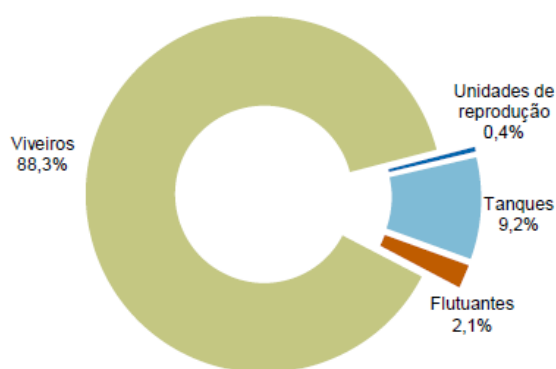


Figura 5. Estrutura dos estabelecimentos de aquacultura licenciados em 2014, baseado na publicação do INE, 2016.

Relativamente aos regimes de exploração, a produção de produtos de aquacultura em águas doces manteve-se exclusivamente intensiva. Na produção aquícola em águas marinhas e salobras, 54,9% do volume total foi proveniente do regime extensivo, tendo sido utilizado sobretudo para a cultura de bivalves. Do regime intensivo, que reforçou o seu peso em 2014, teve origem 34,0% da produção, enquanto o semi-intensivo foi responsável por apenas 11,1% do total produzido. A diminuição da produção em regime semi-intensivo deveu-se à conversão de muitos estabelecimentos de peixe para a produção de bivalves em regime extensivo (figura 6).

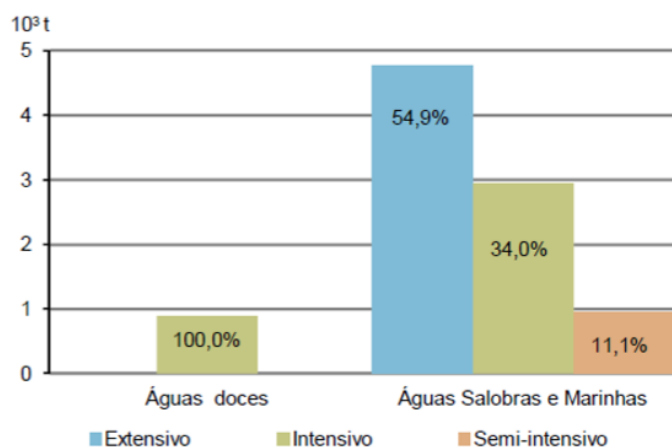


Figura 6. Produções de produtos de aquacultura por tipo de água e regime, em 2015 baseado na publicação do INE, 2017.

Segundo a FAO, até 2025 estima-se um aumento do consumo mundial de pescado em 31 milhões de toneladas, chegando às 178 milhões de toneladas totais, equivalente a um consumo médio mundial *per capita* de 21,8 kg/ano, 8% acima do atual valor de 20,2 kg. No seguimento da conseqüente sobre-exploração causada pela indústria pesqueira, podemos ainda afirmar que o único meio de suporte deste aumento do consumo de pescado apenas poderá ser suportado pelo aumento de produção em aquacultura (FAO, 2016).

1.4. Corvina – *Argyrosomus regius* (Asso, 1801)

A corvina, *Argyrosomus regius*, é um peixe teleósteo, anádromo, semi-pelágico com tendência demersal, que habita o sublitoral dos 15 aos 200 metros em fundos arenosos (Quéro & Vayne, 1985), pertencente à família *Sciaenidae*, que inclui 270 espécies entre 70 géneros (Griffiths & Heemstra, 1995; Hureau et al., 1986). A corvina pode ser encontrada na costa Atlântica, da Noruega até Gibraltar e Congo incluindo o mar Mediterrâneo e o mar Negro (Poli et al., 2003; Whitehead et al., 1986).

Esta espécie apresenta uma cor cinza prateada, um corpo alargado quase fusiforme e ligeiramente comprimido (figura 7). Possui uma cabeça grande com uma boca terminal que contém séries de dentes grandes e fortes. As escamas da corvina são relativamente grandes, cicloides e a sua linha lateral é curva e com escamas ctenoides, que se destacam pelo seu brilho intenso. As barbatanas são de cor castanhas avermelhadas e têm uma mancha escura pouco diferenciada sobre o opérculo. É um dos maiores sciaenídeos a nível mundial, atingindo mais de 180 cm de comprimento total e 50 kg de peso, no entanto, o mais comum é serem encontrados indivíduos com cerca de um metro de comprimento (Cárdenas, 2010; Quéméner et al., 2002). Esta espécie tem a capacidade de produção de sons usando a bexiga natatória como câmara de ressonância (Nelson et al. 2016).



Figura 7. Fotografia da corvina (*Argyrosomus regius*) utilizada neste ensaio.

A corvina é uma espécie carnívora, extremamente voraz e com uma dieta à base de poliquetas, crustáceos, equinodermes, moluscos e pequenos peixes (Jiménez et al., 2005), os adultos deslocam-se em pequenos grupos. Entre os meses de abril e junho migram de águas profundas para áreas costeiras, como estuários e salinas, para desovar (Monfort, 2010). As áreas de reprodução são restritas e localizam-se na costa da Mauritânia e nos estuários dos rios Gironde, Tejo, Guadalquivir e Nilo (Quéméner, 2002).

A temperatura da água tem um papel fundamental nesta espécie, determinante na sua migração e reprodução (Kır et al., 2017; Monfort, 2010). As maiores ameaças à espécie acontecem devido à formação de grandes cardumes na época de reprodução e à emissão de sons pelos machos, o que promove um elevado esforço de pesca e consequente degradação do ambiente de desova (Quéro & Vayne, 1985; Sadovy & Cheung, 2003).

1.5. Aquacultura de corvina

A aquacultura na região do Mediterrâneo necessita de uma diversificação de espécies. *Argyrosomus regius* parece ser um candidato adequado (Saavedra et al., 2015a). A corvina, é neste momento objeto de interesse em todo o Mediterrâneo, pois este mercado tem sido dominado por espécies como a dourada (*Sparus aurata*) e o robalo (*Dicentrarchus labrax*) e há uma crescente necessidade de diversificação das espécies cultivadas. Essa procura por novas espécies que possam ser produzidas de forma economicamente sustentável levou ao início da produção de corvina (Parisi et al., 2014; Roo et al., 2010). A corvina apresenta uma boa qualidade da carne e a elevada taxa de crescimento (> 700 g após 12 meses e 2-2,5 kg após 24 meses), que parece estar associado a uma maior necessidade de proteína em comparação com outras espécies de peixes mediterrâneas cultivadas (Amoedo, 2011; Chatzifotis et al., 2012; Ribeiro et al., 2013; Saavedra et al., 2015b).

A produção desta espécie é bastante recente, é cultivada na Europa desde o final dos anos noventa. O primeiro ano com registos de produção de corvina aconteceu em 1997 em França e Itália. Atualmente, esta produção espalha-se para outros países mediterrâneos, e a sua produção está a aumentar rapidamente, principalmente em Espanha, com uma produção total de 1374 toneladas (Monfort, 2010). Em 2014, a pesca contribuiu com cerca de 1 000 toneladas de corvina para o mercado (figura 8) enquanto a aquacultura, em 2015, introduziu no mercado cerca de 15 000 toneladas de corvinas.

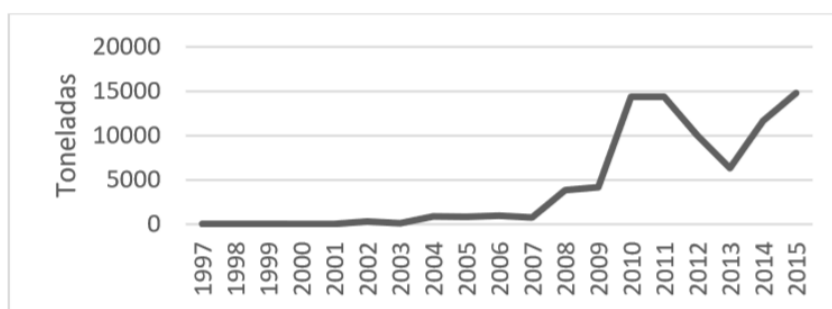


Figura 8. Evolução da produção de corvina em aquacultura (FAO, 2016).

A corvina tem características adequadas para a diversificação da aquacultura, devido ao ciclo de vida conhecido (figura 9), à boa adaptação a cativeiro, apresenta altas taxas de crescimento (>1 kg/ano), muito mais do que o potencial de crescimento das espécies atualmente cultivadas, tem uma excelente taxa de conversão alimentar (0,9 – 1,2, dependendo da alimentação) e tolera amplos intervalos de temperatura e salinidade (Quéro & Vayne, 1987; Quéméner, 2002). Tem um alto valor nutricional devido ao facto de ser um peixe magro, elevada qualidade do músculo no que toca a textura, sabor, baixo teor lipídico e alta qualidade proteica (Cárdenas, 2010; Duncan et al., 2013; Estévez et al., 2011; Jobling, 2010; Monfort, 2010; Mylonas et al., 2015; Mylonas et al., 2013; Papadakis et al., 2013; Roo et al., 2010).

A produção de corvina baseia-se nos princípios da produção de dourada e de robalo por falta de informação específica para a espécie. Apesar das técnicas estarem bem estabelecidas para as diferentes fases do ciclo, a produção ainda não atingiu o seu máximo principalmente pelos protocolos de alimentação, uma vez que as técnicas usadas são as mesmas que para outras espécies, pois para esta espécie muitos estudos estão ainda a ser realizados (Martínez-Llorenz et al., 2011).

Os reprodutores com mais de 6 kg de peso são mantidos com condições de acondicionamento e dietas ótimas de forma a assegurar a qualidade da descendência. Após

a desova, as larvas são mantidas na escuridão e alimentadas com copépodes e artémia. Segundo vários estudos, esta é uma espécie de rápido desenvolvimento larvar, elevada sobrevivência, em torno de 15 % a 40 %, 30 dias após a eclosão e 15 %, 60 dias após a eclosão e muito suscetível aos parâmetros de criação durante a sua fase larvar (Abreu et al. 2009; Cárdenas, 2010; Pousão-Ferreira et al. 2010). Um estudo comprovou a capacidade das larvas ingerirem alimento inerte desde muito cedo, sem impactos negativos na fisiologia digestiva, o que diminui o uso de alimentos vivos e aumenta o crescimento (Pousão-Ferreira et al., 2013).

Quando os pequenos peixes atingem 1 – 2 g já podem ser transferidos para as unidades de pré-engorda, até chegarem às 20 – 40 g e posteriormente transferidos para tanques de engorda, onde alcançarão, em alguns meses, o peso comercial para venda. As corvinas com 20 g são, então, transferidas para jaulas ou tanques e são alimentadas várias vezes ao dia, de forma a prevenir o canibalismo. À medida que crescem, a frequência de alimentação é alterada para apenas uma alimentação diária, no caso da produção em jaulas e 2 a 3 vezes por dia nos tanques de terra (Monfort, 2010). A quantidade de alimento fornecido correspondente a 1 – 2 % do peso corporal. A corvina tem por hábito encontrar-se no fundo da jaula, e o seu comportamento alimentar envolve a sua deslocação do fundo da coluna de água e uma subida gradual até à superfície (Cárdenas, 2010; Duncan et. al., 2013).

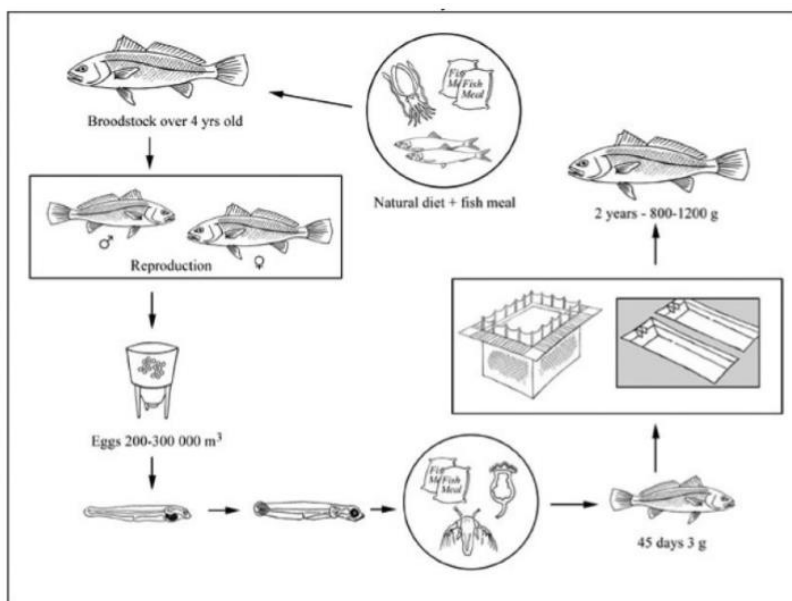


Figura 9. Ciclo de produção da *Argyrosomus regius*, FAO, 2010.

Sendo esta uma espécie euritérmica e eurialina, apresenta elevadas taxas de crescimento nos meses de verão, quando a temperatura da água ronda os 21 °C (Le François et al., 2010). Durante a fase de pré-engorda, seja em tanques ou em jaulas, estes peixes não apresentam altos níveis de *stress* quando comparados a outras espécies marinhas. A mortalidade é tão baixa que pode até estar ausente durante o crescimento. Além disso, ainda não foi indicada nenhuma doença ou ameaça que pudesse tornar a sua produção um fracasso (Duncan et al., 2013).

O principal problema nesta fase é o canibalismo, por isso é importante, para homogeneização e rentabilização dos lotes, serem realizadas várias triagens, antes da colocação dos peixes nos tanques de engorda, diminuindo a competição pelo alimento, uma alimentação frequente e uma amostragem bimestral para manter as populações com uma baixa variação na distribuição de frequência de tamanho (Duncan et al., 2013).

A produção de corvina é intensiva, realizada tanto em tanques de terra como em jaulas, estando estas distribuídas principalmente no Sul de França e Itália. Nas aquaculturas em terra, a produção é feita predominantemente em tanques circulares ou retangulares, em terra, fibra de vidro, cimento ou outros materiais com profundidade de água de 1 metro e volume de 500 m³.

Após a pesca, desocupação dos tanques e recuperação dos seus fundos, novos juvenis poderão ocupar os tanques permitindo uma produção contínua na unidade. Dependendo do sistema de cultivo, a alimentação será realizada de diferentes formas: a) em regimes intensivos, o alimento composto comercial é fornecido diariamente utilizando alimentadores automáticos ou fornecido manualmente; b) em regimes extensivos onde os animais se alimentam do alimento natural existente nos tanques de terra, assemelhando-se ao selvagem; e c) regimes semi-intensivos, onde, apesar dos indivíduos serem maioritariamente alimentados a ração, também se poderão alimentar do alimento natural disponível nos tanques de terra (Bosman & Verdejem, 2011; Ferreira, 2017; Lucas & Southgate, 2012).

Atualmente a corvina é principalmente cultivada no mar, usando jaulas de superfície circular ou quadrada de 500 - 1000 m³. Recentemente, foram usadas jaulas submersas com sucesso, são jaulas de 2000 m³ estão submersas a 10 - 20 m de profundidade e é utilizada uma densidade média de 10 – 15 Kg/m³ (Monfort, 2010).

Dos constrangimentos da produção de corvina destacam-se as taxas de crescimento variáveis que diminuem o rendimento da produção (Duncan et al., 2013), a limitada variabilidade genética dos reprodutores (Haffray et al., 2012), as doenças associadas à produção em jaulas (Merella et al., 2009; Ternengo et al., 2010; Toksen et al., 2007) e a indispensável expansão do mercado ligada à diversificação do tipo de oferta (Froehlich et al., 2017; Monfort, 2010).

1.6. Nutrição em aquacultura

É fundamental conhecer os requisitos nutricionais dos peixes para que as rações formuladas venham a satisfazer esses requisitos e que o peixe cresça o mais rápido possível, mantendo uma boa qualidade para o consumidor.

Os ingredientes mais utilizados para satisfazer as necessidades dos peixes em macro e micronutrientes, continuam a ser a farinha e o óleo de peixe, Porém, uma vez que a sua disponibilidade é baixa e o seu preço é elevado, tem havido um esforço para que sejam, gradualmente, substituídos por ingredientes de origem vegetal, como é o caso da soja. No entanto, esta substituição pode ter sérias implicações no crescimento e qualidade dos peixes, pelo que apenas uma parte da proteína animal pode ser substituída pela proteína de origem vegetal. Naylor et al., (2000) já referiam estar a ser feito um esforço a nível mundial, na evolução tecnológica, procurando ingredientes alternativos que assegurassem os requisitos nutricionais dos peixes.

Inicialmente a nutrição e alimentação de peixes começou por formulação de dietas (Council, 2011), com as quantidades mínimas de nutrientes necessários ao bom crescimento do peixe, mas rapidamente evoluiu para um conceito mais abrangente que inclui uma melhor gestão de retenção de nutrientes, reprodução, bem-estar animal e resposta ao *stress* (Lall, 2000). Uma nutrição equilibrada com todas as necessidades nutritivas da espécie, aliada a boas práticas de manejo, é uma resposta eficaz capaz de contrariar os aspetos negativos da produção (Oliva-Teles, 2012; Trichet, 2010). Deste modo é fundamental que a formulação de dietas seja cada vez mais completa e equilibrada, intensificando a produção do pescado, diminuindo o *stress* e a suscetibilidade a doenças. Assim, quanto mais rápido o peixe atingir o tamanho comercial, menos tempo se mantém nas instalações, diminuindo os custos de alimentação e de manutenção, maximizando o crescimento e a minimizando os custos. Por fim, a taxa de crescimento está intimamente

relacionada com a qualidade da dieta utilizada que influenciará o crescimento, o bem-estar animal e as propriedades organolépticas do produto final.

Relativamente aos custos de produção, a alimentação ocupa o primeiro lugar, e por isso o aperfeiçoamento das dietas é indispensável (Lane et al., 2014). Atualmente, para formular uma dieta, não é só crucial incluir os principais nutrientes (aminoácidos, ácidos gordos, vitaminas e minerais) mas também a utilização de suplementos (antioxidantes) e componentes funcionais (probióticos, pré-bióticos e imunoestimulantes). Estes componentes potenciam o crescimento, o bem-estar, a tolerância ao *stress* e a resistência a patogénicos.

O futuro da aquacultura depende não só da procura de ingredientes alternativos à farinha e ao óleo de peixe, mas também da determinação dos requisitos das espécies cultivadas que permitirá produzir dietas cada vez mais baratas e eficientes (Council, 2011).

1.7. Alternativas aos óleos e farinhas de peixe

A utilização de alimentos vegetais é essencial para o desenvolvimento futuro da aquacultura, deste modo, já em 2007, Gatlin et al., investigaram fontes mais baratas de proteína para apresentar alternativas económica e ambientalmente viáveis à farinha e óleo de peixe. Em 2010, 20,2 milhões de toneladas (14% da produção total de peixe) foram destinados a fins não alimentares, dos quais 75 % (15 milhões de toneladas) foram utilizados para farinha de peixe e óleo de peixe (FAO, 2012). A produção de farinha de peixe está a crescer a uma taxa muito rápida, principalmente por causa das indústrias asiáticas de alimentos, tornando-a mais cara a cada dia. Por outro lado, a produção mundial de grãos e oleaginosas aumentou nas últimas duas décadas como resultado de maiores rendimentos e aumento de plantações (Hardy, 2010).

Naylor et al., (2000) focaram as suas investigações em produtos de qualidade, como oleaginosas (especialmente soja), subprodutos da carne (como farinha de sangue, ossos ou penas) e proteínas microbianas. Porém, um grande problema ao usar estas dietas alternativas é que as proteínas vegetais têm um equilíbrio inadequado de aminoácidos e baixa digestibilidade proteica (Francis et al., 2001; Naylor et al., 2000), conduzindo a taxas de crescimento mais lentas que o normal. Vários efeitos negativos de ingredientes à base de plantas foram identificados nos últimos anos, como inflamação do intestino posterior ou

a redução do apetite, especialmente quando as proteínas vegetais são usadas como substitutas na maioria das proteínas animais (Brinker & Reiter, 2011; Francis et al., 2001).

Atualmente, a comunidade científica está focada principalmente na substituição de farinha de peixe, muitos estudos já foram realizados sobre seu real impacto em corvina. Em 2007, Gatlin et al., já apresentavam estudos de que a proteína vegetal fornecia uma alternativa válida para a farinha de peixe.

A inclusão de fontes de proteína vegetal e uma redução de farinha de peixe a 20 % não afetou o crescimento nem a utilização alimentar de juvenis de corvina. No entanto, uma redução ainda maior da farinha de peixe a um nível de 10 % diminuiu significativamente o desempenho e o crescimento dos peixes (Estévez et al., 2011). Outro estudo mostra que corvinas alimentadas com dietas à base de proteínas vegetais aumenta significativamente a eficiência alimentar (Ribeiro et al., 2015).

1.8. Proteína

As proteínas são os compostos mais abundantes nos organismos vivos. São moléculas orgânicas, compostas por moléculas mais simples, denominadas de aminoácidos. As proteínas exercem funções fundamentais nos processos biológicos, contêm carbono, oxigênio, azoto, hidrogênio e frequentemente enxofre. Estas, quando digeridas no trato gastrointestinal dos peixes, os aminoácidos são absorvidos e distribuídos pelo organismo (Blaxter, 1989) para substituir e formar novas proteínas (Waterlow et al., 1978). É necessária uma ingestão regular de proteínas pois os aminoácidos são constantemente utilizados pelos peixes, quer para produzir novas proteínas (crescimento e reprodução) ou para a substituição de proteínas já existentes (manutenção das funções vitais).

No caso dos peixes, a proteína representa 65 – 75% da porção orgânica em peso seco (Halver & Hardy, 2002). A proteína é um dos principais componentes da dieta dos peixes, e a sua qualidade e quantidade são fatores cruciais que influenciam o crescimento dos peixes (Conceição et. al., 1998).

Para maximizar a taxa de crescimento e melhorar a qualidade dos peixes, devem ser formuladas dietas adequadas (Conceição et.al., 2003; Hamre et al., 2013; Saavedra et.al., 2009). Considerando que os aminoácidos (AAs) são os nutrientes mais importantes para o crescimento ideal durante a fase larval, é crucial que o perfil de AA da dieta preencha as necessidades das larvas de peixe. Uma dieta equilibrada com AA promove o crescimento

dos peixes aumentando a síntese de proteínas (Aragão et al., 2004), melhorando a qualidade dos peixes, por exemplo, diminuindo a frequência de deformidades esqueléticas, que têm alta incidência nos peixes de aquacultura (Saavedra et al., 2009).

Deste modo, é importante criar um perfil equilibrado, pois se a proteína não for suficiente ou o seu perfil de aminoácidos desequilibrado, ocorre uma diminuição ou paragem no crescimento do indivíduo, perda de peso e baixas taxas de conversão de alimento. Porém, se a proteína for em excesso, os aminoácidos serão utilizados como fonte de energia ou excretados, diminuindo assim a eficiência proteica, resultando desta forma em desperdício económico e poluição ambiental (Sugiura et al., 1998).

As necessidades em aminoácidos variam de forma inversamente proporcional com o tamanho e a idade do peixe (Lovell, 1989). Os requisitos proteicos modificam-se de acordo com fatores bióticos, como a espécie, estado fisiológico, tamanho e características da dieta, qualidade da proteína, rácio energia – proteína, fontes de energia não proteicas (lípidos e hidratos de carbono) e fatores abióticos como a temperatura e salinidade (Guillaume, 1997). É importante não só a quantidade de aminoácidos disponíveis, mas também a sua qualidade. A origem dos aminoácidos condiciona a sua digestibilidade e consequentemente a sua utilização pelos peixes (Council, 2011). Os requisitos proteicos dos peixes são mais elevados do que os dos mamíferos e aves (Cowey, 1975).

Alguns estudos confirmaram que as maiores taxas de crescimento para a corvina foram obtidas com 40 a 50 % de proteína (Chatzifotis et al., 2012; Velazco-Vargas et al., 2014). Muitos estudos ainda podem ser realizados para avaliar as necessidades nutricionais das dietas utilizadas para esta espécie (Chatzifotis et al., 2012). Outro estudo realizado com juvenis de corvina indicou que 60 % da proteína foi a percentagem mais adequada, pois a análise da composição proximal do corpo revelou que os peixes alimentados com essa dieta tinham menor conteúdo lipídico e maior percentagem de proteína (Amoedo, 2011).

Alguns estudos têm avaliado o potencial dos hidratos de carbono e dos lípidos na poupança proteica, o fornecimento de lípidos é, geralmente, mais eficaz, assegurando o crescimento ótimo, uma vez que, a nível digestivo e metabólico, os peixes estão mais adaptados à utilização de lípidos do que de hidratos de carbono (Cho & Kaushik, 1990; Craig, 2009). Em corvina, vários estudos mostram um nível ótimo de lípidos na dieta de 15 a 18 % (Antonopoulou et al., 2014; Chatzifotis et al., 2012; Chatzifotis et al., 2010).

Por fim, saliente-se que o excesso de proteína aumenta a excreção de amoníaco que deteriora a qualidade da água, reforçando o objetivo chave na nutrição e alimentação em aquacultura de fornecimento da quantidade mínima necessária de proteína para um crescimento máximo (Rahimnejad et al., 2015).

1.9. Metionina e taurina

A substituição da farinha de peixe nas dietas de peixes tem sido globalmente considerada como promotora de custos e sustentabilidade ambiental. No entanto, devido aos altos requisitos proteicos dos peixes carnívoros, apenas alguns ingredientes com alto teor proteico, perfil de aminoácidos equilibrado e alta digestibilidade de nutrientes podem ser usados como fontes alternativas de proteína (Gatlin et al., 2007). A utilização de dietas ricas em proteínas vegetais em peixes carnívoros podem conduzir a desequilíbrios no perfil de aminoácidos essenciais na dieta, limitando o crescimento dos peixes (Dias et al., 2005; Messina et al., 2007; Vilhelmsson et al., 2004).

A suplementação de aminoácidos considerados limitantes para equilibrar o perfil de aminoácidos das dietas vegetais tem provado ser uma boa estratégia para melhorar o crescimento do peixe (Gaylord et al., 2007; Kaushik et al., 2004; Li et al., 2009). A metionina, além de ser necessária para a síntese proteica, é um aminoácido essencial que atua como doador de grupos metil para várias reações de metilação, incluindo o DNA, e um precursor de poliaminas, L-carnitina e cisteína (Espe et al., 2011; Wu, 2013). Este aminoácido é, frequentemente, um aminoácido em deficiência nas dietas à base de proteína vegetal.

Por outro lado, a taurina é um nutriente muito importante para peixes carnívoros. É abundante em farinha de peixe, mas limitante em alimentos vegetais e por este motivo recorre-se à suplementação deste aminoácido quando a farinha de peixe é substituída por proteína de origem vegetal.

O desempenho baixo dos peixes, frequentemente observado ao substituir grandes quantidades de farinha de peixe por fontes de proteína vegetal, pode resultar de um fornecimento desequilibrado de nutrientes selecionados, como a taurina, pois, como já referido, é ausente nas plantas, mas abundante nos peixes. (Aragão et al., 2014)

A taurina está envolvida em numerosos processos fisiológicos, como a osmorregulação, estabilização da membrana celular e circunstâncias anti-inflamatórias (El-Sayed, 2014; Foos & Wu, 2002; Salze & Davis, 2015). Muitos peixes são capazes de sintetizar quantidade adequada de taurina para apoiar funções fisiológicas normais a partir de aminoácidos sulfurados (Goto et al., 2001; Salze & Davis, 2015). No entanto, essa capacidade parece ser inexistente ou insuficiente para atender às exigências de outras espécies de peixes (Jirsa et al., 2014; Martins et al. 2018; Matsunari et al., 2008; Park et al., 2002; Salze et al., 2017). Portanto, a limitação da capacidade de sintetizar os níveis de taurina em alimentos requer a suplementação dietética com esse aminoácido quando a ingestão alimentar é insuficiente. A taurina não é incorporada nas proteínas, mas normalmente acumula-se dentro dos tecidos (particularmente no sistema nervoso central), e desempenha um papel importante em numerosos processos biológicos durante o desenvolvimento e envelhecimento (Sturman, 1993). Além do seu papel no desenvolvimento, a taurina também regula o volume celular como osmólito orgânico (Schaffer et al., 2000). Por exemplo, a taurina é responsável pela diminuição do volume regulatório e aumento, respetivamente, em numerosos tipos de células após alterações na osmolaridade extracelular (Lambert, 2004; Perlman & Glodstein, 1999).

O uso de fontes de proteína vegetal como substituto de farinha de peixe pode afetar a digestão numa perspetiva nem sempre considerada. Como os peixes conjugam os ácidos biliares com a taurina, se alimentados com dietas de baixa concentração de taurina resultam em baixa concentração de sais biliares limitada pela disponibilidade de taurina (Kim et al., 2015). Altos níveis de substituição de farinha de peixe por proteínas vegetais diminuem frequentemente o desempenho do crescimento dos peixes, conversão e digestão e/ou utilização de nutrientes (Bonaldo et al., 2014; Richard et al., 2017).

A suplementação de taurina em dietas à base de proteínas de plantas é necessária para apoiar o aumento do crescimento em algumas espécies de peixes (Gaylord et al., 2006; Takagi et al., 2008; Salze & Davis, 2015).

Estudos recentes demonstraram que a suplementação de uma dieta rica em ingredientes vegetais com 1 % de taurina melhora o crescimento de juvenis de corvina (comunicação pessoal, Ana Matias 2018).

Stress fisiológico nos peixes

Selye (1973) definiu o *stress* como "a resposta não específica do corpo a qualquer pedido feito sobre ele". O *stress*, em si, não é necessariamente prejudicial para o peixe, é considerado um mecanismo adaptativo que permite ao peixe manter o seu estado normal. Em aquacultura são vários os fatores ambientais que podem causar *stress* aos peixes, como por exemplo a manipulação, transporte, acondicionamento, a má qualidade da água, entre outros (Gonzalez-Silvera et al., 2018). Por estes motivos é importante estudar a resposta dos peixes a esses fatores de *stress* e, ao mesmo tempo, diminuir os efeitos negativos do *stress* na produção dos peixes (Gonzalez-Silvera et al., 2018).

Se a intensidade do *stress* é excessivamente severa ou duradoura, os mecanismos de resposta fisiológica podem ser comprometidos e pode ser prejudicial para a saúde e bem-estar do peixe (Barton & Iwama, 1991; Selye, 1974)

As respostas fisiológicas dos peixes ao *stress* são designadas como primárias e secundárias. As respostas primárias envolvem a produção de hormonas, bem como o aumento do cortisol no plasma, que é libertado por meio da ativação do eixo hipotálamo-hipófise interrenal (HPI), como resposta ao *stress*. O cortisol é o principal glucocorticoide nos peixes e a hormona mais diretamente associada ao *stress*. Além disso, atualmente, também tem sido correlacionado com o bem-estar dos peixes (Ellis et al., 2012).

A resposta secundária inclui alterações ao nível dos metabolitos (aumento da glucose e do lactato), parâmetros hematológicos, eletrólitos (Cl^- , Na^{2+}) e dos parâmetros imunológicos (Iwama et al., 1998; Mommsen et al., 1999; Pickering, 1981). Além disso, ocorre ainda uma resposta terciária, que se refere a aspetos no desempenho dos peixes, diminuição no crescimento, menos resistência imunitária e mudanças no comportamento (Wedemeyer & McLeay, 1981; Wedemeyer et al., 1990).

Vários estudos realizados em diferentes espécies de peixes cultivadas sob diferentes estímulos (Antonopoulou et al., 2013; Deng et al., 2009; Feidantsis et al., 2009) mostraram que o fígado é um indicador precoce de *stress* comparado a outros tecidos. Além disso, o fígado segrega enzimas digestivas para o intestino onde a digestão e absorção de nutrientes é completa (Eshel et al., 1993; Glass et al., 1989). Por esta razão, neste ensaio, foi medida a peroxidação lipídica (LPO) no fígado dos juvenis de corvina. O *stress* oxidativo é também uma resposta fisiológica associada ao *stress* nos peixes. A formação de espécies reativas de oxigénio (ROSs) é uma consequência inevitável nos organismos aeróbios. Em situações

normais, existe um equilíbrio entre a produção de ROSs e os processos antioxidantes, mas se este equilíbrio não ocorrer, as reações de oxidação podem aumentar, tais como a LPO, ou a oxidação das proteínas e do DNA. Estas reações podem provocar danos que podem mesmo colocar em causa a viabilidade celular (Livingstone, 2001).

Para manter a homeostase e prevenir o *stress* oxidativo, os organismos desenvolveram mecanismos de defesa antioxidante. Várias situações podem interferir com a resposta de defesa antioxidante nos peixes. Fatores como: idade, posição filogenética, alimentação e comportamento, mudanças de temperatura, oxigênio dissolvido, toxinas presentes na água, patologias ou parasitas, podem fortalecer ou reduzir as defesas antioxidantes (Felton, 1995; Martínez-Álvarez et al., 2005). Os tecidos dos peixes e as dietas comerciais para peixes produzidos em aquacultura contêm geralmente altos níveis de ácidos gordos polinsaturados (PUFA) (Stéphan, et. al., 1995). Os PUFA são particularmente suscetíveis à peroxidação lipídica (Halliwell & Chirico, 1993), devido ao elevado número de ligações duplas. Esta reação de oxidação pode ser uma das principais causas para a perda de função das células através da rutura da membrana celular e pela diminuição da fluidez da membrana (Hermes-Lima et al., 1995). Os níveis de *stress* oxidativo são geralmente medidos através da quantificação dos produtos resultantes da oxidação lipídica, como o malondialdeído (MDA) (Tsangaris et al., 2011).

1.10. Objetivo

O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial da suplementação de metionina e taurina numa dieta baseada em proteína vegetal, como uma estratégia nutricional no crescimento, estado fisiológico e bem-estar animal avaliado através da resposta ao *stress* de juvenis de corvina. Para isso, realizou-se um ensaio de nutrição com a duração de 60 dias, utilizando três dietas com diferentes níveis de metionina e taurina durante o crescimento de juvenis de corvina.

2. Material e métodos

2.1. Dietas experimentais

Para este ensaio, foram formuladas três dietas isoproteicas (56 %) e isolipídicas (16 %) ricas em ingredientes vegetais, suplementadas com diferentes níveis de metionina e taurina. As três dietas, D1, D2 e D3 foram testadas em triplicados.

A primeira dieta (D1) foi suplementada com 0,7 % de metionina e 1 % de taurina, a segunda dieta (D2), utilizada como controlo, continha 1,1 % de metionina e 1 % de taurina. A terceira dieta (D3) possuía 1,1 % de metionina e 2 % de taurina. A razão pela qual se considerou o tratamento D2 como controlo é porque foi estimado que o requisito de taurina seria satisfeito com a suplementação de 1 % (comunicação pessoal, Ana Matias, 2018). O tratamento D1 testa uma formulação com deficiência em metionina e o D3 testa os benefícios de uma suplementação extra de taurina. Por este motivo foi utilizada esta quantidade de taurina no presente estudo. Em relação à metionina, a formulação foi feita de

forma a que dieta D1 tivesse cerca de 25 % abaixo do requisito de metionina estimado para a corvina desta idade, enquanto que a D2 e D3 tivesse 20 % acima do requisito de metionina (Moura et al., 2018). Para isso, foram analisados os perfis de aminoácidos (AAs) de todos os ingredientes e suplementou-se as dietas de forma a chegar aos 0,7 % e 1,1 % de metionina.

Durante os primeiros 3 dias do ensaio, os peixes foram alimentados com uma ração comercial - Ração Gemma 1,8 - para aclimatização ao seu novo espaço. A partir do 4º dia passaram a ser fornecidas as dietas experimentais, inicialmente com um diâmetro de 2 mm, e decorridos 30 dias do ensaio, iniciou-se a transição para uma ração de 3 mm.

As dietas foram formuladas, fabricadas e extrudidas na empresa SPAROS, Lda. (Olhão, Portugal). Os ingredientes em pó foram misturados num misturador de hélice dupla e subsequentemente moídos duas vezes num moinho de martelos micropulverizante (SH1, Hosokawa-Alpine, Alemanha). Posteriormente, a fração de óleo foi adicionada à mistura, as dietas foram humidificadas e aglomeradas por meio de extrusão de baixo cisalhamento (Dominioni Group, Itália). De seguida, as dietas foram secas em estufa de convecção (OP 750-UF, LTE Scientifics, Reino Unido) por 4 horas a 60 °C, desintegradas (Neuro Farm, Alemanha) e peneiradas a 2 e 3 mm. A formulação das três dietas é apresentada nas tabelas IV e V.

Tabela IV. Formulação e composição proximal das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	D1	D2	D3
Caseína	5,00	5,00	5,00
Gelatina	6,00	6,00	6,00
MIX de proteínas e vitaminas	34,80	34,80	34,80
Concentrado de proteína	15,00	15,00	15,00
Glúten de trigo	15,00	15,00	15,00
Amido de Batata	7,00	6,60	5,60
Óleo de peixe	7,00	7,00	7,00
Óleo de colza	7,00	7,00	7,00
Lecitina	2,00	2,00	2,00
Metionina	0,20	0,60	0,60
Taurina	1,00	1,00	2,00
Total	100,00	100,00	100,00

Composição proximal (%)

Proteína	56,04	56,27	57,26
Gordura	16,12	16,12	16,12
Fibra	1,44	1,44	1,44
Cinzas	5,12	5,11	5,09
Metionina	0,69	1,08	1,08
Taurina	0,99	0,99	1,97

A formulação das dietas foi realizada de forma a que a dieta D1 tivesse cerca de 25 % abaixo do requisito de metionina estimado para a corvina com idade utilizada no presente estudo, enquanto que a D2 e D3 foi formulada de modo a que o requisito de metionina fosse acima dos 20 %. Para isso, foram analisados os perfis de aminoácidos (AA) de todos os ingredientes. Como a formulação é de base vegetal e a taurina está presente essencialmente na proteína animal, foi necessário suplementar com 1 e 2 % pois os ingredientes da dieta tinham apenas taurina residual. A percentagem de amido foi alterada para se obter 100 % em todas as dietas.

Tabela V. Composição em aminoácidos das dietas experimentais.

Composição em aminoácidos (por 100 g de AA)	D1	D2	D3
Arginina	7,71	7,95	7,86
Histidina	2,22	2,20	2,22
Lisina	5,70	5,53	5,32
Treonina	3,39	3,41	3,50
Isoleucina	4,13	4,08	3,98
Leucina	6,94	6,91	6,83
Valina	4,38	4,39	4,24
Fenilalanina	4,80	4,75	4,91
Cistina	0,54	0,57	0,58
Tirosina	3,73	3,57	3,57
Ácido aspártico + Asparagina	8,23	8,21	8,21
Ácido glutâmico + Glutamina	20,78	20,07	19,28
Alanina	4,07	3,99	4,11

Glicina	5,63	5,74	5,62
Prolina	7,87	7,99	7,35
Serina	5,00	5,25	5,25
Metionina	1,70	2,02	2,23
Taurina	3,17	3,37	4,95

2.2. Ensaio de crescimento

O ensaio decorreu durante 60 dias entre 1 de outubro de 2018 e 30 de novembro de 2018, nas instalações da EPPO (Estação Piloto de Piscicultura de Olhão), do Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA).

Aos 71 dias de idade, corvinas com um peso e comprimento inicial de $12,0 \pm 1,6$ g e $10,8 \pm 0,4$ cm de comprimento, respetivamente, foram distribuídas aleatoriamente em 9 tanques redondos de fibra de vidro de 1500 L de capacidade (figura 10), cada um contendo 120 peixes. As dietas experimentais foram aleatoriamente designadas para os grupos de peixes em triplicado. O sistema de água funcionou em circuito aberto, fornecidos com fluxo contínuo de água proveniente da Ria Formosa, previamente filtrada passando por um cartucho antes de entrar nos tanques.

Ao longo do ensaio, a salinidade média foi de 37 ± 1 ppt e o oxigénio dissolvido foi de $5,7 \pm 0,4$ mg/L. De forma a assegurar que a quantidade de oxigénio não baixava dos 4 mg/L, os tanques estavam individualmente equipados com sondas de oxigénio que ativavam a injeção de oxigénio para a água quando o valor mínimo acima referido fosse atingido. A temperatura foi de $20,9 \pm 0,4$ °C, a água foi aquecida previamente por uma caldeira para que a temperatura não variasse muito e não descesse dos 19 °C.

Durante o ensaio, o fotoperíodo foi de 14 horas de luz e 10 horas de escuridão. O caudal foi verificado todos os dias de forma a assegurar uma renovação de não menos que 50 % por hora. As corvinas têm muita tendência para saltar, especialmente durante a noite e como tal todos os tanques foram cobertos com rede. As dietas foram distribuídas manualmente e fornecidas *ad libitum* cinco vezes ao dia e a quantidade de ração fornecida foi quantificada diariamente.



Figura 10. Tanques de ensaio, Estação Piloto de Piscicultura de Olhão.

2.2.1. Registos e Amostragem

O consumo de ração, a mortalidade, a temperatura da água, bem como a percentagem de oxigénio dissolvido, foram registados diariamente.

No início do ensaio, foram pesados e medidos individualmente 30 peixes. Os restantes exemplares de cada tanque foram contados e pesados em grupos de 10 peixes. Cinco semanas após o início do estudo, foi realizada uma amostragem intermédia, em que 30 peixes aleatoriamente foram novamente pesados e medidos. O objetivo desta amostragem foi monitorizar o ensaio, ou seja, saber quanto é que os peixes estavam a crescer.

O comprimento total de cada peixe foi medido utilizando um ictiómetro graduado ao milímetro (figura 11). O peso foi medido em gramas através de uma balança (Ken & Sohn GmbH, modelo ITB 35K1IP) com sensibilidade de 1 g.



Figura 11. Exemplar de juvenil de corvina (*Argyrosomus regius*) utilizado neste ensaio.

No final do ensaio, todos os peixes foram medidos e pesados. Os peixes, em jejum desde o dia anterior, foram transferidos para uma tina com água, de temperatura igual à dos tanques, que continha 100 mg/L de fenoxietanol (Barata et al., 2016). Os peixes foram retirados da tina, pesados e medidos e colocados numa outra tina sem anestésico para recuperação.

2.2.2. Alimento ingerido

A quantidade de alimento diário consumido por tanque foi determinada descontando ao alimento fornecido, o alimento rejeitado. O alimento rejeitado foi quantificado diariamente durante uma semana por mês. Nessa semana, 1 hora após o final da alimentação, a torneira da purga (escoamento da água do tanque) foi aberta sobre um filtro que retinha o alimento não consumido. Esse alimento foi pesado e dividido pelo fator de hidratação, obtendo-se o peso seco do alimento não ingerido. A média do alimento

rejeitado determinada durante uma semana foi utilizada como referência para o respectivo mês. O fator de hidratação foi determinado dividindo o peso da dieta hidratada durante 2 horas em água à mesma temperatura, pelo peso seco da mesma (tabela VI).

Tabela VI. Fator de hidratação das dietas experimentais utilizadas.

	Dieta	D1	D2	D3
Fator de	2 mm	3,0	2,7	2,7
hidratação	3 mm	2,6	2,8	2,9

2.3. Métodos analíticos

2.3.1. Cálculos analíticos

- Taxa de crescimento específica (SGR):

$$\text{SGR} = ((\text{Ln (peso final)} - \text{Ln (peso inicial)}) / \text{Número de dias}) * 100$$

- Ingestão diária de alimento (IDA):

$$\text{IDA} = \text{Alimento fornecido} - \text{Alimento rejeitado}$$

- Taxa de conversão alimentar (FCR):

$$\text{FCR} = \text{consumo (g MS/peixe)} / (\text{peso final} - \text{peso inicial})$$

2.3.2. Parâmetros sanguíneos

Para análise dos parâmetros sanguíneos, foi recolhido sangue a 12 peixes por tanque, em jejum e anestesiados com fenoxietanol (100 mg/L). O sangue foi recolhido da veia caudal para tubos de eppendorf heparinizados, com a ajuda de seringas também heparinizadas.

Para o teste de *stress*, foram separados 2 grupos de 6 peixes recolhidos aleatoriamente, considerados em condições de pré e pós-*stress*. A amostra de sangue inicial foi retirada do primeiro grupo. O segundo grupo de peixes foi exposto ao ar por 30 segundos e o sangue foi retirado após um período de 30 minutos para recuperação.

O plasma foi obtido após a centrifugação do sangue a 2 500 g por 10 min e de seguida armazenado a -80 ° C até a análise ser feita. O cortisol foi determinado através do Kit Cortisol ELISA (RE52611, IBL International). Os níveis de glucose foram analisados através de um Kit de diagnóstico clínico, QCA (Espanha) tendo como base a reação de

glucose oxidase (GOD) e peroxidase (POD). Os níveis de lactato foram determinados através de um kit SPINREACT (Espanha) tendo como base a reação de lactato oxidase e peroxidase. A glucose e o lactato foram lidos a 505 nm. À exceção do cortisol, que foi determinado em duplicado, todos os outros parâmetros foram determinados em triplicados e analisados por reação colorimétrica no leitor de microplaca (Thermo Scientific) a 450 nm.

2.3.3. Peroxidação lipídica

Foram sacrificados 4 peixes por tanque e removidos os respectivos fígados. Em seguida foram imediatamente congelados em azoto líquido. As amostras foram analisadas em pools de 4 fígados por tanque.

As amostras foram primeiro homogeneizadas em tampão gelado (HEPES 30 mM, sacarose 0,25 mM, EDTA 0,5 mM, K₂HPO₄ 5 mM, DTT 1 mM, pH 7,4) (máximo de 10 volumes de tampão por peso de amostra), utilizando um UltraTurrax e depois centrifugada a 1 000 g durante 10 min a 4 °C. O sobrenadante foi recolhido e centrifugado novamente a 15 000 g durante 20 min a 4 °C. As atividades enzimáticas foram avaliadas no sobrenadante a 37 °C, usando procedimentos espectrofotométricos, através da quantificação do malondialdeído (MDA) utilizando um método colorimétrico com um máximo de absorvância a 586 nm.

2.4. Análise estatística

A análise estatística seguiu a metodologia descrita por Zar (1999). Os dados foram submetidos a uma análise de variância a um fator (one-way ANOVA) de modo a testar a existência de diferenças significativas entre as dietas experimentais, considerando os níveis de taurina e metionina como variáveis. A significância estatística foi testada para $p < 0.05$. Quando os efeitos foram significativos ($p < 0.05$) procedeu-se à comparação de médias, utilizando o teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas através do *software* SPSS 21.0 para o Windows.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

3. Resultados

3.1. Ensaio de crescimento

A taxa de sobrevivência rondou os 98,9 % e não foi significativa entre tratamentos.

O peso inicial dos peixes amostrados foi de $12 \pm 1,6$ gramas, facto que garante a existência de homogeneidade nos peixes utilizados e reduz a possibilidade de desvios nos dados em estudo.

No final do ensaio, os peixes de todos os tratamentos quadruplicaram o seu peso, embora o peso médio final da dieta D1 ($46,01 \pm 1,47$ g) tenha sido inferior ao verificado na dieta D2 ($54,55 \pm 2,03$ g) e D3 ($53,55 \pm 3,02$ g). Desta forma, para um nível de significância de 5 %, verificou-se que existem diferenças significativas entre o peso final dos peixes administrados com a dieta D1 e restantes peixes (dieta D2 e D3) (figura 12).

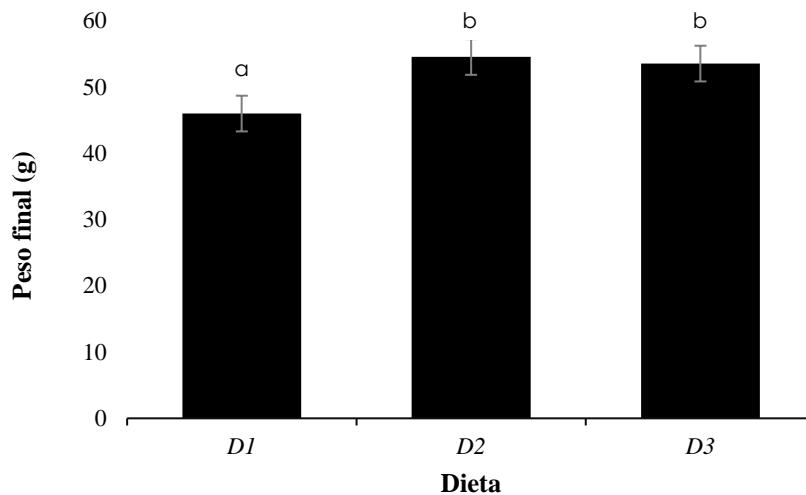


Figura 12. Peso final, em gramas, de *Argyrosomus regius* alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3) com valores médios e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas para $p < 0,05$.

De acordo com a figura 13, todos os peixes administrados com as diferentes dietas aumentaram o seu peso de forma gradual ao longo do ensaio.

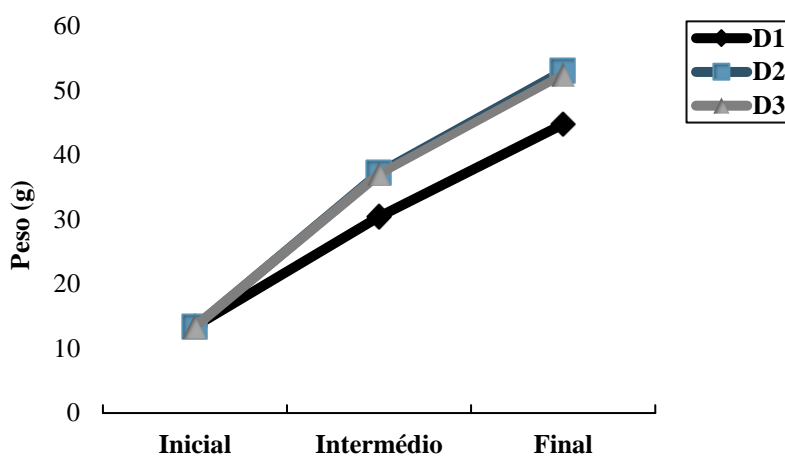


Figura 13. Evolução do peso, em gramas, da amostragem inicial, intermédia e final ao longo de 60 dias de ensaio, de *Argyrosomus regius* alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3).

A taxa de crescimento específico (SGR) é significativamente menor nos peixes alimentados com a dieta D1, em comparação com aqueles alimentados com as dietas D2 e D3 ($p = 0,00$ e $p = 0,01$) (figura 14). O crescimento registado nos peixes alimentados com as dietas D2 e D3 foram semelhantes ($2,39 \pm 0,06$ %/dia e $2,35 \pm 0,09$ %/dia,

respetivamente). De acordo com o Tabela VII, não foram registadas diferenças significativas na taxa de crescimento específico relativas aos peixes sujeitos às dietas D2 e D3 ($p = 0,77$). No entanto, para um nível de significância de 5 %, verificou-se a existência de diferenças significativas entre o índice SGR dos peixes sujeitos à dieta D1 e os sujeitos às restantes dietas ($p = 0,00$ e $p = 0,01$).

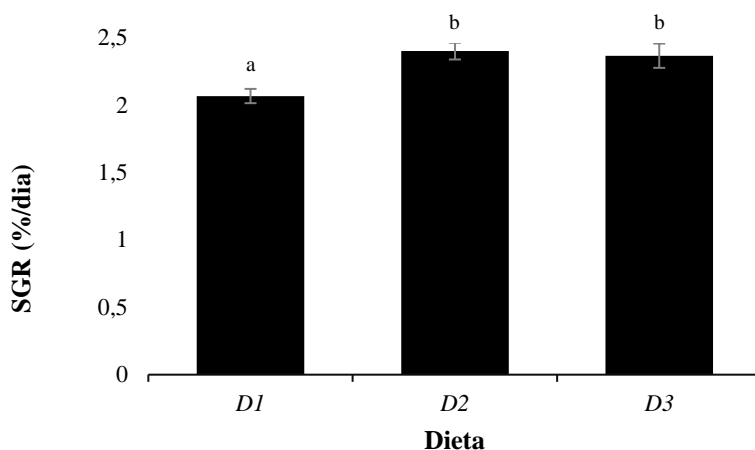


Figura 14. Taxa de crescimento específico, em %/dia, de *Argyrosomus regius* alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3) com valores médios e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas para $p < 0,05$.

Os peixes alimentados com a dieta D1, são os que apresentam uma maior taxa de conversão alimentar (figura 16), evidenciam menores níveis de ingestão diária de alimento (figura 15). De acordo com a Tabela VII, enquanto o valor médio da ingestão diária de alimento na dieta D2 ($59,29 \pm 0,08$ g/dia) e na dieta D3 ($57,77 \pm 0,12$ g/dia) surgem próximos, não se evidenciando a existência de diferenças significativas entre as duas dietas ($p = 0,79$), no caso da dieta D1, o valor médio surge muito inferior ($49,94 \pm 0,05$ g/dia). Assim, verificou-se a existência de diferenças significativas entre a dieta D1 e as restantes dietas ($p = 0,01$).

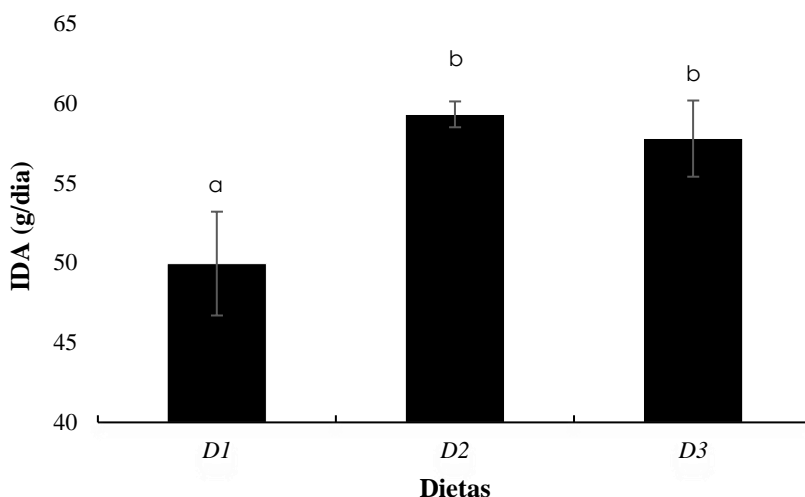


Figura 15. Ingestão diária alimentar de *Argyrosomus regius* alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3) com valores médios e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas para $p < 0,05$.

De acordo com a figura 16, a taxa de conversão alimentar (FCR) é significativamente maior na dieta D1 ($1,06 \pm 0,09$), do que nas dietas D2 e D3 para um nível de significância de 5%, ($p = 0,01$ e $p = 0,02$) (Tabela VII).

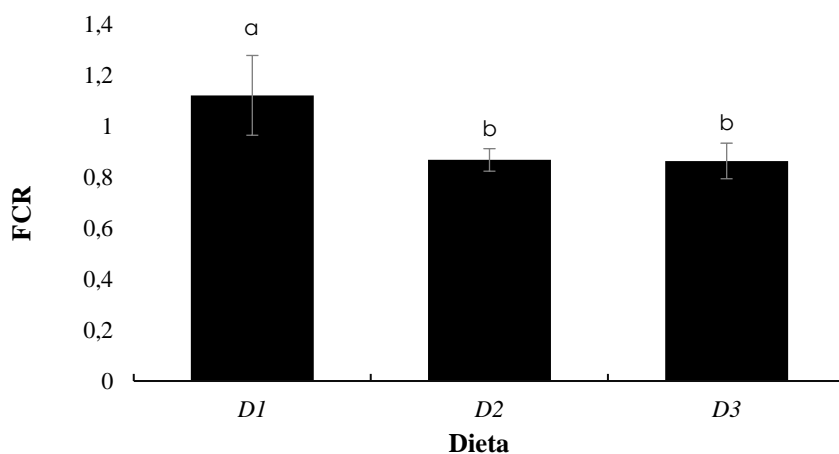


Figura 16. Taxa de conversão alimentar de *Argyrosomus regius* alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3) com valores médios e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas para $p < 0,05$.

A tabela VII seguinte faz referência à existência de diferenças significativas entre os peixes expostos à dieta D1 e os restantes.

Tabela VII. Crescimento, ingestão e eficiência da utilização do alimento de *Argyrosomus regius* alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3).

Evolução de Crescimento	Dietas					
	D1		D2		D3	
	Média ± SD	p	Média ± SD	p	Média ± SD	p
Peso Inicial (g)	13,44 ± 0,04	0,09/0,80	13,33 ± 0,04	0,09/0,20	13,41 ± 0,06	0,80/0,20
Peso Final (g)	46,01 ± 1,47 ^a	0,01/0,02	54,55 ± 2,03 ^b	0,01/0,86	53,55 ± 3,02 ^b	0,02/0,86
FCR	1,06 ± 0,09 ^a	0,04/0,02	0,87 ± 0,05 ^b	0,04/0,91	0,85 ± 0,07 ^b	0,02/0,91
SGR (%/dia)	2,09 ± 0,05 ^a	0,00/0,01	2,39 ± 0,06 ^b	0,00/0,77	2,35 ± 0,09 ^b	0,01/0,77

Média ±SD são apresentados para cada parâmetro. Os resultados da One-way ANOVA. Letras diferentes indicam diferenças significativas para $p < 0,05$.

3.2. Análises de parâmetros sanguíneos

Os parâmetros sanguíneos como o cortisol, a glucose e o lactato foram analisados nos peixes considerados em pré e pós-*stress*, com o intuito de analisar o efeito de diferentes níveis de taurina e metionina no *stress* fisiológico dos peixes em estudo. No caso do cortisol, em ambiente de pré-*stress*, os valores médios surgem superiores na dieta D1 ($1,17 \pm 1,03 \mu\text{g/dl}$), sendo mais reduzidos no caso da dieta D2 ($0,46 \pm 0,47 \mu\text{g/dl}$). No entanto, para um nível de significância de 5%, não se verificaram diferenças significativas entre as três dietas experimentais (Tabela VIII). Uma situação idêntica é verificada em ambiente de pós-*stress*, dado que a dieta D1 apresenta valores médios superiores ($0,50 \pm 0,38 \mu\text{g/dl}$) e a dieta D2 os valores mais reduzidos ($0,34 \pm 0,21$). Porém, não existiram diferenças significativas nos níveis de cortisol no plasma dos peixes sujeitos aos três tipos de dietas. No entanto, entre o contexto de pré-*stress* e pós-*stress* verificou-se que os níveis de cortisol no plasma dos peixes são superiores no caso da situação de pré-*stress* nas três dietas em estudo (figura 17).

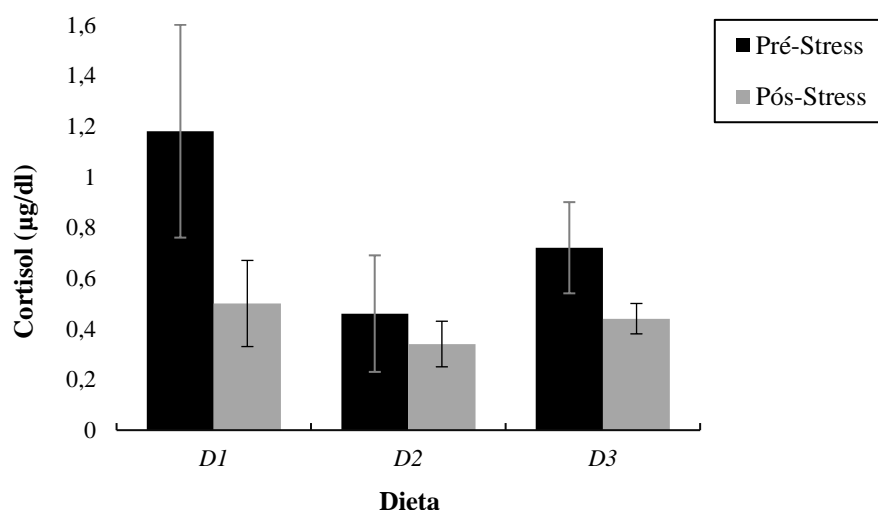


Figura 17. Níveis de cortisol ($\mu\text{g/dl}$) medidos no plasma, em condições de pré e pós-*stress*, de *Argyrosomus regius* alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3). Os valores apresentados correspondem à média \pm SEM.

Relativamente aos níveis de glucose no plasma, verificou-se que houve um aumento dos níveis de glucose no plasma após os peixes serem submetidos ao teste de *stress*. Neste caso, a dieta D2 e D3 apresentam uma diferença idêntica entre os dois contextos, sendo que no caso da dieta D1 a diferenças entre o pós-*stress* e o pré-*stress* é mais reduzida (figura 18). Em pré-*stress*, os níveis de glucose surgem superiores na dieta D3 ($53,75 \pm 23,05$ mg/dl) e mais reduzidos na dieta D1 ($21,19 \pm 21,39$ mg/dl). Apesar das diferenças entre os valores médios, para um nível de significância de 5 %, não existiram diferenças significativas nos níveis de glucose no plasma dos peixes que ingerem cada uma das três dietas (Tabela VIII). Após o teste de *stress*, a situação é diferente, dado que os valores médios superiores são apresentados pelos peixes sujeitos à dieta D2 ($84,66 \pm 11,41$ mg/dl). Ainda assim, os valores mínimos voltam a ser apresentados pelos peixes expostos à dieta D1 ($54,25 \pm 15,16$ mg/dl). Para um nível de significância de 5 %, a dieta D1 apresentou diferenças significativas relativamente às restantes dietas ($p = 0,00$; $p = 0,01$), sendo que entre a dieta D2 e D3 não existem diferenças significativas (Tabela VIII).

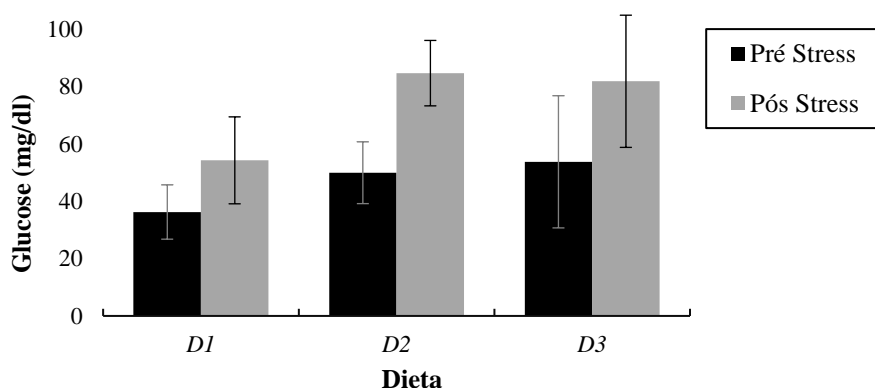


Figura 18 - Níveis de glucose (mg/dl) medidos no plasma, em condições de pré e pós-*stress*, de *Argyrosomus regius* alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3). Os valores apresentados correspondem à média \pm SEM.

No lactato, em situação de pré-*stress*, os peixes alimentados com a dieta D2 são os que apresentam maiores níveis deste parâmetro ($18,91 \pm 12,43$ mg/dl), sendo que os peixes expostos à dieta D1 apresentaram os menores níveis deste parâmetro ($15,10 \pm 7,71$ mg/dl). Para um nível de significância de 5 %, não foram registadas diferenças significativas entre os níveis de lactato dos peixes que consomem as diferentes dietas numa situação de pré-*stress* (Tabela VIII). A exposição a uma situação de *stress* conduz a que, em pós-*stress*, os níveis de lactato no plasma sejam superiores aos verificados em pré-*stress*, qualquer que seja a dieta consumida pelos peixes (figura 19). No grupo de peixes controlo, o aumento dos níveis de lactato é reduzido, pelo que após o teste de *stress*, os peixes alimentados com a dieta D2 apresentam os menores níveis deste parâmetro ($19,78 \pm 22,81$ mg/dl). Por outro lado, os peixes aos quais se administrou a dieta D3 são os que maiores valores de lactato apresentam após o teste de *stress* ($24,20 \pm 14,88$ mg/dl). Antes e após o teste de *stress* não foram observadas diferenças significativas nos níveis de lactato entre os peixes expostos a cada uma das três dietas em estudo (figura 19).

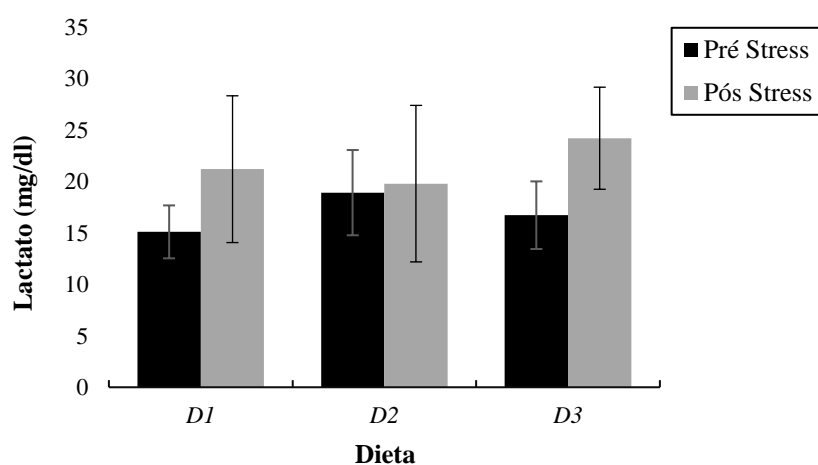


Figura 19. Níveis de lactato (mg/dl) medidos no plasma, em condições de pré e pós-*stress*, de *Argyrosomus regius* alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3). Os valores apresentados correspondem à média \pm SEM.

Sendo o MDA um composto resultante da oxidação de ácidos gordos polinsaturados, foi utilizado como indicador da peroxidação lipídica por forma a analisar o efeito oxidativo das diferentes dietas experimentais no fígado dos peixes em estudo. Desta forma, os peixes expostos à dieta D1 foram os que apresentaram maiores níveis de *stress* oxidativo ($1,60 \pm 0,27$) e os peixes expostos à dieta D3 são os que apresentam menores

valores ($1,22 \pm 0,71$). Esta situação é evidenciada pela figura 20, verificando-se que as diferenças entre os níveis de MDA são de pequena dimensão.

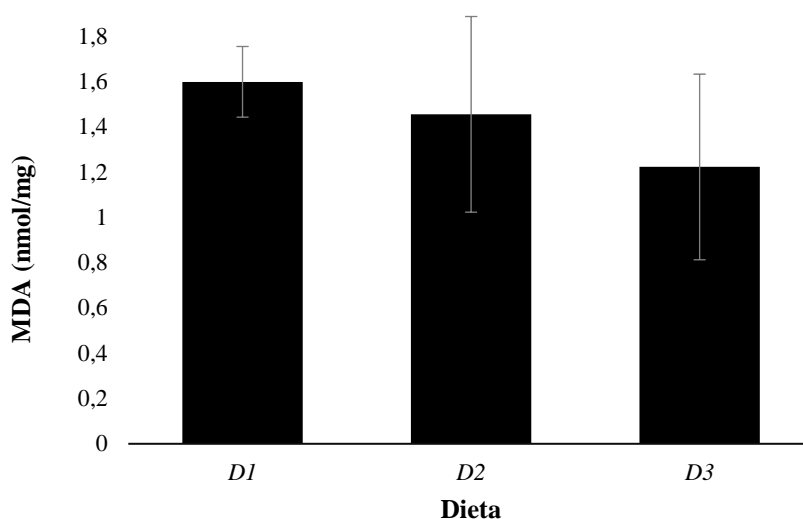


Figura 20. Níveis de MDA (nmol/mg) medidos no fígado de *Argyrosomus regius* alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3). Os valores apresentados correspondem à média \pm SEM.

No entanto, para um nível de significância de 5 % verificou-se a inexistência de diferenças significativas entre os níveis de *stress* oxidativo dos peixes expostos às diferentes dietas (Tabela VIII).

Tabela VIII - Análises dos parâmetros de *stress*, cortisol, glucose e lactato medidos no plasma e *stress* oxidativo, medido no fígado, de *Argyrosomus regius* alimentada com as dietas experimentais (D1, D2 e D3).

Análises	Dietas						
	D1		D2		D3		
	Média \pm SD	p	Média \pm SD	p	Média \pm SD	p	
Cortisol ($\mu\text{g/dl}$)	Pós- <i>stress</i>	0,50 \pm 0,38	0,59/0,94	0,34 \pm 0,21	0,59/0,83	0,44 \pm 0,13	0,94/0,83
	Pré- <i>stress</i>	1,17 \pm 1,03	0,32/0,54	0,46 \pm 0,47	0,32/0,86	0,71 \pm 0,45	0,54/0,86
Glucose (mg/dl)	Pós- <i>stress</i>	54,25 \pm 15,16	0,00/0,01	84,66 \pm 11,41	0,00/0,94	81,83 \pm 23,05	0,01/0,94
	Pré- <i>stress</i>	36,23 \pm 9,47	0,16/0,07	49,93 \pm 10,77	0,16/0,87	53,75 \pm 23,05	0,07/0,87
Lactato (mg/dl)	Pós- <i>stress</i>	21,19 \pm 21,39	0,99/0,95	19,78 \pm 22,81	0,99/0,89	24,20 \pm 14,88	0,95/0,89
	Pré- <i>stress</i>	15,10 \pm 7,71	0,71/0,94	18,91 \pm 12,43	0,71/0,89	16,72 \pm 9,86	0,94/0,89
MDA (nmol/mg)		1,60 \pm 0,27	0,96/0,75	1,46 \pm 0,75	0,96/0,89	1,22 \pm 0,71	0,75/0,89

Média \pm SD são apresentados para cada parâmetro. Os resultados da One-way ANOVA. Letras diferentes indicam diferenças significativas para $p < 0,05$.

4. Discussão

Os efeitos da limitação da metionina em dietas à base de proteínas vegetais nos peixes estão frequentemente associados a um crescimento reduzido e uma menor eficiência alimentar (Belghit et al., 2014; Figueiredo-Silva et al., 2015; Michelato et al., 2013; Tulli et al., 2010). Embora a metionina seja um dos aminoácidos mais estudados em nutrição de peixes, as pesquisas relacionadas com a taurina tornam-se um tópico importante na aquacultura devido aos esforços para substituir a farinha de peixe por ingredientes de proteínas vegetais, que são deficientes em taurina. (Michelato et al., 2018).

No presente estudo, os juvenis de corvina que apresentaram um maior aumento de peso foram os peixes do grupo controlo (dieta D2) e D3, por outro lado, os peixes aos quais foi administrada a dieta D1, composta por menor quantidade de metionina (0,7 %) e de taurina (1 %), apresentaram um peso final significativamente mais baixo que os peixes alimentados com a dieta D2 e D3.

Os peixes sujeitos à dieta D2 e D3 são os que apresentam um maior aumento de peso, facto que permite sugerir que o aumento da taurina não influencia o peso dos peixes, mas sim a metionina, uma vez que quanto maior é o nível deste aminoácido maior tende a ser o peso dos peixes.

A metionina mostrou ser relevante no aumento do peso dos peixes, uma vez que o aumento em 0,4 pontos percentuais se traduziu num aumento do crescimento dos peixes. No entanto, o aumento da taurina em 1 ponto percentual não conduziu a nenhuma vantagem ao nível do crescimento dos peixes, porém, um estudo realizado por Gaylord et al., (2006), onde o crescimento da truta arco-íris mostrou ter sido superior quando as dietas de proteína vegetal foram suplementadas com taurina. Num estudo realizado por Park et al. (2002) foi observado um maior crescimento nos juvenis de linguado (*Paralichthys olivaceus*) alimentados com dietas enriquecidas com taurina. Moura et al., (2018) não observaram efeitos no crescimento de *Argyrosomus regius*, com um peso inicial de 50g, quando as dietas foram suplementadas com metionina, porém a suplementação de taurina melhorou todos os parâmetros de crescimento avaliados, dados contraditórios com o presente estudo. Os autores concluíram que a suplementação de todas as dietas proteicas para truta com taurina é benéfica e que a suplementação de metionina não traz vantagens ao crescimento. Porém um estudo diferente, contraditório ao que já tinham observado, refere que dietas com suplementação de metionina e / ou taurina não afetaram os parâmetros de crescimento (Gaylord et al., 2007).

No caso da taxa de crescimento específico, esta é maior nos peixes sujeitos às dietas D2 e D3, não se verificando diferenças significativas entre os dois tratamentos. No caso da dieta D1, os valores deste índice surgem inferiores, o que permite sugerir que uma suplementação de 1,1 % de metionina promove um maior crescimento do que a suplementação de apenas 0,7 %. Estudos atuais relataram que a suplementação com metionina melhorou o crescimento e a capacidade digestiva do peixe (Rolland et al., 2015). Takagi et al. (2001) também observaram que o crescimento de juvenis de pargo (*Pagrus major*) alimentados com uma dieta à base de proteínas de soja aumentou com a suplementação de metionina. No presente estudo, o aumento da suplementação de taurina de 1 % para 2 % não parece influenciar o crescimento dos juvenis de corvina. Park et al. (2002) também estudaram os efeitos da suplementação de taurina na solha japonesa, e também não melhorou o crescimento desta espécie.

Assim, o aumento do nível de taurina em 1 % não influencia os valores obtidos por este índice, verificando-se o inverso com os níveis de metionina, dado que quanto menores forem estes níveis, menor tende a ser a taxa de crescimento específico dos peixes sob ensaio.

Estudos realizados em juvenis da espécie *Seriola quinqueradiata* mostraram que a suplementação com taurina não teve efeitos adicionais no crescimento (Matsunari et al., 2005). Em oposição, Takagi et al. (2006) demonstraram que esta espécie beneficiou, ao nível do crescimento, da suplementação da taurina numa dieta com proteína de soja suplementada com metionina. Takagi et al. (2006) relataram ainda que peixes da espécie *Seriola quinqueradiata* alimentado com dietas suplementadas com metionina em níveis equivalentes a farinha de peixe não trazia qualquer vantagem no crescimento nem na saúde dos peixes. Takagi et al. (2006) relatou também que a mesma espécie alimentada com dietas suplementadas com metionina em níveis equivalentes aos da farinha de peixe eram capazes de suportar o crescimento ideal do peixe.

Moura et al., (2018) mostraram que a suplementação com taurina aumentou o desempenho do crescimento e diminuiu a taxa de conversão alimentar, indicando que o benefício de crescimento da suplementação com taurina na dieta também foi relacionado a uma melhoria na utilização da ração. Um estudo similar, mas com outra espécie carnívora, o robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), foi demonstrado que o peixe reagia bem com uma dieta baseada em vegetais, mas não se beneficiava de uma suplementação dietética de metionina ou taurina (Coutinho et al., 2017). Outros estudos sobre o crescimento de peixes carnívoros alimentados com dieta baseada em proteína vegetal suplementada com taurina (Gaylord et al., 2006, 2007; Jirsa et al., 2014; Takagi et al., 2006; Salze et al., 2017) sugerem que este aminoácido é indispensável para esse grupo de peixes. Takagi et al. (2008) avaliaram o desempenho de crescimento de dieta da espécie *Seriola quinqueradiata* alimentada com proteínas vegetais, confirmou a taurina como um nutriente essencial para a manutenção de condições fisiológicas e crescimento normal.

Na taxa de conversão alimentar não se verificam diferenças entre os valores registados pelos peixes sujeitos à dieta D2 e D3, sendo que os que experimentaram a dieta D1 apresentam maiores valores e por isso uma taxa de conversão alimentar menos desejável. Quanto menor forem os níveis de metionina, maior tende a ser a taxa de conversão alimentar, Gaylord et al., (2007) mostraram que a taxa de conversão alimentar foi afetada pela suplementação de metionina. Um estudo anterior relataram, que a suplementação de taurina melhora a taxa de conversão alimentar (Gaylord et al., 2006)

Em relação à ingestão diária de alimento, pretende-se que seja reduzida para que com uma menor ingestão, o peso dos peixes aumente mais rapidamente. Nos peixes

expostos à dieta D2 e D3, este índice é mais elevado, sendo que no caso da dieta D1, os valores surgem menores, tendo em conta que estes peixes verificaram uma taxa de conversão alimentar maior. Assim, tal como nos índices anteriores, os níveis de taurina não influenciam este índice, sendo que a maior influência é exercida pela metionina. Moura et al., (2018) verificaram que a suplementação com taurina na dieta promoveu uma diminuição na ingestão diária de ração, ao mesmo tempo em que melhorou as taxas de conversão alimentar.

No que diz respeito aos parâmetros sanguíneos, tanto nas situações de pré como em pós-*stress*, não existem diferenças significativas nos níveis de cortisol dos peixes alimentados com as diferentes dietas experimentais. No entanto os níveis de cortisol tendem a ser superiores em pré-*stress*. Este resultado pode ser explicado por uma variação muito grande na resposta individual dos peixes, devido à grande heterogeneidade de tamanhos que existe na corvina, o que leva a uma maior variabilidade dos dados. De facto, os níveis de *stress* são geralmente analisados em relação aos níveis basais e pós-*stress* de cortisol, embora algumas espécies de teleósteos tenham uma baixa resposta do cortisol ao *stress*, como acontece no caso da corvina (Fanouraki et al., 2011).

No caso da glucose, em pré-*stress*, não existem diferenças significativas entre as dietas. Contudo, após o teste de *stress*, a dieta D1 apresenta diferenças nos níveis de glucose relativamente às restantes, possuindo assim níveis inferiores deste parâmetro, pelo que se sugere que menores níveis de metionina na dieta podem provocar a redução dos níveis de glucose no plasma. Por outro lado, existem diferenças significativas entre o pré-*stress* e o pós-*stress*, sendo que em pós-*stress* os níveis de glucose surgem superiores. A existência de níveis superiores de taurina conduzem a níveis superiores de glucose no sangue dos peixes que ingerem tal dieta.

No caso do lactato, antes e após o teste de *stress*, não existem diferenças significativas entre os peixes alimentados com as diferentes dietas administradas. No entanto, sugere que os peixes que consomem menores níveis de metionina são os que apresentam menores níveis de lactato no plasma.

Embora a maioria dos peixes siga um padrão generalizado de resposta ao *stress*, com concentrações elevadas de cortisol, glucose e lactato, há especificidade de espécie no padrão e magnitude da resposta, bem como na tolerância ao *stress* (Vijayan & Moon, 1994). Assim, existem diferenças na resposta generalizada ao *stress* entre diferentes espécies de peixes, diferentes *stocks* ou linhagens da mesma espécie e até mesmo entre

indivíduos (Vijayan & Moon, 1994). No presente estudo, a diferente suplementação de taurina e metionina não afetou os parâmetros plasmáticos nas condições experimentais analisadas.

A análise do *stress* oxidativo evidencia maiores níveis de MDA para os peixes sujeitos à dieta D1 e menores valores para o que foram sujeitos à dieta D3. No entanto, não se verifica que estas diferenças sejam significativas. Moura et al., (2018) verificaram que a suplementação com metionina não afetou os níveis de *stress* oxidativo no fígado.

5. Conclusão

Baseado nos resultados deste ensaio, é possível verificar que, no geral, os peixes cresceram bem para a espécie em causa *Argyrosomus regius*, quadruplicaram o seu peso com uma ótima taxa de sobrevivência de 98,9%. Os parâmetros avaliados em relação ao crescimento e taxa de conversão alimentar de juvenis de corvina foram mais favoráveis quando utilizada uma maior percentagem de metionina nas rações. O aumento da suplementação de taurina de 1 % para 2 % nas dietas não teve qualquer efeito no crescimento dos indivíduos. Em relação aos parâmetros sanguíneos, no caso dos níveis plasmáticos de cortisol, embora as diferenças não sejam significativas, os valores médios surgem mais baixos nos peixes alimentados com a dieta D2. No caso da glucose, os valores surgem superiores para os peixes alimentados com as dietas D2 e D3 apesar das diferenças não serem significativas. Apesar de não haver diferenças significativas nos níveis de lactato presentes no plasma dos peixes alimentados com as várias dietas experimentais,

estes níveis aparentam ser superiores nos peixes alimentados com a dieta D2. Quando nos referimos ao *stress* oxidativo, este tende a ser superior nos peixes alimentados com a dieta D1 e inferior nos peixes alimentados com a dieta D3, no entanto estas diferenças não são significativas.

A suplementação de taurina de 1 % para 2 % não teve um efeito significativo no crescimento, desempenho e resposta ao *stress* de juvenis de corvina. No entanto, a suplementação de metionina de 0,7 % para 1,1 % teve efeito nos parâmetros de crescimento analisados e desempenho desta espécie.

De acordo com os resultados, a dieta D2 surge como a mais indicada para o crescimento e resposta ao *stress* em juvenis de corvina, pois apesar de apresentar os mesmos resultados que a dieta D3, é uma ração em que apenas é necessário suplementar com 1 % de taurina.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

6. Referências

- Abreu N., Socorro J., Betancor M., Caballero M.J., Fernández-Placios H., Hernandez-Cruz C.M., Roo J. & Schuchardt D. (2009). Nuevas aportaciones al estudio de la organogenesis en larvas de corvina (*Argyrosomus regius* Asso, 1801). In: XII Congreso Nacional de Acuicultura: Con la Acuicultura Alimentamos tu Salud (ed. by D. Beaz, M. Villarroel & S. Cárdenas), 510–511. MARM, SEA y FOESA, Madrid, Spain.
- Amoedo, A. J. V. (2011). Determination of protein requirement of meagre juveniles (*Argyrosomus regius*, Asso, 1801). Master Thesis. Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar. University of Porto, Portugal.

- Antonopoulou, E., Kousidou, E., Tserga, E., Feidantsis, K., & Chatzifotis, S. (2014). Dietary lipid levels in meagre (*Argyrosomus regius*): effects on biochemical and molecular indicators of liver. *Aquaculture*, 428, 265-271.
- Antonopoulou, E., Kentepozidou, E., Roufidou, C., Despoti, S., Feidantsis, K. & Chatzifotis, S., (2013). Starvation and re-feeding affect the expression of Hsp, MAPK and antioxidative enzymes of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Comparative Biochemistry Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 165, 79–88.
- Appleford, P., Lucas, J., & Southgate, P. (2003). General Principles. In Lucas J. S., & Southgate P.C. (Ed). *Aquaculture Farming Aquatic Animals and Plants* (pp.11-46 Oxford: Blackwell Publishing).
- Aragão, C., Colen, R., Ferreira, S., Pinto, W., Conceição, L.E.C. & Dias, J. (2014). Microencapsulation of taurine in Senegalese sole diets improves its metabolic availability. *Aquaculture*, 431, 53–58.
- Aragão, C., Conceição, L. E. C., Martins, D., Ronnestad, I., Gomes, E., & Dinis, M. T. (2004). A balanced dietary amino acid profile improves amino acid retention in post-larval Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*, 233, 293–304.
- Barata, M., Soares, F., Aragão, C., Almeida, A. C., Pousão-Ferreira, P., & Ribeiro, L. (2016). Efficiency of 2-phenoxyethanol and Clove Oil for Reducing Handling Stress in Reared Meagre, *Argyrosomus regius* (Pisces: Sciaenidae). *Journal of the World Aquaculture Society*, 47, 82–92.
- Barton, B. A. & G. K. Iwama. (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, 1, 3–26.
- Belghit, I., Skiba-Cassy, S., Geurden, I., Dias, K., Surget, A., Kaushik, S., Panserat, S. & Seiliez, I. (2014). Dietary methionine availability affects the main factors involved in muscle protein turnover in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *The British Journal of Nutrition*, 112, 493–503.
- Blaxter, K. (1989). Energy metabolism in animals and man: CUP Archive, New York, 336.
- Bonaldo, A., Di Marco, P., Petochi, T., Marino, G., Parma, L., Fontanillas, R., Koppe, W.,

- Mongile, F., Finoia, M.G., Gatta, P.P. (2014). Feeding turbot juveniles *Psetta maxima* L. with increasing dietary plant protein levels affects growth performance and fish welfare. *Aquaculture Nutrition*, 21, 401–413.
- Bosman, R.H. & Verdejem, M.C (2011). Sustainable aquaculture in ponds: principles, practices and limits. *Livestock Science*, 139, 58–68.
- Brinker, A. & Reiter, R. (2011). Fish meal replacement by plant protein substitution and guar gum addition in trout feed, Part I: Effects on feed utilization and fish quality. *Aquaculture*, 310, 350-360.
- Cárdenas, S. (2010). Crianza de la corvina (*Argyrosomus regius*). Cuadernos de Acuicultura, 3, 12-57.
- Chatzifotis, S., Panagiotidou, M., & Divanach, P. (2012). Effect of protein and lipid dietary levels on the growth of juvenile meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture International*, 20, 91–98.
- Chatzifotis, S., Panagiotidou, M., Papaioannou, N., Pavlidis, M., Nengas, I., & Mylonas, C. C. (2010). Effect of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and serum metabolites of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles. *Aquaculture*, 307, 65-70.
- Cho, C., & Kaushik, S. (1990). Nutritional energetics in fish: energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Aspects of food production, consumption and energy values. Karger Publishers, 61, 132-172.
- Conceição, L. E. C., Dersjant-Li, Y., & Verreth, J. A. J. (1998). Cost of growth in larval and juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*) in relation to growth rate, feed intake and oxygen consumption. *Aquaculture*, 161, 95–106.
- Conceição, L. E. C., Grasdalen, H., & Rønnestad, I. (2003). Amino acid requirements of fish larvae and post-larvae: New tools and recent findings. *Aquaculture*, 227, 221–232.
- Council, N. R. (2011). Nutrient requirements of fish and shrimp: National academies press, Washington, DC,392
- Coutinho, F., Simões, R., Monge-ortiz, R., Furuya, W. M., Pousão-ferreira, P., Kaushik, S.,

- Oliva-Teles, A., & Peres, H. (2017). Effects of dietary methionine and taurine supplementation to low-fish meal diets on growth performance and oxidative status of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 479, 447–454.
- Cowey, C.B. (1975). Aspect of protein utilisation by fish. *Proceedings of the Nutrition Society*, 34, 57–63.
- Craig S., (2009) Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding. Virginia Cooperative Extension, Virginia Tech, Blacksburg, publication, 420-256.
- Deng, D.F., Wang, C., Lee, S., Bai, S. & Hung, S.S.O. (2009). Feeding rates affects heat shock protein levels in liver of larval white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture*, 287, 223–226.
- DGRM (2013). Plano estratégico para a aquicultura portuguesa 2014-2020.
- Dias, J., Alvarez, M.J., Arzel, J., Corraze, G., Diez, A., Bautista, J.M., Kaushik, S.J. (2005). Dietary protein source affects lipid metabolism in the European seabass. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A Molecular & Integrative Physiology*, 142, 19-31.
- Duncan, N. J. E., A; Fernández-Palacios, H; Gairin, I; Hernández-Cruz, C.M; Roo, J; Schuchardt, D; Vallés, R. (2013). Aquaculture production of meagre (*Argyrosomus regius*): hatchery techniques, ongrowing and market Advances in aquaculture hatchery technology: Woodhead Publishing Limited, 17, 519-541.
- Ellis, T., Yavuzcan, H., Lo, J., Tort, L., Overli, O. & Martins, C. I. M. (2012). Cortisol and finfish welfare. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38, 163–188.
- El-Sayed, A.F.M., (2014). Is dietary taurine supplementation beneficial for farmed fish and shrimp? A comprehensive review. *Reviews in Aquaculture*, 6, 241–255.
- Eshel, A., Lindner, P., Smirnoff, P., Newton, S. & Harpaz, S. (1993). Comparative study of proteolytic enzymes in the digestive tracts of the European sea bass and hybrid striped bass reared in freshwater. *Fish Physiology and Biochemistry*, 106, 627–634.
- Espe, M., Liaset, B., Hevroy, E.M. & El-Mowafi, A. (2011). DL-Methionine enrichment in diets fed to Atlantic salmon increases apparent digestibility. *Aquaculture Research* 42, 1123–1130.

- Estévez, A., Treviño, L., Kotzamanis, Y., Karacosatas, I., Tort, L. & Gisbert, E. (2011). Effects of different levels of plant proteins on the ongrowing of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles at low temperatures. *Aquaculture Nutrition*, 17, 572–582.
- Eurostat (2016). Agriculture, forestry and fishery statistics - 2016 edition, Eurostat Statistical books. Luxembourg.
- Fanouraki, E., Mylonas, C. C., Papandroulakis, N., & Pavlidis, M. (2011). Species specificity in the magnitude and duration of the acute *stress* response in Mediterranean marine fish in culture. *General and Comparative Endocrinology*, 173, 313–322.
- FAO. (2007). The State of World Fisheries and Aquaculture 2007. Food Agric. Organ. United Nations 200.
- FAO. (2012). The state of world fisheries and aquaculture 2012.
- FAO. (2016). The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all.
- FAO Fishstat (2017). Cultured Aquatic Species Information Programme.
- Feidantsis, K., Pörtner, H.O., Lazou, A., Kostoglou, B. & Michaelidis, B. (2009). Metabolic and molecular *stress* responses of the gilthead sea bream *Sparus aurata* during long term exposure to increasing temperatures. *Marine Biology*, 156, 797–809.
- Felton, G.W., (1995). Oxidative stress of vertebrates and invertebrates. In: Oxidative Stress and Antioxidant Defenses in Biology. Chapman and Hall, New York, 356–434.
- Ferreira, H.A.Q. (2017). Produção integrada de corvinas (*Argyrosomus regius*) e ostras (*Crassostrea gigas*) em tanques de terra. Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Instituto Politécnico de Leiria.
- Figueiredo-Silva, C., Lemme, A., Sangsue, D. & Kiriratnikom, S. (2015). Effect of DL-methionine supplementation on the success of almost total replacement of fishmeal with soybean meal in diets for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus*). *Aquaculture Nutrition*, 21, 234–241.
- Foos, T.M. & Wu, J.Y. (2002). The role of taurine in the central nervous system and the modulation of intracellular calcium homeostasis. *Neurochemical Research*, 27, 21–26.

- Francis G., Makkar H. P. S., & Becker K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199, 197-227.
- Froehlich, H. E., Gentry, R. R., Rust, M. B., Grimm, D., & Halpern, B. S. (2017). Public Perceptions of Aquaculture: Evaluating Spatiotemporal Patterns of Sentiment around the World. *PLoS ONE*, 12, 1-18.
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T. G., Hardy, R. W., Herman, E., Hu, G., Kroghdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E., (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38, 551–579.
- Gaylord, T. G., Barrows, F. T., Teague, A. M., Johansen, K. A., Overturf, K. E., & Shepherd, B. (2007). Supplementation of taurine and methionine to all-plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 269, 514–524.
- Gaylord, T.G., Teague, A.M. & Barrows, F.T. (2006). Taurine supplementation of all-plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 37, 509–517.
- Glass, H.J., MacDonald, N.L., Moran, R.M. & Stark, J.R. (1989). Digestion of protein in different marine species. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 94, 607–611.
- Gonzalez-Silvera, D., Herrera, M., Giráldez, I. & Esteban M. A. (2018). Effects of the dietary tryptophan and aspartate on the immune response of meagre (*Argyrosomus regius*) after stress. *Fishes*, 3, 6.
- Goto, T., Tiba, K., Sakurada, Y. & Takagi, S., (2001). Determination of hepatic cysteine sulfinate decarboxylase activity in fish by means of OPA-prelabeling and reverse phase high-performance liquid chromatographic separation. *Fisheries Science*, 67, 553–555.
- Griffiths, M. H., & Heemstra, P. C. (1995). A contribution to the taxonomy of the marine fish genus *Argyrosomus* (Perciformes: Sciaenidae), with descriptions of two new species from southern africa: JLB Smith Institute of Ichthyology.

- Guillaume, J. (1997). Protein and amino acids. In: D'Abramo, L.R., Conklin, D.E., Akiyama, D.M. Eds., *Crustacean Nutrition*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, 26–50.
- Haffray, P., Malha, R., Ould Taleb Sidi, M., Prista, N., Hassan, M., Castelnaud, G. & Bonhomme, F. (2012). Very high genetic fragmentation in a large marine fish, the meagre *Argyrosomus regius* (Sciaenidae, Perciformes): impact of reproductive migration, oceanographic barriers and ecological factors. *Aquatic Living Resources*, 25, 173-183.
- Halliwell B. & Chirico S. (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 57, 715- 725.
- Halver, J. E., & Hardy, R. W. (2002). *Fish nutrition*: Academic press, San Diego, California, 3ª edição.
- Hamre, K., Yúfera, M., Rønnestad, I., Boglione, C., Conceição, L., & Izquierdo, M. (2013). Fish larval nutrition and feed formulation – knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing. *Reviews in Aquaculture*, 5, 26–58.
- Hardy R. W. (2010). Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research*, 41, 770-776.
- Hermes-Lima M., W. G. Willmore & K. B. Storey (1995). Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe (III)xylenol orange complex formation. *Free Radical Biology and medicine*, 19, 271-280.
- Hureau, J., Bauchot, M., Nielsen, J., & Tortonese, E. (1986). *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*, Paris, Vol. 3, 1013-1473.
- INE. (2016). *Estatísticas da Pesca 2014*. Lisboa, Portugal.
- INE. (2017). *Estatísticas da Pesca 2016*. Lisboa, Portugal.
- Iwama, G. K., Thomas, P. T., Forsyth, R. B. & Vijayan, M. M. (1998). Heat shock protein expression in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 8, 35–56.
- Jiménez, M.T., Pastor, E., Grau, A., Alconchel, J.I., Cárdenas, S. (2005). Revisión sobre el cultivo de esciénidos en el mundo y presentación del Plan nacional de Cría de corvina (*Argyrosomus regius*), in: X Congreso Nacional de Acuicultura. Valencia, pp. 396–

397.

- Jirsa, D., Davis, D. A., Salze, G. P., Rhodes, M. & Drawbridge, M., (2014). Taurine requirement for juvenile white seabass (*Atractoscion nobilis*) fed soy-based diets. *Aquaculture*, 422, 36–41.
- Jobling, C. C. (2010). *Finfish Aquaculture Diversification* CABI, UK.
- Kaushik, S.J., Coves, D., Dutto, G. & Blanc, D. (2004). Almost total replacement of fishmeal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 230, 391–404.
- Kim, S.K., Kim, K.G., Kim, K.D., Kim, K.W., Son, M.H., Rust, M. & Johnson, R. (2015). Effect of dietary taurine levels on the conjugated bile acid composition and growth of juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). *Aquaculture Research*, 46, 2768–2775.
- Kır, M., Sunar, M. C., & Altındağ, B. C. (2017). Thermal tolerance and preferred temperature range of juvenile meagre acclimated to four temperatures. *Journal of Thermal Biology*, 65, 125-129.
- Lall, S. P. (2000). Nutrition and health of fish. *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, 19-22.
- Lambert, I.H. (2004). Regulation of the cellular content of the organic osmolyte taurine in mammalian cells. *Neurochemical Research*, 29, 27–63.
- Lane, A., Hough, C., & Bostock, J. (2014). The long-term economic and ecologic impact of larger sustainable aquaculture. European Parliament. Kelmelytè, V (ed.). European Parliament.
- Le François, Jobling, M., Carter, C., & Blier, P. (2010). *Finfish aquaculture diversification*, Cabi, 640.
- Li, P., Mai, K.S., Trushenski, J. & Wu, G.Y., (2009). New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids*, 37, 43–53.
- Livingstone, D.R. (2001). Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar Pollut Bull*, 42, 656– 666.

- Lovell, T. (1989). Nutrition and feeding of fish. Springer, Vol. 260, 1 – 10.
- Lucas, J. S. & Southgate, P. C. (2012). Aquaculture: farming aquatic animals and plants, 2nd ed. Wiley-Blackwell.
- Martínez-Álvarez, R. M., A. E. Morales & Sanz, A. (2005). Antioxidant. Defenses in Fish: Biotic and Abiotic Factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15, 75-88.
- Martinez-Llorens, S., Espert, J., Moya, J., Cerda, M. J., & Tomas-Vidal, A. (2011). Growth and nutrient efficiency of meagre (*Argyrosomus regius*, Asso1801) fed extruded diets with different protein and lipid levels. *International journal of fisheries and aquaculture*, 3, 195-203.
- Martins, N., Estevão- Rodrigues, T., Diógenes, A.F., Diaz -Rosales, P., Oliva- Teles, A. & Peres, H., (2018). Optimal dietary taurine level for growth and nitrogen accretion of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) juveniles. *Aquaculture*.
- Matias, A. C., Barata M., Araujo R. L., Dias J., Pousão-Ferreira P. Taurine: promising growth modulator of meagre juveniles fed with vegetable diets . 48th conference of the West European Fish Technologist's Association, 15-18th october 2018, Lisbon, Portugal
- Matsunari, H., Takeuchi, T., Takahashi, M. & Mushiake, K. (2005). Effect of dietary taurine supplementation on growth performance of yellowtail juveniles *Seriola quinqueradiata*. *Fisheries Science*, 71, 1131–1135.
- Matsunari, H., Yamamoto, T., Kim, S.K., Goto, T. & Takeuchi, T. (2008). Optimum dietary Taurine level in casein-based diet for juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science* 74, 347–353.
- Merella, P., Cherchi, S., Garippa, G., Fioravanti, M. L., Gustinelli, A., & Salati, F. (2009). Outbreak of *Sciaenacotyle panceri* (Monogenea) on cage-reared meagre *Argyrosomus regius* (Osteichthyes) from the western Mediterranean Sea. *Diseases of aquatic organisms*, 86, 169-173.
- Messina, M., Tulli, F., Messina, C. & Tibaldi, E., (2007). Varying plant protein sources in the diet of sea bass *Dicentrarchus labrax* differently affects lipid metabolism and deposition. *Italian Journal of Animal Science* 6, 806–808.

- Michelato, M., Furuya, W. M., & Gatlin, D. M. (2018). Metabolic responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* to methionine and taurine supplementation. *Aquaculture*, 485, 66–72.
- Michelato, M., Furuya, W.M., Graciano, T.S., Vidal, L.V.O., Xavier, T.O., de Moura, L.B., Rossetto, V. & Furuya, B. (2013). Digestible methionine + cystine requirement for Nile tilapia from 550 to 700 g. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 42, 7–12.
- Mommsen, T. P., Vijayan M. M. & Moon T. W. (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9, 211–268.
- Monfort, M. C. (2010). Present market situation and prospects of meagre (*Argyrosomus regius*), as an emerging species in Mediterranean aquaculture. Studies and Reviews-General Fisheries Commission for the Mediterranean (89).
- Moura, L. B. De, Diógenes, A. F., Campelo, D. A. V, Almeida, F. L. A. De, Pousão-Ferreira, P. M., Furuya, W. M., Oliva-teles, A. & Peres, H. (2018). Taurine and methionine supplementation as a nutritional strategy for growth promotion of meagre (*Argyrosomus regius*) fed high plant protein diets. *Aquaculture*, 497, 389–395.
- Mylonas, C. C., Fatira, E., Karkut, P., Papadaki, M., Sigelaki, I., & Duncan, N. J. (2015). Reproduction of hatchery-produced meagre *Argyrosomus regius* in captivity III. Comparison between GnRH α implants and injections on spawning kinetics and egg/larval performance parameters. *Aquaculture*, 448, 44-53.
- Mylonas, C. C., Mitrizakis, N., Papadaki, M., & Sigelaki, I. (2013). Reproduction of hatchery-produced meagre *Argyrosomus regius* in captivity I. Description of the annual reproductive cycle. *Aquaculture*, 414, 309-317.
- Naylor, R. L., Goldburg R. J., Primavera J. H., Kautsky N., Beveridge M. C. M., Clay J., Folke C., Lubchenco J., Mooney H. & Troell M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405, 1017-1024.
- Nelson, J.S., Grande, T.C., Wilson, M.V.H. (2016). *Fishes of the World*. John Wiley & Sons. New Jersey, 752
- Oliva-Teles, A. (2012). Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of fish diseases*,

35, 83-108.

- Papadakis, I. E., Kentouri, M., Divanach, P., & Mylonas, C. C. (2013). Ontogeny of the digestive system of meagre *Argyrosomus regius* reared in a mesocosm, and quantitative changes of lipids in the liver from hatching to juvenile. *Aquaculture*, 388, 76-88.
- Parisi, G., Terova, G., Gasco, L., Piccolo, G., Roncarati, A., Moretti, V. M. & Pais, A. (2014). Current status and future perspectives of Italian finfish aquaculture. *Reviews in fish biology and fisheries*, 24, 15-73.
- Park, G.S., Takeuchi, T., Yokoyama, M. & Seikai, T. (2002). Optimal dietary taurine level for growth of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries Science* 68, 824–829.
- Perlman, D.F. & Goldstein, L. (1999). Organic osmolyte channels in cell volume regulation in vertebrates. *Journal of Experimental Zoology*, 283, 725–733.
- Pickering, A. D. (1981). *Stress and fish*. Academic Press, New York, 367.
- Pillay, T.V.R. & Kutty, M.N. (2005). *Aquaculture, Principles and Practices* (2th ed.). Oxford: Blackwell Publishing.
- Poli, B. M., Parisi, G., Zampacavallo, G., Iurzan, F., Mecatti, M., Lupi, P., & Bonelli, A. (2003). Preliminary results on quality and quality changes in reared meagre (*Argyrosomus regius*): body and fillet traits and freshness changes in refrigerated commercial-size fish. *Aquaculture International*, 11, 301-311.
- Pousão-Ferreira P., Ribeiro L., Soares F., Nicolau L., Mendes A. C., Castanho S., Barata M., Dâmaso-Rodrigues L., Cabrita E. & Dinis M. T. (2010) Adaptation to captivity and spawning induction of meagre (*Argyrosomus regius*) at ipimar aquaculture research station. *Aquaculture Europe* 10, Porto, Portugal, 2010.
- Pousão-Ferreira, P., S. Castanho, L. Ribeiro, J. Coutinho, N. M. Bandarra & A. C. Mendes (2013). “Larval rearing protocols for meagre *Argyrosomus regius*.” LARVI '13 – Fish & Shellfish Larviculture Symposium. C.I. Hendry. Laboratory of Aquaculture & Artemia Reference Center, Ghent University, Belgium.
- Quéméner L., Suquet M., Mero D., Gaignon J.-L. (2002). Selection method of new

- candidates for finfish aquaculture: the case of the French Atlantic, the Channel and the North Sea coast. *Aquatic Living Resources*, 15, 293–302.
- Quéméner, L. (2002). Le Maigre Commun (*Argyrosomus regius*) - Biologie, Pêche, Marché et Potentiel Aquacole. IFREMER, Plouzané, 31.
- Quéro, J.-C. & Vayne, J.-J. (1987). “Le maigre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) du golfe de Gascogne et des eaux plus septentrionales.” *Revue des Travaux de l’Institut des Pêches Maritimes*, 49, 35-66.
- Quéro, J.-C., & Vayne, J.-J. (1985). Le maigre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) (Pisces, Perciformes, Sciaenidae) du Golfe de Gascogne et des eaux plus septentrionales. *Revue des Travaux de l’Institut des Pêches maritimes*, 49, 35-66.
- Rahimnejad, S., Bang, I. C., Park, J.-Y., Sade, A., Choi, J., & Lee, S.-M. (2015). Effects of dietary protein and lipid levels on growth performance, feed utilization and body composition of juvenile hybrid grouper, *Epinephelus fuscoguttatus* E. *lanceolatus*. *Aquaculture*, 446, 283-289.
- Ribeiro, L., Santos, M., Colen, R., Rodrigues, V., Bandarra, N., Soares, F., Ramalho, P., Barata, M., Moura, P., Pousão-Ferreira, P., & Dias, J. (2015). Effect of vegetable based diets on growth, intestinal morphology, activity of intestinal enzymes and haematological stress indicators in meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture*, 447, 116–128.
- Ribeiro, L., Soares, F., Quental-Ferreira, H., Gonçalves, A. & Pousão-Ferreira, P. (2013). Portuguese research studies meagre production in earthen ponds. *Global Aquaculture Advocate*. 16, 38–40.
- Richard, N., Colen, R. & Aragão, C. (2017). Supplementing taurine to plant-based diets improves lipid digestive capacity and amino acid retention of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. *Aquaculture*, 468, 94–101.
- Rolland, M., Dalsgaard, J., Holm, J., Gómez-Requeni, P. & Skov, P.V. (2015). Dietary Methionine level affects growth performance and hepatic gene expression of GH–IGF system and protein turnover regulators in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed plant protein-based diets. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 181, 33–41.

- Roo, J., Hernández-Cruz, C., Borrero, C., Schuchardt, D., & Fernández-Palacios, H. (2010). Effect of larval density and feeding sequence on meagre (*Argyrosomus regius*; Asso, 1801) larval rearing. *Aquaculture*, 302, 82-88.
- Saavedra, M., Candeias-Mendes, A., Castanho, S., Teixeira, B., Mendes, R., & Pousao-Ferreira, P. (2015b). Amino acid profiles of meagre (*Argyrosomus regius*) larvae: Towards the formulation of an amino acid balanced diet. *Aquaculture*, 448, 315-320.
- Saavedra, M., Pereira, T. G., Grade, A., Barbeiro, M., Pousão-Ferreira, P., Quental-Ferreira, H., Nunes, M. L.; Bandarra N. & Gonçalves, A. (2015a). Farmed meagre *Argyrosomus regius* of three diferente sizes: What are the diferences in flesh quality and muscle cellularity? *International Journal Food Science and Technology*, 50, 1311–1316.
- Saavedra, M., Pousão-Ferreira, P., Yúfera, M., Dinis, M. T., & Conceição, L. E. C. (2009). A balanced amino acid diet improves *Diplodus sargus* larval quality and reduces nitrogen excretion. 2009. *Aquaculture Nutrition*, 15, 517–524.
- Sadovy, Y., & Cheung, W. L. (2003). Near extinction of a highly fecund fish: the one that nearly got away. *Fish and Fisheries*, 4, 86-99.
- Salze, G.P. & Davis, D.A., (2015). Taurine: a critical nutrient for future fish feeds. *Aquaculture*, 437, 215–229.
- Salze, G.P., Stuart, K.R., Jirsa, D.O., Davis, D.A. & Drawbridge, M.A. (2017). Quantitative dietary taurine requirement for California Yellowtail, *Seriola lalandi*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 49, 113–126.
- Schaffer, S., Takahashi, K. & Azuma, J., (2000). Role of osmoregulation in the actions of taurine. *Amino Acids*, 19, 527–546.
- Selye, H. (1973). The evolution of the stress concept. *American Psychologist*, 61: 692–699.
- Selye, H. (1974). Stress without distress. McClelland Stewart, Toronto, 143 – 165.
- Stéphan, G., Guillaume, J. & Lamour, F. (1995). Lipid peroxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) tissue: effect of dietary vitamin E and dietary n–6 or n–3 polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 130, 251–268.
- Sturman, J.A. (1993). Taurine in development. *Physiological reviews*, 73, 119–147.

- Sugiura, S. H., Dong, F. M., Rathbone, C. K., & Hardy, R. W. (1998). Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. *Aquaculture*, 159, 177-202.
- Takagi, S., Murata, H., Goto, T., Endo, M., Hatate, H. & Ukawa, M. (2008). Taurine is an essential nutrient for yellowtail *Seriola quinqueradiata* fed non-fismeal diets based on soy protein concentrate. *Aquaculture*, 280, 198–205.
- Takagi, S., Murata, H., Goto, T., Hyashi, M., Hatate, H., Endo, M., Yamashita, H. & Ukawa, M. (2006). Hemolytic suppression roles of taurine in yellowtail *Seriola quinqueradiata* fed non-fishmeal diet based on soybean protein. *Fisheries Science*, 72, 546–555.
- Takagi, S., Shimeno, S., Hosokawa, H. & Ukawa, M. (2001). Effect of lysine and methionine supplementation to a soy protein concentrate diet for red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science*, 67, 1088–1096.
- Ternengo, S., Agostini, S., Quilichini, Y., Euzet, L., & Marchand, B. (2010). Intensive infestations of *Sciaenocotyle panzerii* (Monogenea, Microcotylidae) on *Argyrosomus regius* (Asso) under fish-farming conditions. *Journal of fish diseases*, 33, 89-92.
- Tidwell, J. & Allan, G. (2001) Fish as Food: aquaculture's contribution ecological and economic impacts and contributions of fish farming and capture fisheries. *Science & Society* 2(11): 958-963.
- Toksen, E., Buchmann, K., & Bresciani, J. (2007). Occurrence of *Benedenia sciaenae* van Beneden, 1856 (Monogenea: Capsalidae) in cultured meagre (*Argyrosomus regius* Asso, 1801) (Teleost: Sciaenidae) from western Turkey. *Bulletin-European Association Of Fish Pathologists*, 27, 250-253.
- Trichet, V. V. (2010). Nutrition and immunity: an update. *Aquaculture Research*, 41, 356-372.
- Tsangaris, C., M. Vergolyas, E. Fountoulaki & K. Nizheradze (2011). Oxidative stress and genotoxicity biomarkers responses in Grey Mullet (*Mugil cephalus*) from a polluted environment in Saronikos Gulf, Greece. *Archives Environmental Contamination Toxicology*, 61, 482–490.

- Tulli, F., Messina, M., Calligaris, M. & Tibaldi, E. (2010). Response of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to graded levels of methionine (total sulfur amino acids) in soya protein-based semi-purified diets. *The British Journal of Nutrition*, 104, 664–673.
- Velazco-Vargas J., Tomás-Vidal A., Hamdan M., Moyano Lopez F. J., Jover C. M. & Martínez-Llorens S. (2014). Influence of digestible protein levels on growth and feed utilization of juvenile meagre *Argyrosomus regius*. *Aquaculture Nutrition*, 20, 520–531.
- Vijayan, M. M., & Moon, T. (1994). The stress response and the plasma disappearance of corticosteroid and glucose in a marine teleost, the sea raven. *Canadian Journal of Zoology*, 72, 379–386.
- Vilhelmsson, O.T., Martin, S.A., Médale, F., Kaushik, S.J. & Houlihan, D.F., (2004). Dietary plant-protein substitution affects hepatic metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *British Journal of Nutrition*, 92, 71–80.
- Waterlow, J. C., Garlick, P. J., & Millward, D. J. (1978). Protein turnover in mammalian tissues and in the whole body. Biomedical Press. Amesterdão, 804.
- Wedemeyer, G. A. & D. J. McLeay. (1981). Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. *Stress and fish*, A. Pickering, 247–275.
- Wedemeyer, G. A., Barton, B. A., & D. J. McLeay. (1990). *Stress and acclimation. Methods for fish biology*, C.B. Schreck and P.B. Moyle, 451–489.
- Whitehead, P., Bauchot, M., Hureau, J., Nielson, J., & Tortonese, E. (1986). *Fishes of the Northeastern Atlantic and the Mediterranean*. Vol. I, II & III. Paris: United Nations Educational, Scientific and Cultural Organisation: Unesco.
- Wu, G., (2013). *Amino acids: biochemistry and nutrition*. CRC Press. New York, 503.
- Zar, J.H., 1999. *Biostatistical Analysis*, 4th ed. Prentice Hall, London.

