



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE-FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA-PPGAQ



**AVALIAÇÃO DO CONCENTRADO PROTEICO DE SOJA COMO
SUBSTITUTO DA FARINHA DE PEIXE EM DIETAS DE JUVENIS**

DE MIRAGAIA (*Pogonias courbina*)

ANNE KAROLAYNE DOS SANTOS FERREIRA GOMES

Rio Grande, RS

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE-FURG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**AVALIAÇÃO DO CONCENTRADO PROTEICO DE SOJA COMO
SUBSTITUTO DA FARINHA DE PEIXE EM DIETAS DE JUVENIS
DE MIRAGAIA (*Pogonias courbina*)**

ANNE KAROLAYNE DOS SANTOS FERREIRA GOMES

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

Orientador: Dr. Marcelo Borges Tesser

Rio Grande, RS

2024

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	4
AGRADECIMENTOS.....	5
RESUMO GERAL.....	7
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	9
2. OBJETIVOS.....	19
2.1. Objetivos geral.....	19
2.2. Objetivos específicos	19
3. REFERÊNCIAS	20
CAPÍTULO I.....	24
1. INTRODUÇÃO	25
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.1. FORMULAÇÃO DA DIETA EXPERIMENTAL.....	26
2.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	28
2.3. ANÁLISES DOS ÍNDICES ZOOTÉCNICOS E BIOMÉTRICOS	29
2.4. ANÁLISES BROMATOLÓGICAS	29
2.5. ANÁLISES HISTOLÓGICAS DO INTESTINO E FÍGADO	30
2.6. ANÁLISES BIOQUÍMICAS PLASMÁTICAS E HEPÁTICAS	30
2.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	31
3. RESULTADOS.....	31
3.1. ÍNDICES ZOOTÉCNICOS E COMPOSIÇÃO CORPORAL	31
3.2. ANÁLISES MORFOLÓGICAS	33
3.3. ÍNDICES BIOQUÍMICOS PLASMÁTICOS.....	37
4. DISCUSSÃO	38
5. CONCLUSÃO	41
6. REFERÊNCIAS	42

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus pais Nilce e Gonçalo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura pela oportunidade concedida de cursar o mestrado, e à CAPES pelo apoio financeiro através da concessão da bolsa de estudos.

Quero agradecer profundamente ao meu orientador, Dr. Marcelo B. Tesser, por aceitar me orientar e por todo ensinamento, conselhos e compreensão ao longo desses anos. Agradeço a paciência, disponibilidade constante, acreditar em meu potencial e por mostrar que a jornada na pós-graduação pode ser mais leve.

À equipe do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOA) Thaise, Baloi, Rafael, Elizabethy, Luciana, Gabriel e Carol, expresso minha gratidão pela colaboração experimental e por tornarem os dias mais leves com nossos momentos de café e bolo. Vocês foram fundamentais para que essa caminhada fosse mais legal, obrigada por me acolher a família LANOA.

Agradeço também aos laboratórios LAPEM, em especial a Olivia, Lucas, Carol e demais integrantes, pelo auxílio durante toda a fase experimental. Ao BIOFOA, ao Prof. José Monserrat e os membros Dr. Rafa, Jean, Andressa C, Alan, agradeço a ajuda nas análises, bem como todos os mates, conversas e momento compartilhados. Ao LIPOA, ao Prof. Romano, agradeço por toda orientação, ajuda, conselhos, ensinamentos e conversas sobre a vida. À Luana, Virginia e Pedro, expresso minha gratidão pela ajuda e disponibilidade para a realização das análises.

Não posso deixar de agradecer aos amigos que se tornaram parte fundamental dessa jornada. Agradeço pelas risadas, conversas e contribuições que, de maneira significativa, me auxiliaram neste período e tornaram meus dias mais leves, me motivando a persistir neste sonho. Obrigada, Andressa B., Ana Paula, Ise, Alan, Caroline Lopes, Baloi, Luciana e Elizabehty amo vocês!

Agradeço a todos os professores, funcionários e demais colaboradores que, de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho e para o meu crescimento pessoal. Muito obrigada.

Aos meus pais, Nilce e Gonçalo, expresso meu profundo agradecimento por todo amor, ajuda, incentivo e ligações diárias. Amo vocês, minhas inspirações!

Por último, mas não menos importante, agradeço ao meu namorado, João Marcos, por apoiar meu sonho, me fazer sentir especial todos os dias mesmo distante, por não permitir que eu desistisse e por mostrar que eu sou forte e capaz de conquistar meus objetivos. Seu apoio e amor foram essenciais nessa caminhada, te amo para sempre.

RESUMO GERAL

A farinha de peixe (FP) desempenha papel crucial na nutrição de organismos aquáticos, sendo fonte proteica tradicional em rações para organismos aquáticos. No entanto, a sua utilização tem resultado no aumento da pressão pesqueira. Assim, a busca por alternativas sustentáveis, como a utilização de proteínas vegetais, tem sido avaliada. Este estudo teve como objetivo avaliar a substituição dietética crescente da farinha de peixe pelo concentrado proteico de soja (CPC) para juvenis de miragaia, em cinco níveis: 0% (S0), 25% (S25), 50% (S50), 75% (S75), 100% (S100). Os peixes ($11,58 \pm 0,83$ g) foram estocados em 15 tanques (volume de 300 L; 12peixe/tanque;) e alimentados 3 vezes por dia até a saciedade aparente, durante 60 dias. Foram analisados o desempenho zootécnico, índices bioquímicos plasmáticos, morfologia intestinal e hepática. Os peixes alimentados com as dietas contendo substituição parcial (até 50%) da FP pelo CPC apresentaram resultados similares ao grupo controle (S0). Os peixes alimentados com S100 apresentaram redução do peso final, encurtamento das vilosidades intestinais, sugerindo uma diminuição da capacidade de absorção de nutrientes. O aumento da infiltração das células granulares eosinofílicas (CGE) sugere uma resposta inflamatória no intestino. Os peixes apresentaram redução das enzimas transaminases, indicando um possível dano hepático reflexo da presença de fatores antinutricionais (ANFs) presentes no CPC. Além disso, os peixes apresentaram esteatose hepática, associados à presença de ANFs no CPC, como saponinas e lectinas. Em conclusão, a substituição da FM pelo CPC pode ser feita parcialmente, em até 25%, em dietas para juvenis de miragaia, sem comprometer seu crescimento e saúde.

Palavras-Chaves: Concentrado proteico de soja; farinha de peixe; fatores antinutricionais; índices bioquímicos; miragaia; morfologia intestinal.

ABSTRACT

Fishmeal (FM) plays a crucial role in the nutrition of aquatic organisms, serving as a traditional protein source. However, excessive use results in pressure on fishing, highlighting the need for sustainable alternatives, such as the utilization of plant-based proteins. This study aimed to evaluate the increasing dietary replacement of fishmeal by soy protein concentrate (SPC) in juvenile miragaia, at five levels: 0% (S0), 25% (S25), 50% (S50), 75% (S75), 100% (S100). The fish (11.58 ± 0.83 g) were housed in 15 tanks (volume of 300 L; 12 fish/tank) and fed three times a day until apparent satiety for 60 days. Zootechnical performance, plasma biochemical indices, intestinal, and liver morphology were analyzed. Fish fed diets containing partial replacement (up to 50%) of FM by SPC showed similar results to the control group (S0). Fish fed S100 showed a reduction in final weight and shortening of intestinal folds, suggesting a decrease in nutrient absorption capacity. Increased infiltration of eosinophilic granule cells (EGCs) suggests an inflammatory response in the intestine. The fish showed a reduction in transaminase enzymes, indicating possible liver damage resulting from the presence of antinutritional factors (ANFs) present in SPC. Furthermore, the fish presented hepatic steatosis, associated with the presence of ANFs in SPC, such as saponins and lectins. In conclusion, replacing FM with SPC can be done partially, up to 25%, in diets for juvenile miragaia, without compromising their growth and health.

Key-words : Antinutritional factors ; Biochemical analysis; Fishmeal; Intestinal morphology; Miragaia; Soy protein concentrate.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura passou por desenvolvimento e evolução significativa nos últimos 20 anos, saindo de uma produção de 40 milhões de toneladas no ano de 2000 para 120 milhões de toneladas em 2020 (FAO, 2022). O avanço da produção ocorreu devido a processos de intensificação produtiva. Além disso, a aquicultura marinha ganhou espaço e ajudou a impulsionar a aquicultura mundial, desempenhando, atualmente, papel vital no fornecimento de alimentos com uma grande variedade de espécies (Naylor *et al.*, 2021).

No Brasil, a aquicultura marinha produz majoritariamente crustáceos e moluscos, enquanto a piscicultura marinha ainda não apresenta volume significativo (Valenti *et al.*, 2021). Dentre as espécies marinhas aptas para a produção, destacam-se as pertencentes às ordens: Perciformes (atum e robalo), Salmoniformes (salmão), Clupeiformes (sardinha), Pleuronectiformes (linguado) e Mugiliformes (tainha), apontadas como potenciais para a produção, pois apresentam crescimento rápido, resistência a doenças e facilidade de manejo (Nascimento *et al.*, 2022).

A ordem Acanthuriformes possui uma grande família denominada *Sciaenidae*, composta por cerca de 300 espécies reconhecidas e amplamente difundidas, que vivem em ambientes temperados e tropicais, incluindo água doce, marinhos e salobros (Nelson *et al.*, 2016). Essa família possui peixes de importância para a pesca esportiva, bem como para a pesca industrial como: corvina (*Sciaenops ocellatus*), burriquete (*Pogonias cromis*), pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), corvinata-branca (*Atractoscion nobilis*) corvina-legítima (*Argyrosomus regius*) e a miragaia (*Pogonias courbina*) (Azpelicueta *et al.*, 2019).

A miragaia (*Pogonias courbina*) foi recentemente descrita por Azpelicueta *et al.* (2019). Anteriormente, era conhecida como *Pogonias cromis* sua congênere que se diferem na ocorrência de hiperostoses dos espinhos centrais da nadadeira dorsal. A *P. courbina* apresenta características que divergem da *P. cromis*, como os pterigióforos da nadadeira dorsal que são laminares e finas e a nadadeira anal possui raios moles. Por outro lado, *P. cromis* não apresenta hiperostoses, nadadeira dorsal larga e o pterióforos da nadadeira anal robustos (Machado *et al.*, 2020).

33 *P. courbina* é uma espécie demersal que habita águas costeiras rasas e estuários
34 do sudeste do Brasil (Rio de Janeiro) até a Argentina (Golfo San Matías). Possui hábito
35 alimentar carnívoro e boca subterminal adaptada a captura de alimentos presentes no
36 fundo do mar (Figura 1). Alimenta-se principalmente de grandes invertebrados
37 bentônicos, como caranguejos e bivalves. Podem atingir até 40 Kg e 140 cm de
38 comprimento e atinge mais de 50 anos de idade. No entanto, é altamente vulnerável à
39 captura durante as migrações que realiza para reprodução, motivo pelo qual se tornou
40 alvo da pesca (Haimovici *et al.*, 2020).



42
43 **Figura 1.** Juvenil de Miragaia (*Pogonias courbina*).
44 Fonte: acervo pessoal.
45

46 A população de *P. courbina* passou por um declínio no sul do Brasil causado,
47 principalmente, pela intensa pressão pesqueira durante as décadas de 1940 a 1980,
48 quando eram alvos na Laguna dos Patos durante as migrações ou agregações para
49 desovas/alimentação. Desta forma, a espécie sofreu redução da população de 30-40%
50 nos últimos 40 anos e está listada como vulnerável na IUCN (The International Union
51 for Conservation of Nature's), necessitando de monitoramento e gestão (Haimovici *et*
52 *al.*, 2020).

53 Desta forma, a espécie necessita de monitoramento e pesquisa detalhada para
54 entender as principais características, incluindo sua população, ecologia e principais
55 ameaças. Além disso, programas de criação em cativeiro são fundamentais para o
56 desenvolvimento de pesquisas para conservação da espécie, bem como trazem
57 informações para o desenvolvimento da atividade aquícola, o que poderia auxiliar na
58 redução sobre a pressão de pesca. Assim, investigações sobre a reprodução, fisiologia,

desenvolvimento e nutrição são essenciais para auxiliar a retirar a miragaia da zona de vulnerabilidade (Machado *et al.*, 2020).

Compreender as necessidades alimentares das diferentes espécies é fundamental para o desenvolvimento da aquicultura. A maioria dos peixes marinhos produzidos comercialmente na aquicultura são carnívoros e se alimentam principalmente de peixes menores, moluscos, invertebrados e crustáceos (Fracalossi; Cyrino, 2016). Desta forma, quando são levados a produção em cativeiro, necessitam de alimentos ricos em proteína, para que possam atender as suas exigências nutricionais.

A farinha de peixe é um alimento que apresenta proteínas com alto valor biológico, desta forma muito valorizada pelo mercado aquícola. Apresenta excelente composição de aminoácidos essenciais, palatabilidade e boa digestibilidade (Wang *et al.*, 2020). Estas características estão relacionadas ao bom crescimento e fortalecimento do sistema imunológico em organismos aquáticos (Oliva-Teles *et al.*, 2022). Dessa maneira, é utilizada nas formulações de dietas de peixes e camarões em todo o mundo por apresentar bom equilíbrio nutricional (Cashion *et al.*, 2017; Mahamud *et al.*, 2022).

A composição nutricional da farinha de peixe muda de acordo com a matéria prima utilizada para sua produção, o que reflete na composição bromatológica de diversas farinhas de peixes originadas de peixes pelágicos inteiros e resíduos da pesca (Tabela 1; Fracalossi; Cyrino, 2016). O teor de proteína bruta pode variar de 48 – 70 % e os lipídios entre 7 e 10%. Quando produzida com matéria prima de origem marinha, apresenta boas quantidades de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa ômega-3, como DHA (docosahexaenoico) e EPA (eicosapentaenoico) que são importantes ácidos graxos essenciais para peixes marinhos (NRC, 2011).

Tabela 1. Composição bromatológica da farinha de peixe encontrada na literatura

Farinha de peixe	Composição centesimal (%)			Autores
	Proteína bruta	Extrato etéreo	Cinzas	
Peixe inteiro	67	10	14	Marchi et al. (2023)
Peixe subproduto	64	7	17	Bansemmer et al. (2023)
Peixe inteiro	70	9	18	Gokulakrishnan et al. (2023)
Peixe subproduto	48	10	20	Fracalossi e Cyrino (2016)
Peixe subproduto	59	7	21	NRC (2011)

O aumento da população mundial e do consumo de pescado nos últimos vinte anos, fizeram com que o setor de aquicultura ganhasse destaque na contribuição alimentar como fonte de proteína animal de alta qualidade. Estudos mostram que o consumo de pescado mais do que dobrou nos últimos 50 anos, havendo um salto de 9,0 Kg para 20,3 Kg por habitante/ano (FAO, 2020). O crescimento do setor aquícola nos últimos anos aumentou a procura pela farinha e óleo de peixe para o preparo de rações. Entretanto, o setor enfrenta desafios relacionados à sustentabilidade, especialmente à substituição de ingredientes que podem impactar negativamente o meio ambiente. A sobrepesca, a captura de espécies pelágicas e a alteração de cadeias alimentares são preocupações associadas ao uso desses ingredientes, além de gerar competição com a alimentação humana por essa fonte de proteína (Tacon; Metian, 2009). Assim, a busca por uma produção mais sustentável passa na aquicultura direciona-se para a adoção de alimentos alternativos, seguindo uma abordagem de economia circular. Esse conceito preconiza a manutenção de produtos, materiais e recursos visando reduzir o desperdício e minimizar o impacto ambiental, promovendo a sustentabilidade (Marchi *et al.*, 2023). Nos últimos anos estudos buscam fontes de proteína alternativa para a substituição da farinha de peixe. Entre diversas opções, as fontes de proteína vegetal ganham destaque, pois oferecem alta qualidade nutricional, disponibilidade global, variedades de produtos e baixo custo, como é o caso da soja e seus coprodutos que se destacou como alternativas viáveis (Tantikitti *et al.*, 2005).

O farelo de soja (SBM) é uma “commodity”, considerada um dos alimentos vegetais com potencial para a substituição da farinha de peixe nas dietas de organismos aquáticos (Howlader *et al.*, 2023). O SBM apresenta boa disponibilidade, baixo custo e capaz de substituir parcialmente a FM sem afetar negativamente o crescimento e saúde de juvenil de baiacus (*Takifugu obscurus*) e robalo japonês (*Lateolabrax japonicus*) (Ye

et al., 2019; Zhang *et al.*, 2018). No entanto, o SBM apresenta algumas desvantagens nutricionais em relação a FM, como: a deficiência em alguns aminoácidos essenciais como a metionina e lisina, baixa palatabilidade por apresentar fatores antinutricionais (ANFs) que reduzem o desempenho zootécnico dos animais e afeta negativamente a saúde (Zhang *et al.*, 2019). Os fatores antinutricionais presentes no SBM são:

A) lectinas: são glicoproteínas capazes de aglutinar e/ou causar lise às células vermelhas, podendo também reduzir a absorção de nutrientes pois tem a capacidade de se aderir as vilosidades intestinais e causar hipertrofia e/ou hiperplasia o que leva a baixa atividade enzimática (Chikwati, 2013);

B) Saponinas: são glicosídeos que se ligam na membrana plasmática dos enterócitos, aumentando a permeabilidade da membrana e facilitando a captação de moléculas alérgenos que geralmente não são absorvidas. Dessa maneira, induzem a inflamação no trato gastrointestinal (TGI) causando modificações morfológicas (Brown *et al.*, 2008);

C) Fitato: conhecido também como ácido fítico é um composto inositol que interfere na absorção de minerais essenciais (Cu, Fe, Ca, Mg e Zn), pois formam complexos insolúveis com esses minerais que dificultam a absorção. Além disso, pode dificultar a absorção de proteínas e inibir as atividades das enzimas tripsina, amilase e pepsina (Regitano-D Arce, 2006);

D) Inibidores de protease: são proteínas que se ligam com a tripsina e/ou com a quimotripsina reduzindo suas atividades, promovendo a secreção de colecistoquinina (CCK). Entretanto, essa situação faz com que os peixes aumentem a excreção de nitrogênio e consequentemente perda de aminoácidos (Krogdahl *et al.*, 2010; Olli *et al.*, 1994).

Uma maneira de reduzir a presença dos fatores antinutricionais presentes na soja seria a produção de concentrados proteicos (Wang *et al.*, 2017). O concentrado proteico de soja (CPC) é um produto obtido do ultra processamento do farelo de soja desengordurado, através da extração de carboidratos solúveis utilizando o etanol aquoso ou metanol, reduzindo a fração não proteica e os fatores antinutricionais, consequentemente, aumentando a concentração de proteína bruta na matéria seca (Lusas e Riaz 1995; Storebakken *et al.*, 2000).

Por outro lado, o processamento aplicado ao farelo pode reduzir a disponibilidade de aminoácidos, principalmente da lisina e metionina no CPC. Isso ocorre, pois a lisina é sensível às altas temperaturas, em que acontece a reação de Maillard (Corrêa, 2016). No entanto, o CPC possui perfil de aminoácidos essenciais semelhante ao da farinha de peixe (Tabela 2) (Zhang *et al.*, 2019).

Tabela 2. Composição de aminoácidos essenciais da Farinha de peixe (FM) e do concentrado proteico de soja (CPC) (adaptado NRC 2011).

Aminoácidos Essenciais	FM	CPC
Arginina	4,02	4,64
Histidina	1,34	1,58
Isoleucina	2,72	2,94
Leucina	4,36	4,92
Lisina	4,53	3,93
Metionina	1,68	0,81
Fenilalanina	2,28	3,28
Treonina	2,57	2,47
Triptofano	0,67	0,84
Valina	3,02	3,06

Valores expressos em grama de aminoácido por 100g de proteína;
FM- Farinha de peixe, CPC- Concentrado proteico de soja.

As características do CPC fazem que esse ingrediente seja viável para a substituição da farinha de peixe, pois, apresenta alto teor de proteína bruta entre 60-70% próximo ao da FM, alta palatabilidade e digestibilidade, além do baixo custo de produção (Lusas e Riaz 1995). Os níveis de substituição da farinha de peixes por CPC variam de acordo com hábito alimentar da espécie, seja, carnívoro ou onívoro. Nos últimos anos estudos voltados para a sua utilização na dieta de organismos aquáticos ganharam destaque (Deng *et al.*, 2006; Salze *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2020). Estudos com linguado-estrelado (*Platichthys stellatus*) (Li *et al.*, 2015), enguia do campo de arroz (*Monopterus albus*) (Zhang *et al.*, 2019) e corvina amarela (*Larimichthys crocea*) (Wang *et al.*, 2017) apresentam tolerâncias diferentes ao nível de CPC na dieta.

Resultados demonstram que para o linguado-estrelado (*Platichthys stellatus*), substituições até 60% da FM por CPC podem ser realizadas quando avaliados como parâmetros o ganho de peso e taxa de eficiência proteica, porém substituições acima de 40% apresentam efeito negativo na saúde e imunidade dessa espécie (Li *et al.*, 2015). Para a enguia do campo do arroz (*Monopterus albus*) quando ofertadas rações contendo

substituições da FM acima de 26%, reduzem o consumo de alimento e afeta negativamente o desempenho zootécnico (Zhang *et al.*, 2019). A garoupa híbrida (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) podem ser alimentadas com rações contendo até 37,23% de substituição, pois acima deste valor lesões no intestino e fígado foram relatadas, além de resultar em redução do desempenho zootécnico (Wang *et al.*, 2020).

Por outro lado, apesar do processamento eliminar boa parte dos fatores antinutricionais como mencionado anteriormente, muitas vezes ainda representam problemas para os animais em produção. O aumento significativo dos níveis de substituição de proteína de origem animal por concentrado proteico de soja (CPC) pode prejudicar o desempenho zootécnico e saúde dos animais afetando o funcionamento do fígado. Este fato se deve à presença de fatores antinutricionais, os quais tem o potencial de prejudicar a ingestão de alimentos, a digestibilidade e a utilização eficaz dos nutrientes, alterações morfológicas no intestino e fígado (Wang *et al.*, 2023; Escaffre *et al.*, 2007). As mudanças no intestino são notadas principalmente no intestino posterior/distal e incluem as seguintes lesões: alargamento da lâmina própria, encurtamento das vilosidades, perda de vacuolização nas células do epitélio, aumento das células caliciformes e infiltração de células inflamatórias, como linfócitos, neutrófilos, granulócitos eosinofílicos, células caliciformes e células bastonetes, que aumentam no tecido conjuntivo e na lâmina própria (Fuentes-Quesada *et al.*, 2018)

O aumento do teor de proteína de soja na dieta afetou negativamente a altura e largura das vilosidades em juvenis de garoupa híbrida (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*) e carpa cruciana dourada (*Cyprinus carpio* × *Carassius auratus*) (Zhu *et al.*, 2020). Para a truta arco-íris, o CPC modificou a estrutura dos enterócitos e o volume dos hepatócitos. No fígado, foram observadas células atrofiadas e um aumento nos vacúolos de gordura. Além disso, a proteína vegetal pode induzir a vacuolização citoplasmática de hepatócitos e o deslocamento de núcleos em juvenis de totoaba (*Totoaba macdonaldi*) (López *et al.*, 2015).

O fígado é o principal órgão da regulação do metabolismo, contendo as principais enzimas das vias metabólicas que são controladas pela disponibilidade de nutrientes (Wright, 2001). Os estudos metabólicos são necessários para a nutrição principalmente para compreender como os organismos respondem a diferentes situações

e identificar fatores indesejáveis, quando se testa dietas com alimentos alternativos ou base de vegetais (NRC, 2011).

O metabolismo proteico é um conjunto de processos bioquímicos que ocorrem nos organismos para sintetizar, degradar e regular as proteínas (Figura 2). Após a ingestão, as proteínas são digeridas ou hidrolisadas com ajuda de diferentes enzimas (Halver; Hardy, 2002). A digestão é iniciada no estômago, onde a proteína é reduzida a polipeptídios pela ação do ácido clorídrico liberado pelas células gástricas seguido pela ação das enzimas pepsinas. No intestino as células da mucosa liberam hormônios como a colecistoquina (CCK) e secretina que estimulam a produção de enzimas digestivas (tripsina e quimiotripsina) que reduzem os peptídeos em dipeptídeos, tripeptídeos e aminoácidos livres. Os aminoácidos e peptídeos são absorvidos nas microvilosidades dos enterócitos e transportados ativamente para o interior dos enterócitos e distribuídos para a corrente sanguínea, onde serão utilizados em processos metabólicos (Baldisserotto, 2018).

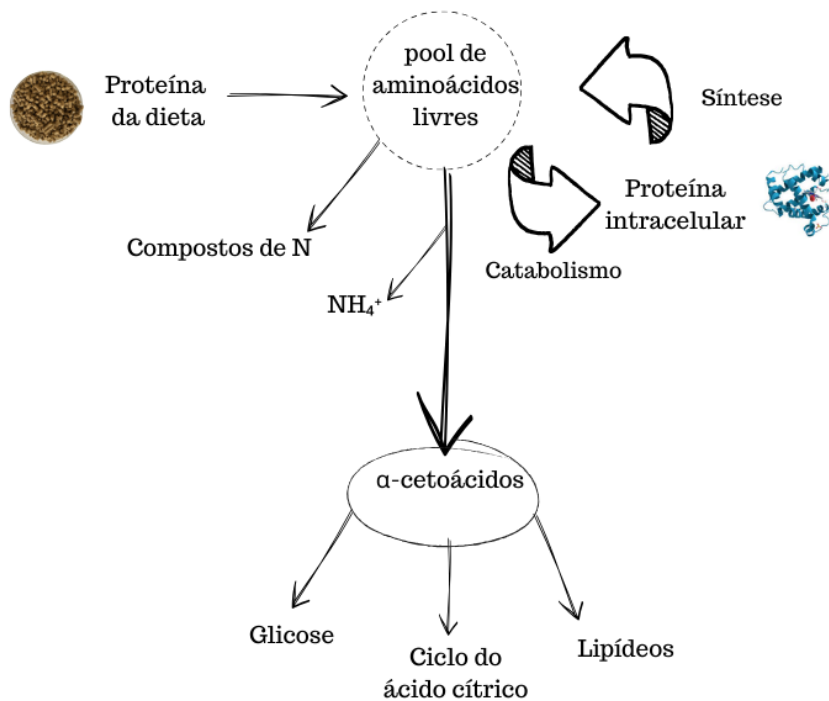


Figura 2. Esquema adaptado do metabolismo proteico. Adaptado NRC (2011)

Os aminoácidos necessários para a síntese proteica nos organismos têm duas origens: o alimento e a proteína corporal que diariamente é quebrada e resintetizada (Kaushik *et al.*, 2010). A quantidade de proteína ingerida é importante para síntese de novas proteínas corporais, hormônios e neurotransmissores que regulam o crescimento e a reprodução (Halver; Hardy, 2002). O crescimento ocorre por meio da deposição de proteína, em que cada 1g de proteína depositada há um ganho de 4g em massa corporal. Essa relação se estabelece devido a ligação entre deposição de proteína e o armazenamento de água (Shearer, 1994). Quando a ingestão de proteína é superior as necessidades do animal, parte será utilizada para a produção de novas proteínas, e o excesso será convertido em energia, eliminando nitrogênio em forma de amônia, e os esqueletos carbônicos convertidos em glicose e lipídios (Ballantyne, 2001).

O catabolismo da proteína em peptídeos e aminoácidos livres ocorre em diversos tecidos, principalmente na mucosa intestinal, rim, cérebro, musculatura e fígado. O catabolismo é um processo de remoção do grupamento amino de um aminoácido para um α -cetoácido, isso pode ocorrer pela ação de transaminases ou desaminação oxidativa (Halver; Hardy, 2002). As principais transaminases são a alanina aminotransferases (ALT) ou glutamato-piruvato transaminase (TGP) e a aspartato aminotransferase (AST) conhecido também como glutamato-oxaloacetato transaminase (TGO) (Wright, 2001). (Nelson, 2014).

O destino dos α -cetoácidos resultantes variam dependendo do contexto metabólico e das necessidades do organismo. As possíveis rotas após a transaminação são:

1. Produção de energia: os α -cetoácidos podem entrar nas vias metabólicas como intermediários do ciclo do ácido cítrico, que levam a produção de ATP (Nelson, 2014);
2. Síntese de outros compostos: pode ser utilizado na síntese de outros compostos, por exemplo na síntese de glicose pela via da gliconeogênese (Nelson, 2014);
3. Conversão em aminoácidos: os α -cetoácidos podem ser convertidos de volta em aminoácidos com a adição de um grupo amino, isso ocorre para a síntese de um aminoácido específico ou reciclagem de aminoácidos (Halver; Hardy, 2002);
4. Excreção: quando em excesso de α -cetoácidos ou quando não necessários imediatamente são excretados na forma de amônia e ureia em menor quantidade (Halver; Hardy, 2002).

254

255 Essas informações permitem compreender melhor o metabolismo proteico
256 utilizado pelos organismos, possibilitando o entendimento dos efeitos dos alimentos
257 utilizado na dieta e assim escolher fontes de ingredientes alternativos sustentáveis sem
258 afetar a saúde do animal.

259

260

261

262

263

264

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276

277

278

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos geral

Avaliar a substituição dietética da farinha de peixe (FM) pelo concentrado proteico de soja (CPC) em juvenis de miragaia.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar o desempenho zootécnico de juvenis de miragaia alimentas com diferentes níveis de concentrado proteico de soja em substituição a farinha de peixe;
- Avaliar a influência das dietas experimentais na composição proximal dos juvenis de miragaia;
- Avaliar a influência das dietas experimentais na atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato amino transferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP) em juvenis de miragaia;
- Avaliar a influência das dietas experimentais na morfometria intestinal e hepática de juvenis de miragaia;
- Determinar o melhor nível de substituição de farinha de peixe por concentrado proteico de soja para a dieta de juvenis de miragaia.

3. REFERÊNCIAS

- Azpelicueta MdLM, Delpiani SM, Cione AL, Oliveira C, Marceniuk AP, Díaz de Astarloa JM., 2019. Morphology and molecular evidence support the validity of *Pogonias courbina* (Lacepède, 1803) (Teleostei: Sciaenidae), with a redescription and neotype designation. PLoS ONE 14(6): e0216280. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216280>
- Baldisserotto, B., 2018. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 3. Ed. – Santa Maria. P: 19 – 50.
- Ballantyne, J. S., 2001. Amino acid metabolism. Fish physiology, 20, 77-107.
- Bansemmer, M. S., Salini, M. J., Nankervis, L., & Stone, D. A., 2023. Reducing dietary wild derived fishmeal inclusion levels in production diets for large yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). Aquaculture, 572, 739487. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739487>
- Brown, P. B., Kaushik, S. J., & Peres, H., 2008. Protein feedstuffs originating from soybeans. Alternative protein sources in aquaculture diets. The Haworth press, Taylor and Francis group, New York, USA, 205-223. doi:10.1080/01448750802589208
- Cashion, T., Le Manach, F., Zeller, D., & Pauly, D., 2017. Most fish destined for fishmeal production are food-grade fish. Fish and Fisheries, 18(5), 837-844. <https://doi.org/10.1111/faf.12209>
- Chikwati, E. M., Sahlmann, C., Holm, H., Penn, M. H., Krogh, Å., & Bakke, A. M., 2013. Alterations in digestive enzyme activities during the development of diet-induced enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquaculture, 402, 28-37. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.03.023>
- Corrêa, R. O., 2016. Substituição da farinha de peixe pelo concentrado proteico de soja em dietas para pacus (*Piaractus mesopotamicus*) e dourados (*Salminus brasiliensis*). Tese de doutorado, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba.
- Cowey, C.B., 1993. Protein Metabolism in Fish. Aquaculture: fundamental and Applied Research.
- Deng, J., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Wang, X., Xu, W., & Liufu, Z., 2006. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture, 258(1-4), 503-513.: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.004>
- Escaffre, A. M., Kaushik, S., & Mambrini, M., 2007. Morphometric evaluation of changes in the digestive tract of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) due to fish meal replacement with soy protein concentrate. Aquaculture, 273(1), 127-138. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.09.028>
- Gokulakrishnan, M., Kumar, R., Ferosekhan, S., Siddaiah, G. M., Nanda, S., Pillai, B. R., & Swain, S. K., 2023. Bio-utilization of brewery waste (Brewer's spent yeast) in global aquafeed production and its efficiency in replacing fishmeal: From a sustainability viewpoint. Aquaculture, 739161. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.739161>

- Fao., 2022. Food and Aquaculture Organization of the United Nation. The State of World Fisheries and Aquaculture. Sustainability in action. Rome. P. 224.
- Fao., 2020. Food and Aquaculture Organization of the United Nation. The State of World Fisheries and Aquaculture. Sustainability in action. Rome. P. 224.
- Fracalossi, D. M., & Cyrino, J. E. P., 2016. Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira.
- Fuentes-Quesada, J. P., Viana, M. T., Rombenso, A. N., Guerrero-Rentería, Y., Nomura-Solís, M., Gomez-Calle, V., ... & Mata-Sotres, J. A., 2018. Enteritis induction by soybean meal in *Totoaba macdonaldi* diets: Effects on growth performance, digestive capacity, 21mune response and distal intestine integrity. *Aquaculture*, 495, 78-89. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.025>
- Halver, J.E. and Hardy, R.W., 2002. Fish Nutrition. In: Intermediary Metabolism. p: 310-360.
- Howlader, S., Sumi, K. R., Sarkar, S., Billah, S. M., Ali, M. L., Howlader, J., & Shahjahan, M., 2023. Effects of dietary replacement of fish meal by soybean meal on growth, feed utilization, and health condition of stinging catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(3), 103601. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103601>
- Kaushik, S. J., & Seiliez, I., 2010. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquaculture research*, 41(3), 322-332. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02174.x>
- Krogdahl, Å., Penn, M., Thorsen, J., Refstie, S., & Bakke, A. M., 2010. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in *salmonids*. *Aquaculture research*, 41(3), 333-344. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02426.x>
- Haimovici, M., Chao, L., Vieira, J.P., Buratti, C., Diaz de Astarloa, J., Irigoyen, A., Riestra, C., Landaeta, M. & Hune, M., 2020. *Pogonias courbina*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T159145751A159145756. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20202.RLTS.T159145751A159145756.en>
- Li, P. Y., Wang, J. Y., Song, Z. D., Zhang, L. M., Zhang, H., Li, X. X., & Pan, Q., 2015. Evaluation of soy protein concentrate as a substitute for fishmeal in diets for juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture*, 448, 578-585. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.049>
- López, L. M., Flores-Ibarra, M., Bañuelos-Vargas, I., Galaviz, M. A., & True, C. D., 2015. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on growth performance, hematological and biochemical status, and liver histology of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 41, 921-936. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0058-5>
- Lusas, E. W., & Riaz, M. N., 1995. Soy protein products: processing and use. *The Journal of nutrition*, 125(suppl_3), 573S-580S. https://doi.org.ez40.periodicos.capes.gov.br/10.1093/jn/125.suppl_3.573S
- Machado, R. C., da Silva Cortinhas, M. C., Proietti, M. C., & Haimovici, M., 2020. Genetic connectivity of black drum (*Pogonias courbina*) stocks in the southwestern Atlantic

393 Ocean. Environmental Biology of Fishes, 103, 913-26.
 394 <https://doi.org/10.1007/s10641-020-00993-6>

395 Mahamud, A. S. U., Anu, M. S., Baroi, A., Datta, A., Khan, M. S. U., Rahman, M., ... &
 396 Rahman, T., 2022. Microplastics in fishmeal: A threatening issue for sustainable
 397 aquaculture and human health. Aquaculture Reports, 25, 101205. [https://doi-](https://doi-org.ez40.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.aqrep.2022.101205)
 398 [org.ez40.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.aqrep.2022.101205](https://doi-org.ez40.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.aqrep.2022.101205)

399 Marchi, A., Bonaldo, A., Di Biase, A., Cerri, R., Scicchitano, D., Nanetti, E., ... & Parma,
 400 L., 2023. Towards a free wild-caught fishmeal, fish oil and soy protein in European sea
 401 bass diet using by-products from fishery and aquaculture. Aquaculture, 573, 739571.
 402 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739571>

403 Nascimento, M. D. S., de Carvalho, C. V. Z., Passini, G., Soares, M., Evangelista, D., & de
 404 Sousa, D. N., 2022. Panorama da piscicultura marinha no Brasil: desafios e
 405 perspectivas.

406 Naylor, R. L., Hardy, R. W., Buschmann, A. H., Bush, S. R., Cao, L., Klinger, D. H., ... &
 407 Troell, M., 2021. A 20-year retrospective review of global aquaculture. Nature,
 408 591(7851), 551-563.
 409 <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03308-6>

410 Nelson, D. L., Cox, M.M., 2014. Princípios de bioquímica de Lehninger [recurso
 411 eletrônico], [tradução: Ana Beatriz Gorini da Veiga ... et al.]; – 6. ed. – p 695 – 731.

412 Nelson, J. S., Grande, T. C., & Wilson, M. V., 2016. Fishes of the World. John Wiley &
 413 Sons.

414 DOI:10.1002/9781119174844

415 NRC, Nutrient requirements of fish and shrimp, National Academies Press, 2011.

416 Oliva-Teles, A., Enes, P., Couto, A., & Peres, H., 2022. Replacing fish meal and fish oil in
 417 industrial fish feeds. Feed and Feeding Practices in Aquaculture, 231-268.
 418 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821598-2.00011-4>

419 Olli, J. J., Hjelmeland, K., & Kroghdahl, Å., 1994. Soybean trypsin inhibitors in diets for
 420 Atlantic salmon (*Salmo salar*, L): effects on nutrient digestibilities and trypsin in
 421 pyloric caeca homogenate and intestinal content. Comparative Biochemistry and
 422 Physiology Part A: Physiology, 109(4), 923-928.
 423 [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(94\)90240-2](https://doi.org/10.1016/0300-9629(94)90240-2)

424 Regitano-D'Arce, M. A. B., 2006. Produtos proteicos de soja. Fundamentos de ciência e
 425 tecnologia de alimentos.p. 355-402.

426 Salze, G., McLean, E., Battle, P. R., Schwarz, M. H., & Craig, S. R., 2010. Use of soy
 427 protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish
 428 oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. Aquaculture, 298(3-4), 294-299.
 429 <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.003>

430 Shearer, K. D., 1994. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with
 431 emphasis on salmonids. Aquaculture, 119(1), 63-88.
 432 [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90444-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90444-8)

433 Storebakken, T., 2000. Soy products as fat and protein sources in fish feeds for intensive
 434 aquaculture. Soy in animal nutrition, 127-170.

- Tacon, A.G.J.; Metian, M., 2009. Fishing for aquaculture: non-food use of small pelagic forage fish- a global perspective. *Reviews in fisheries Science & Aquaculture*, v. 17, n. 3, p. 305-317.
<https://doi.org/10.1080/10641260802677074>
- Tantikitti, C., Sangpong, W., & Chiavareesajja, S., 2005. Effects of defatted soybean protein levels on growth performance and nitrogen and phosphorus excretion in Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*, 248(1-4), 41-50.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.027>
- Valenti, W. C., Barros, H. P., Moraes-Valenti, P., Bueno, G. W., & Cavalli, R. O., 2021. Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquaculture Reports*, 19, 100611.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100611>
- Wang, X., Luo, H., Wang, D., Zheng, Y., Zhu, W., Zhang, W., ... & Shao, J., 2023. Partial Substitution of Fish Meal with Soy Protein Concentrate on Growth, Liver Health, Intestinal Morphology, and Microbiota in Juvenile Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*). *Aquaculture Nutrition*, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/3706709>
- Wang, X. X., Yuan, Y., Li, C. C., Zhou, F., Jin, M., Sun, P., ... & Zhou, Q. C., 2020. Partial substitution of fish meal with soy protein concentrate in commercial diets for juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*. *Animal Feed Science and Technology*, 259, 114290. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114290>
- Wang, P., Zhu, J., Feng, J., He, J., Lou, Y., & Zhou, Q., 2017. Effects of dietary soy protein concentrate meal on growth, immunity, enzyme activity and protein metabolism in relation to gene expression in large yellow croaker *Larimichthys crocea*. *Aquaculture*, 477, 15-22. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.030>
- Wright, P. A., 2001. Nitrogen excretion: three end products, many physiological roles. *Journal of Experimental Biology*, 198(2), 273-281.
- Ye, H., Xu, M., Liu, Q., Sun, Z., Zou, C., Chen, L., ... & Ye, C., 2019. Effects of replacing fish meal with soybean meal on growth performance, feed utilization and physiological status of juvenile obscure puffer, *Takifugu obscurus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 216, 75-81.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2018.11.006>
- Zhang, C., Rahimnejad, S., Wang, Y. R., Lu, K., Song, K., Wang, L., & Mai, K., 2018. Substituting fish meal with soybean meal in diets for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*): Effects on growth, digestive enzymes activity, gut histology, and expression of gut inflammatory and transporter genes. *Aquaculture*, 483, 173-182.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.10.029>
- Zhang, J., Zhong, L., Peng, M., Chu, W., Liu, Z., Dai, Z., & Hu, Y., 2019. Replacement of fish meal with soy protein concentrate in diet of juvenile rice field eel *Monopterus albus*. *Aquaculture Reports*, 15, 100235.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100235>
- Zhu, R., Li, L., Li, M., Yu, Z., Wang, H., & Wu, L., 2020. The effects of substituting fish meal with soy protein concentrate on growth performance, antioxidant capacity and intestinal histology in juvenile golden crucian carp, *Cyprinus carpio* × *Carassius auratus*. *Aquaculture Reports*, 18, 100435. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100435>

CAPÍTULO I

**AVALIAÇÃO DO CONCENTRADO PROTEICO DE SOJA COMO
SUBSTITUTO DA FARINHA DE PEIXE EM DIETAS DE JUVENIS
DE MIRAGAIA (*Pogonias courbina*)**

Manuscrito a ser submetido a revista “Aquaculture”

508 1. INTRODUÇÃO

509 A farinha de peixe (FM) é a principal fonte proteica na fabricação de rações,
510 principalmente para peixes marinhos, por apresentar elevado teor de proteína (48-70%),
511 ser fonte de ácidos graxos, aminoácidos essenciais, boa palatabilidade e digestibilidade
512 (Macusi *et al.*, 2023). Entretanto, a alta demanda pela FM ocasiona forte pressão nas
513 espécies forrageiras, ocasionando a sobrepesca nos oceanos. Além disso, a utilização de
514 peixes inteiros para a produção de farinha de peixe (FM) representa uma preocupação
515 para a sustentabilidade da aquicultura, já que os peixes inteiros poderiam ser fonte
516 direta de proteína na alimentação humana. Estudos de ingredientes alternativos e
517 proteínas vegetais visando a sustentabilidade ganham espaço nas formulações de rações
518 em busca de atender a demanda global (Jannathulla *et al.*, 2019).

519 O concentrado proteico de soja (CPC) possui 65-70% de proteína bruta (Wang *et*
520 *al.*, 2017). Sua produção ocorre através da extração em etanol ou metanol do farelo de
521 soja desengordurado, o que reduz a concentração de antígenos e antinutrientes,
522 principalmente compostos fenólicos, ácido fítico, lectinas e saponinas (REF). Apesar
523 dos fatores antinutricionais (ANFs) contidos no farelo de soja comprometerem o
524 crescimento e a saúde dos peixes marinhos (Escaffre *et al.*, 2007), o CPC possui teor
525 reduzido de ANF. Desta forma, estudos têm demonstrado que o CPC é capaz de
526 substituir a FM em grandes quantidades (80%), como os relatos para a corvina
527 amarela (*Larimichthys crocea*) (Wang *et al.*, 2017) e *Hippoglossus hippoglossus* (Berge
528 *et al.*, 1999).

529 Embora o processo de produção de CPC reduza os fatores antinutricionais
530 (ANFs), há perda de aminoácidos essenciais (EAA) como a metionina e a lisina
531 (Storebakken, 2000). Além disso, a redução dos ANFs não é completa e está associada a
532 presença de inibidores de proteases, lectinas, compostos fenólicos, fitatos e proteínas
533 antigênicas. Em alguns animais a presença de proteínas antigênicas pode desencadear
534 inflamação do trato gastrointestinal (TGI), evidenciada pelo aumento de neutrófilos ,
535 linfócitos, granulócitos eosinofílicos, e células caliciformes (Fuentes-Quesada *et al.*,
536 2018). A intensidade desse processo inflamatório pode variar de acordo com a região do
537 intestino, e pode também resultar em alterações no fígado como aumento de vacúolos de
538 gordura e alterações morfológicas (Urán *et al.*, 2009). Dessa maneira, as ANFs podem
539 impactar o crescimento e saúde de algumas espécies como relatado para o linguado

estrelado (*Platichthys stellatus*) (Li *et al.*, 2015), e enguia dos campos de arroz (*Monopterus albus*) (Zhang *et al.*, 2019) que são capazes de tolerar a substituição em até 40% de CPC em sua dieta.

A miragaia (*Pogonias courbina*), é uma espécie de hábito alimentar carnívoro, anteriormente conhecida como *Pogonias cromis*. Encontra-se atualmente em potencial de extinção compondo a lista vermelha da IUCN (International Union for Conservation of Nature). A redução da população é atribuída à pesca excessiva que engloba práticas artesanal, industrial e recreativa. Esta espécie é endêmica do Atlântico Sul ocorrendo desde o Rio de Janeiro (Brasil) até sul do Golfo de San Matías (Argentina) (Haimovici, 2020). A miragaia é reconhecida pela sua carne saborosa e desempenha papel importante nos ecossistemas costeiros, exercendo influência na dinâmica das comunidades marinhas (Machado *et al.*, 2020). No entanto, são poucas as informações dessa espécie em ambiente de cultivo, e até o momento não existem dados disponíveis sobre os efeitos do concentrado proteico de soja em dietas de juvenis de miragaia. Portanto, o estudo teve o objetivo de avaliar a substituição dietética da farinha de peixe pelo concentrado proteico de soja em juvenis de miragaia, avaliando o desempenho zootécnico, índices bioquímicos, morfologia intestinal e hepática.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado com os princípios éticos de experimentação animal, adotados pela Comissão de ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande-FURG e aprovado sob certificado Nº 23116.003553/2023-17. O experimento foi conduzido no Laboratório de Piscicultura Estuarina e Marinha (LAPEM) do Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande.

2.1. FORMULAÇÃO DA DIETA EXPERIMENTAL

Foram formuladas 5 dietas experimentais isoproteicas e isolipídicas com níveis crescentes de substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de soja (Tabela 1). O preparo das rações ocorreu no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos

da FURG (LANOA), onde os ingredientes foram moidos e misturados seguindo a menor proporção para o maior, adicionando óleo de peixe e água ao final do preparo para a peletização. Após obtenção dos pletes as rações foram secas em estufa com circulação de ar a 65°C por 12 horas, e armazenadas em freezer até o início do experimento.

Tabela 1- Formulações e composição proximal das dietas experimentais para juvenis de miragaia (*Pogonias courbina*), com diferentes níveis de CPC em substituição à farinha de peixe.

Ingredientes g 100g ⁻¹	Dietas Experimentais				
	S0	S25	S50	S75	S100
Farinha de peixe	42,60	31,95	21,30	10,65	0,00
Concentrado proteico de soja	0,00	10,65	21,30	31,95	42,60
Amido de milho	23,38	20,88	18,38	15,88	13,38
Óleo de peixe	0,00	1,80	3,60	5,40	7,20
Celulose	1,00	1,56	2,10	2,65	3,20
Mis. Mineral e Vit **	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Farinha de carne e ossos	13,02	13,02	13,02	13,02	13,02
Caseína	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50
Gelatina	6,50	6,50	6,50	6,50	6,50
Lisina	0,00	0,07	0,15	0,22	0,30
Metionina	0,00	0,07	0,15	0,23	0,30
Total	100	100	100	100	100
Composição bromatológica			%		
Matéria seca	95,89	94,68	95,99	95,3	95,82
Proteína bruta	49,83	48,03	48,34	48,47	48,47
Extrato etéreo	8,67	8,93	8,96	8,71	9,29
Fibra bruta	0,33	0,63	0,92	0,93	1,38
Matéria mineral	16,15	13,63	11,6	9,83	8,32
ENERGIA	25,02	28,77	30,18	31,61	32,54
Aminoácidos*					
Metionina *	0,69	0,68	0,68	0,68	0,67
Lisina *	2,17	2,16	2,15	2,13	2,12
Triptofano *	0,43	0,41	0,38	0,36	0,33
Arginina *	2,43	2,51	2,59	2,67	2,75
Treonina *	1,95	1,95	1,95	1,95	1,96
Valina *	2,49	2,46	2,43	2,41	2,38
Leucina *	2,74	2,75	2,76	2,77	2,78
Isoleucina *	1,50	1,50	1,50	1,51	1,51
Histidina *	1,13	1,16	1,19	1,22	1,26
Fenilalanina *	1,61	1,66	1,71	1,76	1,82

Legenda: ENN – Extrativo não nitrogenado (ENN = 100 – (PB+FB+EE+MM)). ** Composição Mis. Mineral e vit, vitamina A (500.000 UI/kg), Vit. D3 (250.000 UI/kg), Vit. E (5.000 mg/kg), Vit. K3 (500 mg/kg), Vit. B1 (1.000 mg/kg), Vit. B2 (1.000 mg/kg), Vit. B6 (1.000 mg/kg), Vit. B12 (2.000 mcg/kg), Niacina(2.500 mg/kg), Pantotenato

de Cálcio (4.000 mg/kg), Ácido Fólico (500 mg/kg), Biotina (10mg/kg), Vit. C (10.000 mg/kg), Colina (100.000 mg/kg), Inositol (1.000 mg/kg), Selênio (30 mg/kg), Ferro (5.000mg/kg), Cobre (1.000 mg/kg), Manganês (5.000 mg/kg), Zinco (9.000 mg/kg), Cobalto (50 mg/kg), Iodo(200 mg/kg); * Valores calculados.

2.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Inicialmente 10 juvenis de miragaia (*Pogonias courbina*) foram eutanasiados com cloridrato de benzocaína na concentração de 500 ppm. Foram coletados o fígado e o intestino para análise histológica de 5 peixes e o restante para análise centesimal do corpo inteiro. Um total de 180 juvenis de miragaia com peso médio de $11,58 \pm 0,83$ g provenientes da desova obtida no Laboratório de Piscicultura Estuarina e Marinha da FURG (LAPEM), foram anestesiados com cloridrato de benzocaína na concentração de 50 ppm e aleatoriamente distribuídas em 15 tanques com capacidade de 300 L, com densidade de 12 animais/tanque. Os tanques eram conectados a um sistema de recirculação de água composto por skimmer, lâmpada UV, filtro biológico, mecânico e com aeração constante.

As condições físico-químico da água se mantiveram constantes para todo o período experimental, com o pH $8,01 \pm 0,08$ (pHmetro Seven2Go), salinidade $30,09 \pm 0,98$ ‰ (Refratômetro ATC), temperatura $25,64 \pm 0,65$ °C e oxigênio dissolvido $5,72 \pm 0,56$ mg/L⁻¹ (YSI 550A), e fotoperíodo (12h claro / 12h escuro). A análise de alcalinidade ($144,08 \pm 15,83$ mg/L CaCO₃) foi realizada de acordo com APHA (2012), enquanto os níveis de amônia total ($0,15 \pm 0,19$ mg/L⁻¹) segundo a metodologia descrita por UNESCO (1983). Nitrito ($0,27 \pm 0,30$ mg/L⁻¹), nitrato ($19 \pm 8,39$ mg/L⁻¹) e o fósforo ($1,95 \pm 1,04$ mg/L⁻¹) foram mensurados segundo a metodologia de AMINOT and CHAUSSEPIED (1983). A cada dois dias foram feitas sifonagem das unidades experimentais para remoção de sobra de ração e fezes e o volume de água perdido foi repostado.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e três repetições, conforme os níveis de substituição do concentrado proteico de soja: controle 0% (S0), 25% de substituição (S25), 50% de substituição (S50), 75% de substituição (S75) e 100% de substituição (S100). Os animais foram alimentados até a saciedade aparente três vezes ao dia (08h00min, 12h00min e 16h00min) por um período de 60 dias.

Ao final dos 60 dias, 3 animais de cada tanque foram anestesiados com cloridrato de benzocaína na concentração de 50 ppm para a coleta de sangue com seringa heparinizada por meio de punção na nadadeira caudal. Os animais foram pesados individualmente e em seguida foram eutanasiados com cloridrato de benzocaína na concentração de 500 ppm, sendo que 3 animais de cada tanque foram congelados para a composição proximal carcaça, 3 animais foram coletados o intestino e fígado e fixados em uma solução de formol 10% por 24 horas e depois incluídos no álcool para as análises histológicas. Além disso, foi coletado fígado de 9 animais de cada tratamento e imediatamente congelados em nitrogênio líquido e posteriormente armazenadas em ultrafreezer (-80 °C) para análises bioquímicas.

2.3. ANÁLISES DOS ÍNDICES ZOOTÉCNICOS E BIOMÉTRICOS

Os dados obtidos nas biometrias foram utilizados para as avaliações relacionadas aos índices zootécnicos, como:

- $\text{Peso (PF (g))} = \text{peso médio corporal final};$
- $\text{Peso inicial (Pi (g))} = \text{peso médio corporal inicial}$
- $\text{Conversão Alimentar Aparente (CAA)} = \text{Oferta de ração/ganho de peso};$
- $\text{Ganho de Peso Diário (GDP (g/dia))} = \text{ganho de peso médio/período em dias};$
- $\text{Consumo de Ração (g)} = \text{peso total da ração ofertada/quantidade de animais};$
- $\text{Taxa de Crescimento Específico em Peso (TCE (\% \text{ ao dia}))} = [(n \text{ peso final} - \text{In peso inicial}) / \text{período}] \times 100;$
- $\text{Taxa de Sobrevida (TS (\%))} = (\text{número final de peixes/número inicial de peixes}) \times 100;$
- $\text{Taxa de retenção proteica (TRP)} = 100 \times (\text{proteína corporal final} \times \text{peso final} - \text{proteína corporal inicial} \times \text{peso inicial}) / \text{consumo em proteína na matéria seca};$
- $\text{Índice hepato-somático (IHS) (\%)} = 100 \times (\text{peso do fígado fresco/peso corporal});$
- $\text{Índice viscero-somático (IVS) (\%)} = 100 \times (\text{peso do tecido visceral/ peso corporal}).$

2.4. ANÁLISES BROMATOLÓGICAS

A determinação da composição proximal das dietas e da composição corporal dos peixes foram realizadas no LANO. O teor de matéria seca foi obtido pela determinação de umidade em estufa a 60 °C até peso constante, a proteína por meio do método de Kjeldahl utilizando destilador de nitrogênio, o teor de cinzas pelo método

gravimétrico em forno mufla a 600 °C (AOAC, 2020). O teor de lipídio foi analisado pelo método de Bligh e Dyer (1959)

2.5. ANÁLISES HISTOLÓGICAS DO INTESTINO E FÍGADO

O processamento e as análises dos intestinos e fígados foram realizadas no Laboratório de Imunologia e Patologia de Organismos Aquáticos (LIPOA). Os tecidos foram processados no processador automático de tecidos (LEICA, modelo TP1020), com inclusão em Paraplast. Após o emblocamento, os blocos foram cortados com espessura de 5 µm no micrótomo (LEICA, modelo RM2245). Para as análises morfológicas, as lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina (HE) (Luna, 1968), e posteriormente, observadas no microscópio óptico (Zeiss, modelo Primo Star) equipado com uma câmera (AxioCam ERC5s). Foi utilizado o programa AxionVision 4.8 (LE), para fazer as microfotografias dos campos e mensurar os vacúolos de gordura do fígado, altura e espessura das vilosidades intestinais. As células granulócitos eosinofílicos foram quantificadas através de uma estimativa direta a partir das contagens simples em cinco campos da lâmina histológica (Weibel and Gomez, 1962).

A esteatose foi estimada pela técnica de estereologia por “contagem de pontos”, cinco campos foram microfotografados e um painel contendo 36 cruzes foi sobreposto em cada microfotografia (PhotoScape X). Desta forma, foram quantificados todos os vacúolos que tocavam nas cruzes para determinar a densidade de esteatose hepática (Mandarin-De-Lacerda, 2003) utilizando a seguinte equação:

$$Vv(\text{esteatose}\%) = (Pp(\text{esteatose})/PT) \cdot 100$$

- Pp (esteatose): pontos que tocaram as vesículas de gordura;
- PT: número total de pontos (36 pontos).

2.6. ANÁLISES BIOQUÍMICAS PLASMÁTICAS E HEPÁTICAS

As amostras de sangue foram centrifugadas e o sobrenadante retirado. A partir do plasma foram realizadas as análises de triglicerídeos, proteína, glicose e colesterol

utilizando kits comerciais (Bioclin) calculados em função da absorbância e expressos em mg g^{-1} de amostra.

As amostras de fígado foram homogenizadas em (1:5 P/V) em tampão Tris- HCl (100mM, pH 7,75) com EDTA (2mM). As atividades da alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (ALP) foram dosadas com kits comerciais (Bioclin, RS, Brasil). As concentrações das transaminases foram calculadas em função da cinética obtida e expressos em $\mu\text{. g}^{-1}$. Para quantificar a glicose e os triglicerídeos, foram utilizados os kits comerciais da Bioclin (RS, Brasil) e foram calculadas em função da absorbância e os dados expressos em mg g^{-1} de amostra.

Para a análise de glicogênio, foi utilizado o método de fenol ácido-sulfúrico (Schaubroeck *et al.*, 2022) e as leituras foram feitas em microplacas (Biotek, Synergy HT) a 490 nm de absorbância. Os níveis de peroxidação lipídica foram medidos de acordo com Oakes e Van Der Kraak (2003), por meio da determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) pela quantificação de MDA (malondialdeído), foi utilizado para determinar a fluorescência (emissão: 553 nm; excitação: 515 nm) e os resultados foram expressos como nmol TMP mg tecido úmido⁻¹.

2.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram testados quanto a normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade (teste de Levene), e, posteriormente, submetidos a análise de variância de uma via (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a um nível de significância de 5%. Além disso, uma análise de regressão foi realizada, porém os dados não apresentaram um ajuste adequado ao modelo proposto.

3. RESULTADOS

3.1. ÍNDICES ZOOTÉCNICOS E COMPOSIÇÃO CORPORAL

A sobrevivência se manteve em 100% (Tabela 2). Houve diferença significativa ($p < 0,05$) os peixes alimentados com S75 e S100 apresentaram peso menor quando comparado com o tratamento S0. A TRP não apresentou diferença estatística ($p > 0,05$), assim como para os GDP, TCE, CAA. Não foi observado diferença significativa ($p > 0,05$) para IHS e IVS. A composição corporal da miragaia alimentada com diferentes

níveis de CPC na dieta é apresentada na Tabela 3. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os parâmetros analisados.

Tabela 2. Desempenho zootécnico e índices biométricos de juvenis de miragaia (*Pogonias courbina*) alimentadas 60 dias com diferentes níveis de CPC.

PARÂMETROS	Dietas experimentais				
	S0	S25	S50	S75	S100
PF (g) ²	55,57 ± 8,29 ^a	54,94 ± 11,13 ^a	51,23 ± 6,35 ^{ab}	45,67 ± 8,45 ^c	48,15 ± 6,40 ^{bc}
CAA (g) ³	1,22 ± 0,09	1,32 ± 0,07	1,25 ± 0,03	1,32 ± 0,02	1,41 ± 0,09
GDP (g) ⁴	43,81 ± 7,97	43,35 ± 8,41	39,73 ± 2,98	34,0 ± 6,63	36,57 ± 3,83
CONSUMO (g) ⁵	53,32 ± 6,17	56,98 ± 8,97	49,93 ± 2,52	45,29 ± 9,74	51,51 ± 2,66
TCE (%) ⁶	1,27 ± 0,10	1,12 ± 0,10	1,07 ± 0,04	0,98 ± 0,1	1,02 ± 1,02
TS (%) ⁷	100	100	100	100	100
TRP (%) ⁸	19,21 ± 3,29	19,26 ± 3,24	19,94 ± 0,25	17,68 ± 1,56	18,63 ± 1,96
IHS (%) ⁹	2,19 ± 0,14	2,25 ± 0,14	2,08 ± 0,23	2,05 ± 0,34	2,55 ± 0,07
IVS(%) ¹⁰	2,97 ± 0,34	2,75 ± 0,20	2,71 ± 0,17	2,67 ± 0,21	2,73 ± 0,01

Legenda: os valores são expressos em média ± DP de três repetições. Valores com letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey. Valores na mesma linha com nenhum sobrescrito não têm diferença significativa ($P > 0,05$). 1 Pi, peso inicial. 2 PF, peso final. 3 CAA, conversão alimentar aparente (Consumo de ração/ganho de peso). 4 GDP, ganho de peso diário (ganho de peso médio/período em dia). 5 consumo total de ração. 6 TCE, taxa de crescimento específico $[(n \text{ peso final} - \text{In peso inicial}) / \text{período}] \times 100$. 7 TS, taxa de sobrevivência (número final de peixes/número inicial de peixes) $\times 100$. 8 TRP, taxa de retenção proteica $[(\text{peso final} \times (\% \text{ proteína corporal final}/100)) - [\text{peso inicial} (\% \text{ proteína corporal inicial}/100)]] / [\text{peso final} \times (\% \text{ proteína corporal final}/100)] - [\text{peso inicial} (\% \text{ proteína corporal inicial}/100)]$. 9 IHS, índice hepato-somático (IHS) (%) = $100 \times (\text{peso do fígado fresco}/\text{peso corporal})$. 10 IVS, índice viscero-somático (IVS) (%) = $100 \times (\text{peso do tecido visceral}/\text{peso corporal})$.

Tabela 3. Composição corporal total da miragaia (*Pogonias courbina*) alimentadas 60 dias com diferentes níveis de CPC.

PARÂMETROS (%)	Tratamentos				
	S0	S25	S50	S75	S100
Matéria Seca	31,32 ± 0,23	32,49 ± 1,20	32,53 ± 0,90	31,60 ± 0,69	33,64 ± 1,21
Umidade	68,67 ± 0,23	67,50 ± 1,20	67,46 ± 0,90	68,39 ± 0,69	66,35 ± 1,21
Proteína	15,59 ± 0,65	16,17 ± 1,49	16,37 ± 0,78	16,42 ± 0,61	17,32 ± 0,19
Lipídios	8,60 ± 0,45	8,99 ± 1,04	9,36 ± 0,97	8,36 ± 1,1	9,59 ± 0,62
Matéria Mineral	4,79 ± 0,19	4,89 ± 0,39	5,06 ± 0,20	5,28 ± 0,29	5,30 ± 0,70

Legenda: os valores são expressos em média ± DP de três repetições. Valores com letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey. Valores na mesma linha com nenhum sobrescrito não têm diferença significativa ($P > 0,05$).

3.2. ANÁLISES MORFOLÓGICAS

Os valores da altura das vilosidades (VA), não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) Tabela 4 para IA foram encontradas diferenças significativas para o IM e IP, sendo que o aumento dos níveis de CPC na dieta resultou em redução na altura das vilosidades, onde controle apresentou maior altura de VA em comparação ao tratamento S100. Já para a largura das vilosidades (VL) em IA, IM e IP não foram influenciados pelos níveis de CPC, não havendo diferença significativa ($p > 0,05$)

Tabela 4. Morfologia intestinal da miragaia (*Pogonias courbina*) alimentada 60 dias com diferentes níveis de CPC.

		TRATAMENTO				
PARÂMETROS		S0	S25	S50	S75	S100
IA ¹	VA ⁴ (μm)	1639,09 ± 341,83	1523,56 ± 523	1411,46 ± 220,56	1318,08 ± 233,50	1233 ± 259,97
	VL ⁵ (μm)	328,09 ± 116,51	344,79 ± 198,64	334,52 ± 60,96	305,59 ± 93,39	326,06 ± 140,29
IM ²	VA (μm)	1470,79 ± 216,73 ^a	1236,19 ± 188,77 ^a	1157,16 ± 317,55 ^{ab}	1223,28 ± 285,97 ^{ab}	905,62 ± 148,21 ^b
	VL (μm)	291,02 ± 95,43	359,82 ± 87,13	335,49 ± 137,91	350,20 ± 123,49	280,55 ± 89,69
IP ³	VA (μm)	1725,61 ± 248,97 ^a	1429,72 ± 269,24 ^{ab}	1329,29 ± 143,06 ^b	1316,72 ± 290,06 ^b	1123,28 ± 162,21 ^c
	VL (μm)	392,61 ± 201,69	347,61 ± 53,65	347,33 ± 77,54	308,65 ± 97,48	317,23 ± 68,77

Legenda: os valores são expressos em média ± DP de três repetições. Valores com letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey. Valores na mesma linha com nenhum sobrescrito não têm diferença significativa ($P > 0,05$). ¹ IA, intestino anterior. ² IM, intestino médio. ³ IP, intestino posterior. ⁴ VA. altura vilosidade ⁵ VL. Largura vilosidade.

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) na infiltração de CGE nos intestinos anterior, médio e posterior (Figura 1). Conforme os níveis de CPC aumentaram na dieta, houve aumento na infiltração das CGE nos peixes alimentados com S75 e S100 em comparação com os tratamentos S0, S25 e S50. A Figura 2 ilustra a diferença na quantidade de infiltrados de CGE entre a condição de controle S0 (A) e o tratamento com CPC em 100% S100 que apresentou uma maior infiltração de CGE (B).

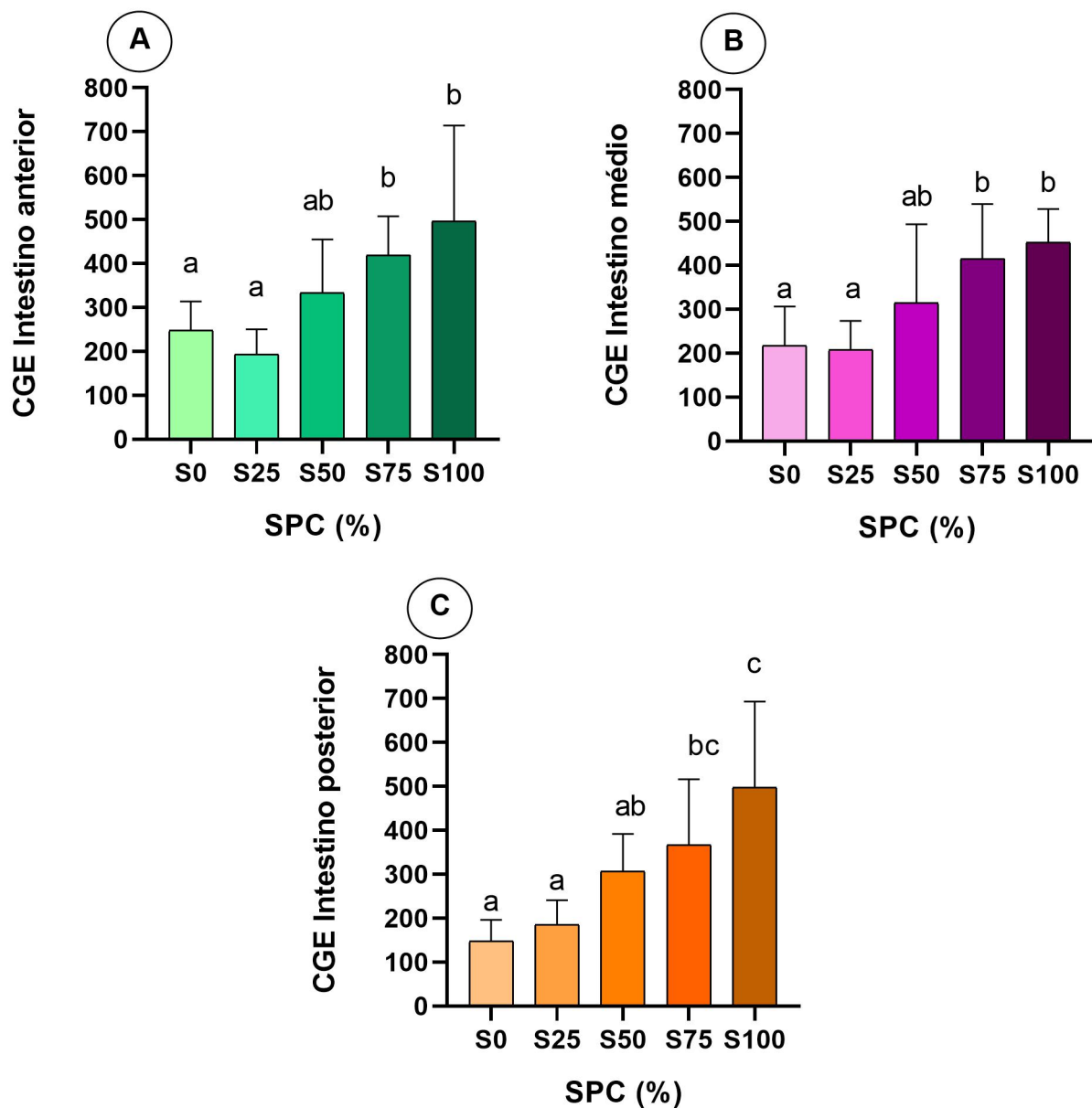


Figura 1. Contagem das células granulares eosinofílicas (Média ± DP) em intestino anterior (A), intestino médio (B) e intestino posterior (C) de miragaia (*Pogonias courbina*) alimentadas 60 dias com diferentes níveis de CPC. Valores com letras diferentes em cada coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

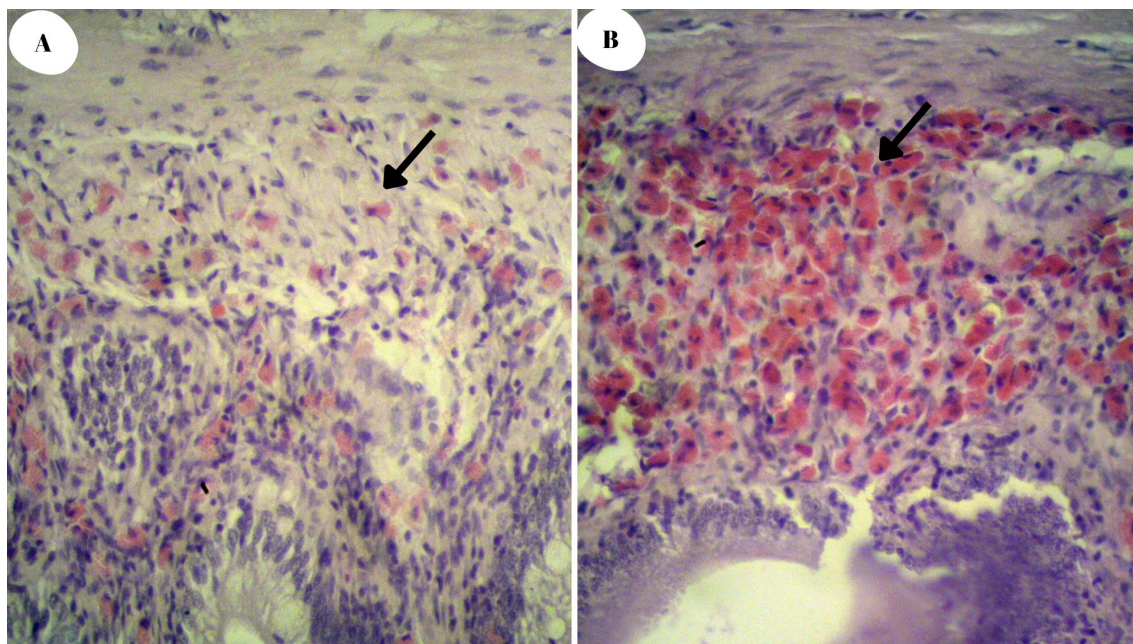


Figura 2. Cortes histológicos do intestino da miragaia (*Pogonias courbina*) alimentada com dietas contendo níveis crescentes de concentrado proteico de sojam substituição a farinha de peixe, durante 60 dias. Infiltração das células granulares eosinofílicas (seta) no tratamento controle S0 (A) e S100 (B). Coloração: hematoxilina-eosina, aumento 40x.

Verificou-se aumento da esteatose hepática conforme os níveis de CPC aumentaram (Figura 3). Os tratamentos S0 e S25 diferiram significativamente ($p < 0,05$) dos tratamentos S50, S75 e S100 que apresentaram uma maior densidade. Esta variação é visualmente observada nas imagens histológicas (Figura 4), onde se observa aumento da degeneração gordurosa nos hepatócitos.

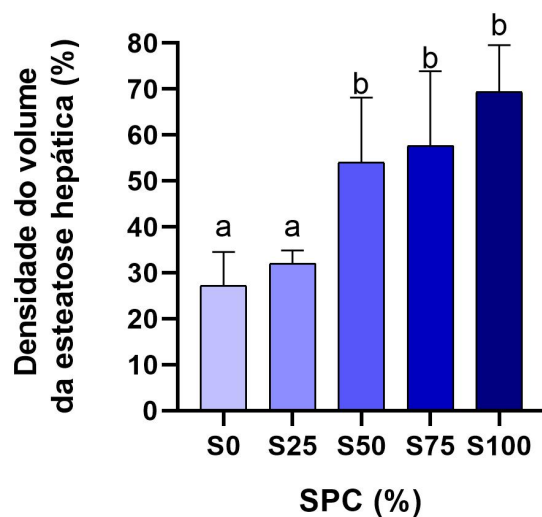


Figura 3. Densidade do volume da esteatose hepática (Média $\pm$ DP) em fígado de miragaia (*Pogonias courbina*) alimentada 60 dias com diferentes níveis de CPC. Valores com letras diferentes em cada coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

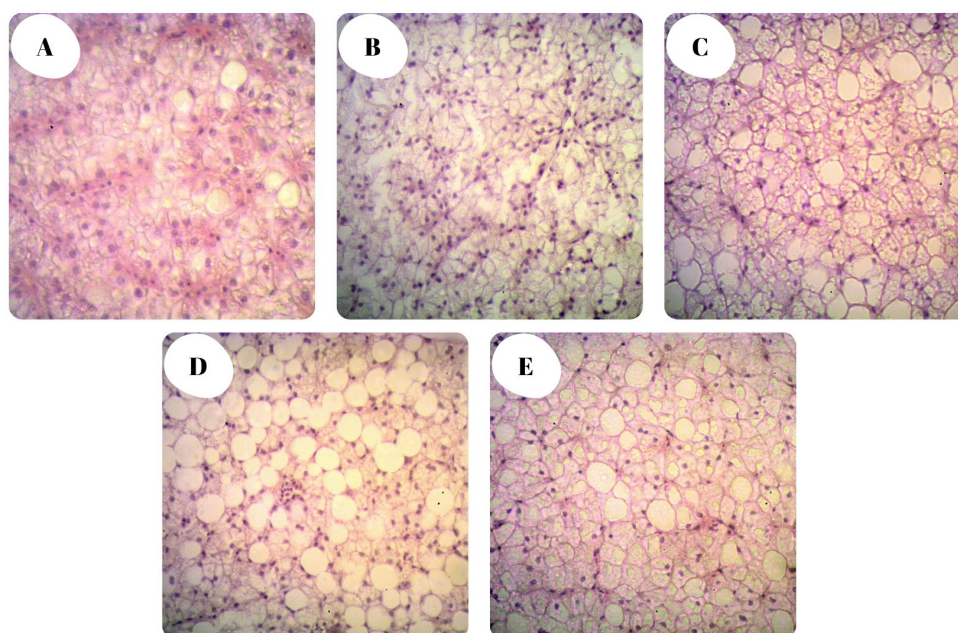


Figura 4. Cortes histológicos do fígado de miragaia (*Pogonias courbina*) alimentada 60 dias com diferentes níveis de CPC. Aumento da degeneração gordurosa nos hepatócitos nos tratamentos, controle (A), S25 (B), S50 (C), S75 (D) S100 (E). Coloração: hematoxilina-eosina, aumento 40x.

3.3. ÍNDICES BIOQUÍMICOS PLASMÁTICOS

Em relação aos índices bioquímicos séricos e enzimas do metabolismo proteico da miragaia são apresentados na Tabela 5. Para as enzimas do metabolismo proteico hepática foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) para ALT e ALP, onde houve uma redução de ALT em relação a S50 comparado a S0, à medida que aumentou o CPC teve uma redução significativa da ALP do tratamento S100 em relação a S0, não havendo diferença significativa para AST.

Os parâmetros de triglicerídeos e proteína não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). Os níveis de glicogênio e glicose reduziram significativamente ($p < 0,05$) com o aumento do concentrado proteico de soja. Não houve diferença significativa para o TBARS.

Tabela 5. Enzimas do metabolismo de proteínas e índices bioquímicos séricos do fígado de miragaia (*Pogonias courbina*) alimentadas 60 dias com diferentes níveis de CPC.

PARÂMETROS	TRATAMENTOS				
	S0	S25	S50	S75	S100
ALT (mg/g ⁻¹)	155,53 ± 7,95 ^a	106,16 ± 8,47 ^{ab}	98,87 ± 13,90 ^b	123,02 ± 18,74 ^{ab}	144,89 ± 32,13 ^{ab}
AST (mg/g ⁻¹)	204,35 ± 43,65	176,37 ± 26,81	160,92 ± 22,72	166,09 ± 7,61	172,02 ± 23,54
ALP (mg/g ⁻¹)	121,13 ± 12,10 ^a	133,04 ± 13,76 ^a	88,17 ± 22,07 ^{ab}	54,24 ± 24,44 ^b	37,93 ± 23,09 ^b
TG (mg/g-1)	132,14 ± 16,05	131,19 ± 18,57	143,90 ± 8,49	144,29 ± 3,25	149,00 ± 6,38
TP (mg/g-1)	135,37 ± 37,86	137,96 ± 44,25	126,10 ± 39,25	105,29 ± 26,83	88,33 ± 22,56
Glicogênio (mg/g ⁻¹)	6,91 ± 0,08 ^a	4,65 ± 1,75 ^{ab}	5,90 ± 0,94 ^{ab}	2,58 ± 0,88 ^b	2,69 ± 1,17 ^b
GLICOSE (mg/g ⁻¹)	13,40 ± 2,98 ^{ab}	16,84 ± 0,87 ^a	15,29 ± 2,72 ^{ab}	12,07 ± 2,73 ^{ab}	10,26 ± 1,37 ^b
TBARS (nmol/g ⁻¹)	0,57 ± 0,08	0,54 ± 0,10	0,56 ± 0,18	0,61 ± 0,08	0,66 ± 0,22

Legenda: os valores são expressos em média ± DP de três repetições. Valores com letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey. Valores na mesma linha com nenhum sobrescrito não têm diferença significativa ($P > 0,05$). ¹ALT, alanina aminotransferase. ²AST, aspartato aminotransferase. ³ALP, fosfatase alcalina. ⁴TG, triglicerídeos. ⁵TP, proteínas totais. ⁶TBARS, espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico.

As concentrações plasmáticas de glicose, colesterol e proteína não apresentaram diferença significativa (Tabela 5). Entretanto, para os níveis de triglicerídeos houve diferença significativa ($p < 0,05$), sendo observada redução de TG nos tratamentos em relação ao controle S0.

Tabela 6. Índices sanguíneos de miragaia (*Pogonias courbina*) alimentadas 60 dias com diferentes níveis de CPC.

PARÂMETROS	TRATAMENTOS				
	S0	S25	S50	S75	S100
Glicose (mg/L ⁻¹)	113,95 ± 24,41	146,44 ± 13,07	111,58 ± 13,22	134,89 ± 29,46	126,42 ± 22,27
Triglicerídeos (mg/L ⁻¹)	397,80 ± 5,04 ^a	338,91 ± 24,33 ^b	289,23 ± 5,72 ^b	313,16 ± 7,17 ^b	174,89 ± 8,72 ^c
Colesterol (mg/L ⁻¹)	116,10 ± 9,85	117,92 ± 26,35	128,45 ± 32,09	130,77 ± 7,49	146,92 ± 20,58
Proteína (mg/L ⁻¹)	37,46 ± 3,11	39,73 ± 3,98	37,59 ± 3,72	36,93 ± 0,46	39,21 ± 2,27

Legenda: os valores são expressos em média ± DP de três repetições. Valores com letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

4. DISCUSSÃO

Muitos estudos com o objetivo de avaliar a substituição da farinha de peixe pelo CPC foram realizados e valores abrangentes quanto a inclusão de CPC encontrados (Berge *et al.*, 1999; Sitjà-Bobadilla *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2023). Em algumas espécies pode substituir cerca de 70% de FM por CPC, caso da dourada (*Pagrus major*) e 80% de FM por CPC na corvina grande (Wang *et al.*, 2017), sem comprometer o crescimento. Entretanto, o peixe-rei (*Odontesthes bonariensis*) (Bowyer *et al.*, 2013) e pregado (*Scophthalmus maximus*) (Day *et al.*, 2000) só conseguiram tolerar menos de 20% de CPC mesmo suplementado com metionina. Neste estudo, o incremento do CPC nas dietas resultou em menor peso médio final das miragais, no entanto, sem comprometer a sobrevivência e demais parâmetros do desempenho zootécnico. As diferenças encontradas nos diversos estudos podem estar relacionadas à dois fatores principais, a presença ou ausência de suplementação com aminoácidos sintéticos, e a presença de ANFs. Neste estudo houve a suplementação de aminoácidos sintéticos, desta forma, parece que a presença de ANFs foram determinantes para os resultados encontrados.

A composição centesimal da carcaça dos peixes em relação ao nível de substituição e efeitos do CPC é uma característica específica de cada espécie. Neste estudo, não houve diferença significativa da composição da carcaça de juvenis de

miragaia, nos conteúdos de proteína bruta, cinzas, lipídios, umidade e matéria seca, resultados parecidos são encontrados para espécies corvinas amarelas grandes (*Larimichthys crocea*) e linguado-do-Atlântico (*Hippoglossus hippoglossus*) que não apresentaram diferença centesimal do corpo (Wang *et al.*, 2017; Berge *et al.*, 1999). Em contraste, outros autores observaram a redução do conteúdo de proteína bruta e lipídeos brutos no músculo e corpo inteiro de garoupa híbrida e juvenis de dourada (*Acanthopagrus schlegelii*) (Faudzi *et al.*, 2017; Ngandzali *et al.*, 2011) quando alimentados com CPC na dieta. Essa característica pode estar correlacionada com os ANFs que afetam a utilização dos nutrientes pois danificam a integridade intestinal, e consequentemente reduz a absorção dos nutrientes (Zhu *et al.*, 2020).

Apesar de não apresentar diferenças significativas na composição proximal da carcaça, os juvenis de miragaia alimentados com maiores níveis de substituição da farinha de peixe por CPC apresentaram alterações morfológicas intestinais. A substituição de FM por CPC resultou no encurtamento da altura das vilosidades no intestino médio e posterior da miragaia. O intestino desempenha papel crucial na digestão e absorção de nutrientes, e índices morfológicos, como a altura das vilosidades, são indicadores da capacidade de absorção, pois quando a VA é reduzida impacta negativamente a absorção dos nutrientes (Wang *et al.*, 2023). Os organismos aquáticos têm diferentes níveis de aceitação para os alimentos à base de soja, e isso pode resultar em efeitos distintos na estrutura intestinal, associados com as ANFs como saponinas, aglutinina de soja e fitatos. Esses ANFs podem reduzir a altura e largura das vilosidades e microvilosidades, além de aumentar a infiltração de células inflamatórias, indicando sinais relacionados à enterite (Zhu *et al.*, 2020). Como resultado, essas alterações afetam a função fisiológica do animal, e esse impacto tem correlação direta com o crescimento, que nesse estudo foi menor nos tratamentos S75 e S100. Resultados semelhantes foram encontrados em corvina amarela (*Larimichthys crocea*) e garoupas híbridas (*E. fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂) que apresentaram redução da altura e largura das vilosidades com substituição de FM por CPC acima de 30% e 55 %, respectivamente (Wang *et al.*, 2023, Wang *et al.*, 2020).

Outra alteração morfológica observada no intestino foi a contagem das células granulares eosinofílicas (CGE). Estas células estão associadas à processos inflamatórios, patologias de hipersensibilidade e anafilaxia (Romano *et al.*, 2021). Neste estudo, observou-se um aumento das CGE no IA, IM e IP à medida que os níveis de

CPC aumentavam na dieta. Sabe-se que os ANFs são fatores que induzem danos patológicos no intestino. Por exemplo, as lectinas ligam-se à membrana da borda em escova intestinal, resultando na ruptura da integridade das vilosidades com descamação da mucosa, permitindo a infiltração de células na lâmina própria do intestino (Buttle *et al.*, 2001). O aparecimento de infiltração de CGE foi observado também em *Totoaba macdonaldi* alimentadas com diferentes níveis de farelo de soja na dieta (Fuentes-Quesada *et al.*, 2018). Outros ANFs como a saponina, exercem efeitos nas membranas celulares, podendo aumentar a permeabilidade celular ao inibir o transporte ativo da mucosa e permitir a passagem de moléculas não absorptivas, além disso os efeitos das saponinas no sistema imunológico já foram relatados evidenciando o aumentando o processo inflamatório (Francis *et al.*, 2002). Na dourada (*Sparus aurata*) foi observado um aumento nas concentrações de CGE quando suplementadas com saponinas da soja (Couto *et al.*, 2014).

Assim, como no intestino, o fígado das miragaia também apresentaram alterações morfológicas que podem estar relacionadas com o incremento da CPC nas rações. A densidade do volume de esteatose hepática aumentou nos tratamentos S50, S75 e S100 conforme os níveis de CPC na dieta foram incrementados. O fígado desempenha um papel crucial no metabolismo e desintoxicação dos organismos. Este órgão pode ser afetado quando exposto a uma dieta inadequada para a espécie, bem como fatores bióticos ou abióticos, que interfere na função hepática. Esses fatores, quando prolongados, podem levar ao estresse e disfunção metabólica, resultando em esteatose hepática, caracterizada pelo acúmulo de lipídeos no fígado, uma condição patológica conhecida (Bolla *et al.*, 2011). Foi observado em larvas de linguado (*Solea solea*) alimentadas com CPC apresentaram um intenso acúmulo de vacúolos lipídicos e esteatose nos tratamentos nos quais a proporção de CPC na dieta ultrapassava os 50% de substituição (Saleh *et al.*, 2021).

A redução da atividade das enzimas relacionadas ao metabolismo proteico ALT e ALP no fígado dos peixes com maiores concentrações de CPC na dieta pode refletir uma resposta do fígado à condição desfavoráveis. Essas enzimas podem servir como indicadores de dano hepático. O monitoramento hepático baseia-se na observação de que essas enzimas reduzem sua atividade no fígado em caso de comprometimento, migrando através da membrana plasmática para a corrente sanguínea aumentando sua atividade neste local. Assim, a redução das enzimas ALT e ALP no fígado e o aumento

na corrente sanguínea indica problemas hepáticos (Li et al., 2015; Rabergh et al., 1991). Neste estudo não foram realizadas análises destas enzimas no plasma, no entanto, a sua menor atividade hepática observada nos animais alimentados com maiores concentrações de CPC aliada à maior densidade do volume de esteatose hepática parece confirmar esta situação.

Assim como as transaminases, os índices bioquímicos hepáticos estão correlacionados com a saúde do fígado. A redução da proteína, glicogênio e glicose, juntamente com o aumento de triglicerídeos, estão associadas à elevada utilização do concentrado proteico de soja, que apresenta maior teor de proteína vegetal e presença de ANFs. Essa condição pode comprometer a capacidade de síntese hepática, que engloba a produção de substâncias importantes para o funcionamento do organismo, como a síntese de proteínas, armazenamento de glicose, produção de bile e a desintoxicação (Wright, 2001). Portanto, o aumento de CPC na dieta pode provocar redução na utilização da proteína dietética, favorecendo o acúmulo de gordura no fígado e potencialmente causando danos ao hepáticos, como evidenciado pelo aumento de esteatose observado neste estudo. (Lin et al., 2007; Vagadia et al., 2017)

A presença de ANFs no CPC contribuiu para a redução das vilosidades intestinais, diminuindo a absorção de nutrientes e favorecendo o aumento das CGE no intestino, desencadeando um processo inflamatório. O aumento da degeneração hepática resultou na redução das enzimas transaminases, além do acúmulo de gordura no fígado. Esses resultados estão correlacionados com a presença dos fatores antinutricionais presentes no concentrado proteico de soja, impactando significativamente na redução do peso final.

5. CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados desse estudo indica que o CPC na dieta pode ser incluído até 25% de substituição da FM para juvenis de miragaia sem efeitos adversos no desempenho de crescimento. No entanto, a substituição completa de FM por CPC resultou em redução do ganho de peso, encurtamento das altura das vilosidades intestinais, aumentou da infiltração de células inflamatórias e desenvolvimento de esteatose hepática. Além disso, afetou os índices bioquímicos dos animais, esses resultados possivelmente atribuídos principalmente à presença de ANFs no CPC.

6. REFERÊNCIAS

- Aminot, A., Chaussepied M., 1983. Manuel des analyses chimiques em milieu marin, CNEXO. Brest. Paris.
- AOAC., 2000. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC International, 14th ed. Washington
- APHA, 2012. Standard Methods For The Examination of Water and Wastewater, 22nd ed, APHA/AWWA/WEF. Washington, DC.
- Berge, G. M., Grisdale-Helland, B., & Helland, S. J., 1999. Soy protein concentrate in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture, 178(1-2), 139-148. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00127-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00127-1)
- Bligh, E.G. e Dyer, W.J. 1959 A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal Biochemistry Physiology, 37 (8): 911-917.
- Bolla, S., Nicolaisen, O. and Amin, A., 2011. Liver alterations induced by long term feeding on commercial diets in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) females. Histological and biochemical aspects. Aquaculture, 312(1-4), pp.117-125. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.12.019>
- Bowyer, J. N., Qin, J. G., Smullen, R. P., Adams, L. R., Thomson, M. J., & Stone, D. A., 2013. The use of a soy product in juvenile yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) feeds at different water temperatures: 2. Soy protein concentrate. Aquaculture, 410, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.06.001>
- Buttle, L. G., Burrells, A. C., Good, J. E., Williams, P. D., Southgate, P. J., & Burrells, C., 2001. The binding of soybean agglutinin (SBA) to the intestinal epithelium of Atlantic salmon, *Salmo salar* and Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed high levels of soybean meal. Veterinary Immunology and Immunopathology, 80(3-4), 237-244. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(01\)00269-0](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(01)00269-0)
- Cheng, Z., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Ma, H., Li, Y., & Zhang, J., 2010. Effects of dietary canola meal on growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture, 305(1-4), 102-108. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.031>
- Couto, A., Kortner, T. M., Penn, M., Bakke, A. M., Kroghdahl, Å., & Oliva-Teles, A., 2014. Effects of dietary soy saponins and phytosterols on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) during the on-growing period. Animal Feed Science and Technology, 198, 203-214. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.09.005>
- Day, O. J., & Gonzalez, H. P., 2000. Soybean protein concentrate as a protein source for turbot *Scophthalmus maximus* L. Aquaculture Nutrition, 6(4), 221-228. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2000.00147.x>

1027 Escaffre, A. M., Kaushik, S., & Mambrini, M., 2007. Morphometric evaluation of
 1028 changes in the digestive tract of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) due to fish meal
 1029 replacement with soy protein concentrate. *Aquaculture*, 273(1), 127-138.
 1030 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.09.028>

1031 Faudzi, M. N., Yong, A. S. K., Shapawi, R., Senoo, S., Biswas, A., & Takii, K., 2017.
 1032 Soy protein concentrate as na alternative in replacement of fish meal in the feeds of
 1033 hybrid grouper, brown□marbled grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*)× *giant grouper*
 1034 (*E. lanceolatus*) juvenile. *Aquaculture Research*, 49(1), 431-441.
 1035 <https://doi.org/10.1111/are.13474>

1036 Francis G, Makkar HPS, Becker K., 2001. Antineutrino factors present in plant-derived
 1037 alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199:0–22.
 1038 [https://doi-org.ez40.periodicos.capes.gov.br/10.1016/s0044-8486\(01\)00526-9](https://doi-org.ez40.periodicos.capes.gov.br/10.1016/s0044-8486(01)00526-9)

1039 Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P., & Becker, K., 2002. The biological action of
 1040 saponins in animal systems: a review. *British journal of Nutrition*, 88(6), 587-605.
 1041 <https://doi.org/10.1079/BJN2002725>

1042 Fuentes-Quesada, J. P., Viana, M. T., Rombenso, A. N., Guerrero-Rentería, Y.,
 1043 Nomura-Solís, M., Gomez-Calle, V., ... & Mata-Sotres, J. A., 2018. Enteritis induction
 1044 by soybean meal in *Totoaba macdonaldi* diets: Effects on growth performance,
 1045 digestive capacity, immune response and distal intestine integrity. *Aquaculture*, 495, 78-
 1046 89. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.025>

1047 Haimovici, M., Chao, L., Vieira, J.P., Buratti, C., Diaz de Astarloa, J., Irigoyen, A.,
 1048 Riestra, C., Landaeta, M. & Hune, M., 2020. *Pogonias courbina*. The IUCN Red
 1049 List of Threatened Species 2020: e.T159145751A159145756. .
 1050 <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20202.RLTS.T159145751A159145756.en>

1051 Jannathulla, R., Rajaram, V., Kalanjiam, R., Ambasankar, K., Muralidhar, M., & Dayal,
 1052 J. S., 2019. Fishmeal availability in the scenarios of climate change: Inevitability of
 1053 fishmeal replacement in aquafeeds and approaches for the utilization of plant protein
 1054 sources. *Aquaculture Research*, 50(12), 3493-3506.
 1055 <https://doi.org/10.1111/are.14324>

1056 Li, P. Y., Wang, J. Y., Song, Z. D., Zhang, L. M., Zhang, H., Li, X. X., & Pan, Q.,
 1057 2015. Evaluation of soy protein concentrate as a substitute for fishmeal in diets for
 1058 juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture*, 448, 578-585.
 1059 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.049>

1060 Lin, S., & Luo, L., 2011. Effects of different levels of soybean meal inclusion in
 1061 replacement for fish meal on growth, digestive enzymes and transaminase activities in
 1062 practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*× *O. aureus*. *Animal Feed*
 1063 *Science and Technology*, 168(1-2), 80-87.
 1064 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.03.012>

1065 Lin, S., Mai, K., & Tan, B., 2007. Effect of soybean meal replacement by rapeseed-
 1066 cottonseed compound on growth, body composition and immunity of tilapia
 1067 *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Oceanologia et limnologia sinica*, 38(2), 168

1068 Luna, L.G., 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute
 1069 of Pathology.

1070 Machado, R.C., Cortinhas, M.C.S., Proietti, M.C., Haimovici, M., 2020. Genetic
 1071 connectivity of black drum (*Pogonias courbina*) stocks in the southwestern Atlantic
 1072 Ocean. Environ Biol Fish. Springer Nature. Brasil.
 1073 <https://doi.org/10.1007/s10641-020-00993-6>

1074 Macusi, E. D., Cayacay, M. A., Borazon, E. Q., Sales, A. C., Habib, A., Fadli, N., &
 1075 Santos, M. D., 2023. Protein Fishmeal Replacement in Aquaculture: A Systematic
 1076 Review and Implications on Growth and Adoption Viability. Sustainability, 15(16),
 1077 12500.
 1078 <https://doi.org/10.3390/su151612500+>.

1079 Mandarim-de-Lacerda, C. A. (2003). Stereological tools in biomedical research. Anais
 1080 da Academia brasileira de Ciências, 75, 469-486. [https://doi.org/10.1590/S0001-](https://doi.org/10.1590/S0001-37652003000400006)
 1081 [37652003000400006](https://doi.org/10.1590/S0001-37652003000400006)

1082 Ngandzali, B. O., Zhou, F., Xiong, W., Shao, Q. J., & Xu, J. Z., 2011. Effect of dietary
 1083 replacement of fish meal by soybean protein concentrate on growth performance and
 1084 phosphorus discharging of juvenile *black sea bream*, *Acanthopagrus schlegelii*.
 1085 Aquaculture nutrition, 17(5), 526-535.
 1086 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00835.x>

1087 Oakes, K. D., Der Kraak, G. J. V., 2003. Utility of the TBARS assay in detecting
 1088 oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp
 1089 mill effluent. Aquatic Toxicology. 63 (4), 447 – 463.
 1090 [https://doi.org/10.1016/S0166445X\(02\)00204-7](https://doi.org/10.1016/S0166445X(02)00204-7)

1091 Rabergh, C. M. I., Bylund, G., & Eriksson, J. E., 1991. Histopathological effects of
 1092 microcystin-LR, a cyclic peptide toxin from the cyanobacterium (*blue-green alga*)
 1093 *Microcystis aeruginosa* on common carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquatic toxicology,
 1094 20(3), 131-145.
 1095 [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(91\)90012-X](https://doi.org/10.1016/0166-445X(91)90012-X)

1096 Romano, L. A., Oliveira, F. P. S., & Pedrosa, V. F., 2021. Mast cells and eosinophilic
 1097 granule cells in *Oncorhynchus mykiss*: Are they similar or different?. Fish and Shellfish
 1098 Immunology Reports, 2, 100029.
 1099 <https://doi.org/10.1016/j.fsirep.2021.100029>

1100 Saleh, N. E., Mourad, M. M., El-Banna, S. G., & Abdel-Tawwab, M., 2021. Soybean
 1101 protein concentrate as a fishmeal replacer in weaning diets for common sole (*Solea*
 1102 *solea*) post-larvae: Effects on the growth, biochemical and oxidative stress biomarkers,
 1103 and histopathological investigations. Aquaculture, 544, 737080.
 1104 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737080>

1105 Schaubroeck, K. J., Leitner, B. P., & Perry, R. J., 2022. An optimized method for tissue
 1106 glycogen quantification. Physiological Reports, 10(4), e15195.
 1107 <https://doi.org/10.14814/phy2.15195>

1108 Sitjà-Bobadilla, A., Peña-Llopis, S., Gómez-Requeni, P., Médale, F., Kaushik, S., &
 1109 Pérez-Sánchez, J., 2005. Effect of fish meal replacement by plant protein sources on
 1110 non-specific defence mechanisms and oxidative stress in gilthead sea bream (*Sparus*
 1111 *aurata*). Aquaculture, 249(1-4), 387-400.
 1112 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.03.031>

- Storebakken, T., 2000. Soy products as fat and protein sources in fish feeds for intensive aquaculture. *Soy in animal nutrition*, 127-170.
- UNESCO, 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring, Intergovernmental Oceanographic commission- Manuals and guides 12.
- Urán, P. A., Schrama, J. W., Rombout, J. H. W. M., Taverne-Thiele, J. J., Obach, A., Koppe, W., & Verreth, J. A. J., 2009. Time-related changes of the intestinal morphology of *Atlantic salmon, Salmo salar L.*, at two different soybean meal inclusion levels. *Journal of fish diseases*, 32(9), 733-744.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01049.x>
- Vagadia, B. H., Vanga, S. K., & Raghavan, V., 2017. Inactivation methods of soybean trypsin inhibitor—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 64, 115-125.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.003>
- Wang, P., Zhu, J., Feng, J., He, J., Lou, Y., & Zhou, Q., 2017. Effects of dietary soy protein concentrate meal on growth, immunity, enzyme activity and protein metabolism in relation to gene expression in large yellow croaker *Larimichthys crocea*. *Aquaculture*, 477, 15-22.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.030>
- Wang, X., Luo, H., Wang, D., Zheng, Y., Zhu, W., Zhang, W., ... & Shao, J., 2023. Partial Substitution of Fish Meal with Soy Protein Concentrate on Growth, Liver Health, Intestinal Morphology, and Microbiota in Juvenile Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*). *Aquaculture Nutrition*, 2023.
<https://doi.org/10.1155/2023/3706709>
- Weibel, E. R., & Gomez, D. M., 1962. A principle for counting tissue structures on random sections. *Journal of applied physiology*, 17(2), 343-348.
<https://doi.org/10.1152/jappl.1962.17.2.343>
- Wright, P. A., 2001. Nitrogen excretion: three end products, many physiological roles. *Journal of Experimental Biology*, 198(2), 273-281.
- Zhang, J., Zhong, L., Peng, M., Chu, W., Liu, Z., Dai, Z., & Hu, Y., 2019. Replacement of fish meal with soy protein concentrate in diet of juvenile rice field eel *Monopterus albus*. *Aquaculture Reports*, 15, 100235.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100235>
- Zhu, R., Li, L., Li, M., Yu, Z., Wang, H., & Wu, L., 2020. The effects of substituting fish meal with soy protein concentrate on growth performance, antioxidant capacity and intestinal histology in juvenile golden crucian carp, *Cyprinus carpio* × *Carassius auratus*. *Aquaculture Reports*, 18, 100435.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100435>
- Zhu, Z. H., Yang, Q. H., Tan, B. P., Zhou, X. Q., Dong, X. H., Chi, S. Y., ... & Zhang, S., 2021. Effects of replacing fishmeal with soybean protein concentrate (SPC) on growth, blood biochemical indexes, non-specific immune enzyme activity, and nutrient apparent digestibility for juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture International*, 29(6), 2535-2554.
<https://doi.org/10.1007/s10499-021-00765-8>