

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

**CONCENTRAÇÃO PROTÉICA NA DIETA DURANTE A FASE INICIAL DE ALEVINAGEM DE
DOURADO, *Salminus brasiliensis*: CRESCIMENTO, COMPOSIÇÃO CORPORAL E EFICIÊNCIA
DE UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA DIETÉTICA**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Aquicultura do Centro de Ciências
Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina,
como para dos requisitos necessários para obtenção
do título de Mestre em Aquicultura.**

Orientadora: Dra. Débora Machado Fracalossi

BENJAMIM TEIXEIRA

FLORIANÓPOLIS - 2006

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA**



**CONCENTRAÇÃO PROTÉICA NA DIETA DURANTE A FASE INICIAL DE ALEVINAGEM DE
DOURADO, *Salminus brasiliensis*: CRESCIMENTO, COMPOSIÇÃO CORPORAL E EFICIÊNCIA
DE UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA DIETÉTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Aqüicultura.

Orientadora: Dr^a. Débora Machado Fracalossi.

BENJAMIM TEIXEIRA

FLORIANÓPOLIS - 2006

FICHA CATALOGRÁFICA

Teixeira, Benjamim.

Concentração protéica na dieta durante a fase inicial de alevinagem de dourado, *Salminus brasiliensis*: crescimento, composição corporal e eficiência de utilização da proteína dietética – 2006.

f. 42, grafs., tabs.

Orientadora: Dra. Débora Machado Fracalossi.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina – Centro de Ciências Agrárias.

Bibliografia: f. 42p.

1. Exigência protéica; 2. *Salminus brasiliensis*; 3. Dourado; 4. Alevinos.

**CONCENTRAÇÃO PROTÉICA NA DIETA DURANTE A FASE INICIAL DE ALEVINAGEM DE
DOURADO, *Salminus brasiliensis*: CRESCIMENTO, COMPOSIÇÃO CORPORAL E EFICIÊNCIA
DE UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA DIETÉTICA**

por

BENJAMIM TEIXEIRA

BANCA EXAMINADORA:

PRESIDENTE: _____
Dra. Débora Machado Fracalossi - *Orientadora*

MEMBRO: _____
Dra. Maude Regina de Borba

MEMBRO: _____
Dra. Mônica Yumi Tsuzuki

MEMBRO: _____
Dr. Evoy Zaniboni Filho (Suplente)

À minha família, em especial aos meus pais, Napoleão e Maria de Lourdes e minha esposa Renata. Por toda a confiança e amor recebidos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, grande pai de todos, por tudo que tenho e que sou. Pela saúde, vontade de buscar sempre o novo e oportunidade ímpar de fazer um mestrado.

A minha orientadora, professora Débora, pela oportunidade, pelos conselhos, ensinamentos, pela super orientação e pelo exemplo profissional.

A minha grandiosa e inesquecível esposa, Renata ou somente Renatinha. Por ter me acompanhado desde o início desta empreitada, sempre me estimulando, ajudando na condução do experimento, elaboração das rações e oferecendo valiosas sugestões. Obrigado por tudo: TE AMO.

A toda minha família, em especial aos meus pais, Napoleão e Maria de Lourdes, os quais sempre me amaram, acreditando até mais do que eu, em meu potencial. Pelos estímulos e por sempre estarem presentes na minha vida, mesmo a 2.000 km de distância.

A minha mais nova amiga, Denise, por ter sido meus olhos, mãos, etc... nos dias em que não podia estar no LAPAD. Sem você, com toda a sua competência e responsabilidade, este trabalho não teria sido realizado de forma tão tranqüila. Valeu !!!

Ao apoio e amizade de todo pessoal do LAPAD: Marquito, Samara, Davi, Grasi, Claudinha, Prof. Evoy, Prof. Alex, Lauro, Pedrão, Flávio ...

Aos companheiros do laboratório de nutrição: menino gênio (Renato), pelos ensinamentos, ajuda na confecção das rações, análises laboratoriais e estatísticas. À Fernanda, pela paciência, auxílio nas análises e por toda a conversa jogada fora. À Fanny, pelas sugestões e tradução do abstract Ronaldo, Leandro, Victor, Débora Zanella, João (portuga)...

Ao grande amigo Aparício, por ter me dado abrigo em Floripa durante o período experimental. Cara, nunca vou poder lhe pagar isso, muito obrigado!!!

Ao casal amigo, Danilo Della Motta e Rafaela, não tenho palavras para lhes agradecer.

Ao Colégio Agrícola Senador Carlos Gomes de Oliveira, nas pessoas do seu diretor e vice-diretor, Antônio Alir Dias Raitani Júnior e Robert Lenocho.

Aos meus amigos de trabalho: Rodrigão, pela companhia nas idas ao mestrado, Luciano "peposo", pela ajuda para tocar o laboratório e as aulas, principalmente na minha ausência, Maurício e Robert, pela confiança e cobrança para que eu terminasse rápido o mestrado, Jonas e Stella pelo apoio inestimável.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
RESUMO	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUÇÃO.....	1
O Dourado	1
Nutrição de Espécies Nativas	2
Concentrações Protéicas na Dieta de Peixes Carnívoros.....	2
CONCENTRAÇÃO PROTÉICA NA DIETA DURANTE A FASE INICIAL DE ALEVINAGEM DE DOURADO, <i>Salminus brasiliensis</i> : CRESCIMENTO, COMPOSIÇÃO CORPORAL E EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA DIETÉTICA	6
Resumo.....	6
Abstract.....	6
Introdução.....	7
Materiais e Métodos	8
Peixes e Condições Experimentais.....	8
Dietas Experimentais.....	9
Análise das Dietas e da Composição Corporal.....	9
Parâmetros Indicadores de Desempenho.....	9
Análise Estatística	10
Resultados e Discussão.....	11
Conclusão.....	16
Referências Bibliográficas.....	17
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	22
ANEXO I (Fotografias sobre a condução do experimento)	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....	26

LISTA DE FIGURAS

Introdução

- Figura 1: Regressão linear do ganho em peso de alevinos de dourado alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de proteína bruta na dieta por 29 dias..... 12
- Figura 2: Regressão polinomial da taxa de retenção de protéica a dos alevinos de dourados alimentados com diferentes concentrações de proteína bruta por 29 dias..... 15

LISTA DE TABELAS**INTRODUÇÃO**

Tabela 1:	Exigências protéicas de espécies de peixes carnívoros.....	3
-----------	--	---

CONCENTRAÇÃO PROTÉICA NA DIETA DURANTE A FASE INICIAL DE ALEVINAGEM DE DOURADO, *Salminus brasiliensis*: CRESCIMENTO, COMPOSIÇÃO CORPORAL E EFICIÊNCIA DE UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA DIETÉTICA**Introdução**

Tabela 1:	Valores médios, mínimos e máximos dos parâmetros de qualidade da água durante o período experimental.....	8
Tabela 2:	Composição das dietas experimentais (% da matéria seca).....	10
Tabela 3:	Desempenho dos alevinos de dourado alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de proteína bruta durante 29 dias.....	11
Tabela 4:	Composição corporal final dos alevinos de dourado alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de proteína bruta durante 29 dias.....	15

LISTA DE ABREVIATURAS

°C - grau Celsius
CA - conversão alimentar
CCA - Centro de Ciências Agrárias
EA - eficiência alimentar
EM - energia metabolizável
F1 - progênie de reprodutores selvagens
g - grama
GPD - ganho em peso diário
h - hora
kcal - quilocaloria
kg - quilograma
L - litro
LAPAD - Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce
mg - miligrama
min - minuto
mL - mililitros
mm - milímetro
 μ - micra
PB - proteína bruta
pH - concentração hidrogeniônica
TCE - taxa de crescimento específico
TRP - taxa de retenção protéica
TS - taxa de sobrevivência
UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina
UI - unidade internacional

RESUMO

O dourado, *Salminus brasiliensis*, é um caracídeo de ampla distribuição geográfica na América do Sul, que apresenta rápido desenvolvimento inicial e boa demanda para pesca esportiva. Entretanto, o canibalismo intenso, a dificuldade de adaptação ao cativeiro e a falta de conhecimento sobre suas exigências nutricionais são fatores limitantes a sua criação comercial. Objetivando a determinação da exigência protéica na fase inicial de crescimento, grupos de 15 alevinos ($0,75 \pm 0,01$ g) foram estocados em 18 tanques de 120 L e alimentados duas vezes ao dia (9 h e 16 h), até a saciedade aparente, com dietas semipurificadas e aproximadamente isocalóricas (4.000 a 4.376 kcal/kg de energia metabolizável estimada, EM, calculada assumindo-se: 5,64 kcal/g para proteína, 4,11 para carboidrato e 9,44 kcal/g para lipídio). As dietas experimentais variaram nas suas concentrações protéicas de 32,29%; 36,96%; 40,32%; 47,27%; 51,85% a 57,63%. Após 29 dias, a análise de regressão revelou aumento linear do ganho em peso com o aumento da concentração protéica da dieta. Entretanto, a taxa de retenção protéica, que representa a relação entre a proteína consumida e a depositada, tendeu a ser maior próximo à concentração dietética de 40,32% PB, respondendo de forma exponencial quadrática aos incrementos protéicos na dieta. Esta diferença, entre a concentração protéica necessária para máximo ganho em peso e aquela exigida para maior retenção protéica, sugere uma possível redução na exigência protéica dos alevinos de dourado, caso houvesse maior disponibilidade de energia não protéica nas dietas com a maior concentração de proteína. A composição corporal dos alevinos não foi influenciada pelas diferentes dietas testadas ($P > 0,05$). Sendo assim, para a concentração energética de 4.376 kcal/kg recomenda-se a inclusão de, pelo menos, 58% de proteína bruta na formulação de dietas para alevinos de dourado, com peso médio entre 0,75 g e 3,18 g.

ABSTRACT

Dourado, *Salminus brasiliensis*, is a Characidae fish widely distributed throughout South America with fast initial growth and highly appreciated as a game fish. Nevertheless, intense cannibalism, difficult adaptation to captivity, and lack of information on nutritional requirements has been limiting commercial farming. Aiming at determining protein requirement at the initial growth phase, groups of 15 fish (0.75 ± 0.01 g) were stocked in eighteen 120-l tanks and fed experimental diets twice a day (0900h and 1600h) to apparent satiety. Diets were semipurified and approximately isocaloric, 4,000 – 4376 kcal/kg estimate metabolizable energy (ME), calculated assuming 5,64 kcal/g for protein, 4,11 for carbohydrate, and 9,44 kcal/g for lipids. Protein concentrations included in the experimental diets were 32.29%; 36.96%; 40.32%; 47.27%; 51.85%, and 57.63%. After 29 days of feeding, regression analysis revealed a linear increase in weight gain with increased protein concentrations in the diet. However, protein retention rate, i. e., the relationship between consumed protein and protein deposited in the muscle, was higher near the concentration of 40.32%, showing a quadratic exponential response to the dietary protein levels. Such difference between the protein required for maximum weight gain and the protein required for maximum retention suggests a possible reduction in juvenile dourado protein requirement if more non-protein energy source is available in the diets with high protein concentration. Fish body composition was not influenced ($P>0.05$) by the diets tested. In this way, for an energy concentration of 4,376 kcal/kg a minimum of 58% crude protein is recommended in the diets for juvenile dourado averaging 0,75 g to 3,18 g.

INTRODUÇÃO

O Dourado

O dourado, *Salminus brasiliensis* (Cuvier 1816), sin. *S. maxillosus* (Valenciennes 1850) é um peixe de água doce de grande porte, que pode atingir cerca de 1 m de comprimento total (Froese & Pauly, 2006), sendo que os machos podem chegar aos 5 kg e, as fêmeas, aos 26 kg de peso (Morais Filho & Schubart, 1955). Possui corpo fusiforme de coloração amarelo-dourada, com reflexos prateados. Pertence à família Characidae, ordem Characiformes, com ampla distribuição geográfica, sendo encontrado nas bacias dos rios Paraná, Paraguai, Uruguai, São Francisco, Alto Rio Chaparé e Mamoré (ambos na Bolívia) e nas bacias ligadas ao sistema lagunar da Lagoa dos Patos (MORAIS Filho & Schubart, 1955; Weingartner & Zaniboni-Filho, 2005; Froese & Pauly, 2006). Na natureza, habita preferencialmente ambientes lóticos e encaichoeirados, apresentando desova total anual e hábito alimentar carnívoro desde os primeiros estágios de vida (Vazzoler, 1996; Machado, 2003; Ribeiro, 2005). Recentemente, o dourado foi introduzido na piscicultura nacional, apresentando resultados satisfatórios em sistemas de cultivo semi-intensivo, geralmente em policultivos com outras espécies forrageiras (Machado, 2003). É um dos peixes esportivos de água doce mais populares no Brasil, sendo sua captura, por muitos anos, apenas possível no ambiente natural. Hoje, graças às técnicas de reprodução artificial, sua criação em cativeiro tem aumentado. Segundo Machado (2004), esta é uma das espécies de peixe mais valorizadas da bacia do alto Rio Uruguai, na região oeste de Santa Catarina.

Weingartner & Zaniboni-Filho (2005) ressaltam duas razões para o atual interesse no cultivo do dourado: a primeira está relacionada ao seu potencial para piscicultura, pois a espécie possui rápido desenvolvimento inicial, elevado preço de mercado e demanda de consumo e, a segunda, à conservação desta espécie no ambiente natural. Por ser uma espécie reofilica, a construção de barragens e a degradação do habitat interfere diretamente em seu ciclo reprodutivo, reduzindo seu estoque no ambiente natural (Furuya, 2001; Pinto & Guglielmoni, 1986; Weingartner & Zaniboni-Filho, 2005). Kubitzka (1995) resalta ainda a sua grande importância como peixe esportivo ou até mesmo ornamental.

Atualmente, a maior parte das dificuldades relacionadas à reprodução artificial do dourado já está resolvida (Furuya, 2001). Entretanto, o canibalismo intenso que ocorre imediatamente após o início da alimentação exógena constitui um fator limitante na criação desta espécie (Pinto et al., 1986; Furuya, 2001; Luz et al., 2000). No que diz respeito ao manejo alimentar de larvas, Vega-Orellana et al. (2006) demonstraram a importância do alimento vivo logo após a eclosão das larvas, sugerindo ainda que a ração pode ser oferecida, de forma gradual, a partir do quinto dia após a eclosão. Outros entraves no cultivo intensivo do dourado são o difícil manejo em viveiros, pois é uma espécie bastante suscetível aos agentes estressores causados pelo manuseio, por exemplo, em uma biometria (Fracalossi et al., 2002), e a falta de conhecimento sobre suas exigências nutricionais nas diferentes fases de criação.

Nutrição de Espécies Nativas

A piscicultura na região sul do Brasil baseia-se principalmente no cultivo de espécies exóticas (Fracalossi et al., 2002). Desta forma, as informações relacionadas à nutrição de peixes nativos são escassas na literatura, principalmente quando comparadas às existentes para espécies exóticas como a tilápia (*Oreochromis niloticus*), carpa comum (*Ciprinus carpio*), bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Nos últimos anos, entretanto, os piscicultores têm demonstrado interesse também na criação de algumas espécies nativas, devido as suas características zootécnicas desejáveis (Zaniboni-Filho, 2000). Isto motivou a realização de estudos para o desenvolvimento de tecnologias para a criação de peixes nativos da bacia do alto Rio Uruguai, incluindo estudos na área de nutrição e alimentação (Sá & Fracalossi, 2002; Borba et al., 2003; Machado, 2004; Meyer & Fracalossi, 2004; Salhi et al. 2004; Baldisserotto & Radünz-Neto, 2004; Borba et al., 2006; Montes-Girao & Fracalossi, 2006; Oliveira-Filho & Fracalossi, 2006; Vega-Orellana et al., 2006). Entretanto, o conhecimento a respeito da nutrição e alimentação de espécies carnívoras, como o dourado, ainda é bastante limitado (Borghetti, et al., 1990; Machado, 2004), sendo este o principal entrave para a viabilização da sua produção intensiva (MACHADO, 1999 e CYRINO, 2000).

Concentrações Protéicas na Dieta de Peixes Carnívoros

Informações precisas sobre as exigências protéicas dos peixes são cruciais para a formulação de rações eficientes, que propiciem uma redução nos custos de produção. Este conhecimento torna-se ainda mais vital para o sucesso econômico da criação, quando se trata de espécies carnívoras, que possuem uma elevada exigência protéica (NRC, 1993; Fernandes et al., 2000). A proteína é o nutriente mais caro da dieta (Lovell, 1998; Khan et al. 1993; Sá & Fracalossi, 2002), responsável por 20 a 50% do custo total da ração, a qual representa até 70% do custo total de produção de espécies carnívoras (Sampaio et al., 2000; Cyrino, 2000). Portanto, quando uma nova espécie é considerada para a criação intensiva, estudos que visam determinar a exigência protéica na dieta são usualmente os primeiros a serem conduzidos (Ng et al., 2001; NRC, 1993).

A proteína é utilizada pelos peixes para o crescimento e para manutenção do metabolismo por meio da geração de energia (Wilson, 2002). Sua concentração na dieta é variável com a exigência da espécie e estágio de desenvolvimento, qualidade da proteína (balanceamento de aminoácidos e digestibilidade), concentração energética da dieta e ambiente de cultivo (Tacon, 1989; Nrc, 1993; Elangovan & Shim, 1997).

Segundo Chong et al. (2000), tanto baixas como altas concentrações de proteína na dieta podem afetar o crescimento dos peixes. Baixos níveis protéicos acarretam redução no ganho em peso (ARZEL et al., 1995; FERNANDES et al., 2000; MEYER & FRACALLOSSI, 2004), além de excessiva deposição de gordura corporal (Sá & Fracalossi, 2002; Ng et al., 2001; Meyer & Fracalossi, 2004). Segundo Arzel et al. (1995), essa deposição lipídica acontece devido ao aumento do consumo de nutrientes não protéicos por unidade de ganho de peso, ou seja, em dietas pobres em proteínas os peixes ingerem mais energia, a qual acaba sendo depositada na forma de tecido adiposo. Por outro lado, diversos estudos mostram uma queda no crescimento em resposta a concentrações de

proteína acima do ótimo exigido pela espécie (Mazid et al., 1979, Siddiqui et al., 1988; Khan et al., 1993; Elangovan & Shim, 1997; Chong et al., 2000). Uma possível explicação para esse fenômeno é que parte da energia que estaria disponível ao crescimento é utilizada para a desaminação dos aminoácidos em excesso (Jauncey, 1982). Além disso, quando a exigência protéica da espécie é extrapolada na dieta, parte da proteína em excesso será utilizada como energia, aumentando os custos da ração e aumentando a poluição da água por amônia, produto da excreção nitrogenada nos peixes (NRC, 1993). Um excesso de amônia, mesmo quando abaixo dos níveis tóxicos aos peixes, pode levar à eutrofização do viveiro, o que deteriora a qualidade da água e aumenta a chance de aparecimento de “*off-flavor*” nos peixes (NRC, op cit).

As exigências protéicas de peixes carnívoros, de origem marinha ou de água doce, são normalmente altas, variando de 40 a 55% da dieta (Tucker, 1998). Tacon & Cowey (1985) relatam que esta exigência está relacionada à capacidade inata que os peixes possuem de utilizar a proteína da dieta como fonte de energia. A Tabela 1 exemplifica as exigências de algumas espécies carnívoras, determinadas em experimentos do tipo dose-resposta.

Tabela 1: Exigências protéicas de espécies de peixes carnívoros.

Nome comum	Espécie	Concentração energética da dieta (kcal/kg)	Exigência protéica (%)	Peso inicial (g)	Referência
Dourado	<i>S. brasiliensis</i>	NC	40,0	167,4	Borghetti et al., 1990
Dourado	<i>S. brasiliensis</i>	4.000 ³	40,1	5,7	Machado, 2004
Pirarucu	<i>Arapaima gigas</i>	NC	48,0	120,6	Itassú et al., 2002
Pintado	<i>Pseudoplatystoma coruscans</i>	4.000 ²	30,0	25	Machado, 1999
“Black bass”	<i>Micropterus salmoides</i>	3.871 ¹	43,5	14,5	Cyrino, 2000
Catfish	<i>Mystus nemurus</i>	4.778 ¹	44,0	7,6	Ng et al., 2001
Acará disco	<i>Symphysodon</i> spp.	4.292 ¹	44,9 – 50,1	4,4 – 4,6	Chong et al., 2000
Truta marrom	<i>Salmo trutta</i>	5.052 ²	53,0	1,2	Arzel et al., 1995
Dentex	<i>Dentex dentex</i>	4.347 ¹	44,3 – 58,9	17,0	Tibaldi et al., 1996
“Snakehead”	<i>Channa striata</i>	4.400 ²	40	12,0	Samantaray & Mohanty, 1997
Robalo japonês	<i>Lateolabrax japonicus</i>	6.139 ³	46,0	6,3	Ai et al., 2004
Robalo europeu	<i>Dicentrarchus labrax</i>	4.801 ¹	45	2,8	Pérez et al., 1997
Robalo asiático	<i>Lates calcarifer</i>	3.365 ³	42,5	1,3	Catacutan & Coloso, 1995
Linguado	<i>Paralichthys dentatus</i>	NC ⁴	56,0	NC ⁴	Daniels & Gallagher, 2002

¹Energia bruta.

²Energia digestível.

³Energia metabolizável.

⁴Não especificada.

A exigência protéica do pirarucu (*A. gigas*) foi determinada por Itassú (2002) para juvenis com peso médio inicial de 120,6 g, testando quatro níveis de proteína bruta (PB): 30, 36, 42, e 48%. A dieta com 48% PB resultou em maior ganho em peso, crescimento específico e rendimento de carcaça. O autor salienta que a exigência protéica da espécie, nesta fase de crescimento, possa ser

ainda mais elevada, sugerindo que a utilização de níveis adequados de energia nas rações poderia diminuir a exigência em proteína, diminuindo também o custo da ração.

Para alevinos de acará disco (4,4 a 4,6 g), Chong et al. (2000) testaram cinco dietas semipurificadas com diferentes concentrações protéicas: 35, 40, 45, 50 e 55% PB e concentrações energéticas variando de 4.777 a 4.992 kcal de energia metabolizável (EM)/kg. Analisando a resposta em crescimento por regressão polinomial de segunda ordem, esses autores indicam que a concentração de proteína necessária para a obtenção da máxima taxa de crescimento específico foi 50,1% PB e 4.992 kcal/kg, mas a melhor conversão alimentar foi observada nos peixes alimentados com 44,9% PB e 5.000 kcal/kg. Pelo exposto, os autores sugeriram que a exigência protéica para alevinos da espécie se encontra entre estas duas concentrações. A exigência em proteína para alevinos de robalo-peva (1,5 - 3,5 g) (*Centropomus parallelus*) foi similar à encontrada para alevinos de garoupa (9,0 g) (*Epinephelus malabaricus*), ambas espécies marinhas de hábito alimentar carnívoro, ficando em 45% PB (Cavalheiro & Pereira, 1998). Khan et al. (1993) observou crescimento máximo, quando alevinos de *Mystus nemurus* (7,6 g) foram alimentados com dietas semipurificadas contendo 44% de PB e 4.778 kcal/kg de energia bruta em condições experimentais. Já para o pintado (*P. coruscans*), com peso inicial de 25,0 g, o melhor ganho em peso e conversão alimentar foram observados nos peixes alimentados com rações contendo 46% PB e 18,1% de lipídio (Martino et al., 2002). Entretanto, em estudo anterior com esta mesma espécie, realizado por Machado (2004), o melhor ganho em peso e eficiência alimentar foram obtidos com a dieta contendo 30% de PB e 4.000 kcal/kg. Este resultado é questionável se comparado com as concentrações protéicas normalmente exigidas por outras espécies carnívoras (Tabela 1).

Os salmonídeos são as espécies mais estudadas no que se refere a nutrição de peixes cultivados, sendo que as exigências protéicas conhecidas para diversas fases de desenvolvimento. Para alevinos de truta arco-íris (2,5 g), a exigência nutricional em proteína bruta na dieta está entre 45 - 50%; juvenis com 50 g de peso necessitam de 40% e, para truta acima de 150 g, esta exigência é de apenas 35% (Ribeiro et al., 2001). Fiogbé & Kestemont (1995) determinaram que a concentração protéica que promoveu o melhor crescimento em larvas de kinguio (*Carassius auratus*) foi 53%, concentração esta muito superior à encontrada por Lochmann & Phillips (1994) para alevinos (0,2 g) da mesma espécie, a qual foi 29%. Neste caso, a alta exigência protéica das larvas, quando comparada com a de alevinos da mesma espécie, reafirma que o estágio de desenvolvimento pode afetar significativamente a exigência protéica. Para esta espécie, o estágio larval ocorre em um curto espaço de tempo (20 dias), demandando alta concentração protéica na dieta. Ainda, a existência de um sistema macromolecular de absorção protéica mais eficiente na fase larval, quando comparado à absorção em alevinos, pode também explicar esta maior exigência (Fiogbé & Kestemont, 1995).

A utilização de índices, como a taxa de retenção protéica [TRP = $100 \times (\text{proteína corporal final} - \text{proteína corporal inicial}) / \text{consumo de proteína}$], calculada pela determinação da composição corporal dos peixes, possibilita um melhor entendimento sobre a utilização da proteína da dieta, a qual não é evidente somente com as medidas de ganho em peso (GP = peso final - peso inicial) e eficiência alimentar (EA = ganho em peso / alimento consumido) ou conversão alimentar (CA = alimento consumido / ganho em peso). A TRP é influenciada pela concentração de proteína na dieta

e seus valores variam com a espécie (Dabrowski, 1997). Samantaray & Mohanty (1997) observaram um decréscimo na TRP para alevinos (12 g) de “snakehead”, à medida que aumentou a concentração protéica de 35 para 50% na dieta. Esta mesma resposta foi observada em alevinos de robalo japonês, *Lateolabrax japonicus*, pesando 6,3 g (Al et al, 2004), juvenis de dentex, *Dentex dentex*, com 20,7 g (Tibaldi, 1996) e juvenis de “black bass” com 14,5 g (Cyrino, 2000). Segundo Sampaio et al. (2000), a TRP mais elevada nas menores concentrações protéicas pode estar associada ao uso mais eficiente da proteína, quando esta se apresenta deficiente na ração. Por outro lado, a autora relaciona os menores valores de TRP em concentrações elevadas de proteína na dieta com sua possível utilização como fonte de energia.

Em revisão da literatura, somente dois estudos sobre a determinação da exigência protéica do dourado foram identificados: um para alevinos (peso médio 5,68 g), onde as fontes protéicas foram uma farinha de peixe integral, importada do Chile (71,51% PB e 7,26% gordura bruta), caseína e gelatina, em tanques de 130 L (Machado, 2004) e outro para juvenis (167,4 g), com dietas práticas, em tanques-rede, tendo como fonte protéica uma farinha de peixe não especificada (Borghetti et al., 1990). O último autor testou três concentrações protéicas (30, 35 e 40% PB) e concluiu que a exigência protéica da espécie não foi atingida. Estudos iniciais sobre a exigência protéica de uma espécie normalmente são realizados com dietas semipurificadas, à base de caseína-gelatina, consideradas fontes protéicas altamente digestíveis para os peixes (NRC, 1993) e em ambientes controlados (CHO, 1992). Desta forma, tem-se uma idéia inicial da exigência protéica, sem a interferência causada pelos fatores ambientais e pela digestibilidade variável dos nutrientes, quando estes provêm de ingredientes práticos como o farelo de soja ou o glúten de milho, por exemplo. No estudo de Machado (2004), realizado nas dependências do Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce, LAPAD, não foi observada diferença significativa no ganho em peso diário (0,33 a 0,41 g) e na taxa de crescimento específico (2,03 a 2,19%) ao final de 94 dias, apesar dos alevinos receberem dietas com concentrações protéicas que variaram de 33,93% a 53,61%. Contudo, no referido estudo a exigência protéica de alevinos de dourado foi estimada por análise de regressão segmentada como sendo 40,97% PB. A maior taxa de retenção protéica ($P > 0,05$) também foi observada nos peixes alimentados com similar concentração protéica, ou seja, 41,18% PB na dieta. A ausência de diferença em ganho em peso ao final de 94 dias pode ter ocorrido por uma limitação no espaço para o crescimento dos peixes submetidos à dieta de 41,18% PB, já que estes apresentaram ganho em peso superior aos demais durante a maior parte do período experimental, constatado nas biometrias quinzenais (dados não publicados). Sendo assim, o rápido crescimento dos alevinos de dourado (5,68 a 34,49g), em 94 dias, sugere que sua exigência protéica seja ainda mais alta nas fases iniciais de crescimento. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo determinar a exigência protéica de alevinos de dourado com menor peso inicial ($0,75 \text{ g} \pm 0,01$) e por um período de apenas 30 dias.

O artigo científico que segue foi escrito de acordo com as normas para publicação no periódico Scientia Agrícola, ESALQ-USP, Piracicaba, SP.

**CONCENTRAÇÃO PROTÉICA NA DIETA DURANTE A FASE INICIAL DE ALEVINAGEM DE
DOURADO, *Salminus brasiliensis*: CRESCIMENTO, COMPOSIÇÃO CORPORAL E EFICIÊNCIA
DE UTILIZAÇÃO DA PROTEÍNA DIETÉTICA**

Benjamim Teixeira; Débora Machado Fracalossi*

Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Aqüicultura, Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce, Rodovia Admar Gonzaga, 1346, 88034-001 – Florianópolis, SC – Brasil.

*Autor correspondente <deboraf@cca.ufsc.br>

RESUMO: O dourado, *Salminus brasiliensis*, é um caracídeo de ampla distribuição geográfica na América do Sul, que apresenta rápido desenvolvimento inicial e boa demanda para pesca esportiva. Entretanto, o canibalismo intenso, a dificuldade de adaptação ao cativeiro e a falta de conhecimento sobre suas exigências nutricionais são fatores limitantes a sua criação comercial. Objetivando a determinação da exigência protéica na fase inicial de crescimento, grupos de 15 alevinos ($0,75 \pm 0,01$ g) foram estocados em 18 tanques de 120 L e alimentados duas vezes ao dia (9 h e 16 h), até a saciedade aparente, com dietas semipurificadas e aproximadamente isocalóricas (4.000 a 4.376 kcal/kg de energia metabolizável estimada, EM, calculada assumindo-se: 5,64 kcal/g para proteína, 4,11 para carboidrato e 9,44 kcal/g para lipídio. As dietas experimentais variaram nas suas concentrações protéicas de 32,29%; 36,96%; 40,32%; 47,27%; 51,85% a 57,63%. Após 29 dias, a análise de regressão revelou aumento linear do ganho em peso com o aumento da concentração protéica da dieta. Entretanto, a taxa de retenção protéica, que representa a relação entre a proteína consumida e a depositada, tendeu a ser maior próximo à concentração de 40,32%, respondendo de forma exponencial quadrática aos incrementos protéicos na dieta. Esta diferença, entre a concentração protéica necessária para máximo ganho em peso e aquela exigida para maior retenção protéica, sugere uma possível redução na exigência protéica dos alevinos de dourado, caso houvesse maior disponibilidade de energia não protéica nas dietas com a maior concentração de proteína. A composição corporal dos alevinos não foi influenciada pelas diferentes dietas testadas ($P > 0,05$). Sendo assim, para a concentração energética de 4.376 kcal/kg recomenda-se a inclusão de, pelo menos, 58% de proteína bruta na formulação de dietas para alevinos de dourado, com peso médio entre 0,75 g e 3,18 g.

ABSTRACT: Dourado, *Salminus brasiliensis*, is a Characidae fish widely distributed throughout South America with fast initial growth and highly appreciated as a game fish. Nevertheless, intense cannibalism, difficult adaptation to captivity, and lack of information on nutritional requirements has been limiting commercial farming. Protein requirement at the initial growth phase was estimated by a feeding trial where groups of 15 fish (0.75 ± 0.01 g) were stocked in eighteen 120-L tanks and fed experimental diets twice a day (9h and 16h) to apparent satiety. Casein-gelatin based diets were approximately isocaloric (4,000 to 4,376 kcal/kg estimated metabolizable energy, calculated assuming 5,64 kcal/g for protein, 4,11 for carbohydrate, and 9,44 kcal/g for lipids). Protein concentrations included in the experimental diets were 32.29%; 36.96%; 40.32%; 47.27%; 51.85%, and 57.63%. After 29 days of feeding, regression analysis revealed a linear increase in weight gain, with increased protein concentrations in the diet. However, protein retention rate, i. e., the relationship between consumed protein and protein deposited in the muscle, was higher near the dietary concentration of 40.32%, showing a quadratic exponential response to the dietary protein levels. If enough non-protein energy source was available to spare protein in the diets with high protein concentration, probably dourado fingerling protein requirement could be lowered. This is suggested by the difference observed between the dietary protein concentration required for maximum weight gain and that required for maximum body retention. Fish body composition was not influenced ($P > 0.05$) by the diets tested. Thus, a minimum of 58% crude protein is recommended in diets for dourado fingerlings averaging 0.75g to 3.18 g at a dietary energy concentration of 4,376 kcal/kg.

INTRODUÇÃO

O dourado, *Salminus brasiliensis*, é uma espécie carnívora com ampla distribuição geográfica, sendo encontrado, no Brasil, nas bacias do Rio da Prata, São Francisco e nas ligadas ao sistema lagunar da Lagoa dos Patos (Morais Filho & Schubart, 1955; Froese & Pauly, 2006). Nos últimos anos, os piscicultores da região Sul do Brasil têm demonstrado grande interesse na criação desta espécie, devido ao seu rápido desenvolvimento inicial, elevado preço de mercado e demanda como peixe de mesa e para a pesca esportiva (Weingartner & Zaniboni-Filho, 2005). Entretanto, a maioria dos estudos com o dourado concentra-se na sua biologia reprodutiva e no desenvolvimento de técnicas de reprodução artificial (Barbosa & Zaniboni-Filho, 1990; Barbieri et al., 2000; Machado, 2004). Mesmo assim, piscicultores relatam resultados satisfatórios em sistemas de cultivo semi-intensivo e em policultivos com espécies forrageiras (Machado, 2003). Rações comerciais para truta, espécie carnívora, são utilizadas para a engorda do dourado, já que estudos sobre as suas exigências nutricionais são escassos. Contudo, a ausência de conhecimento sobre as exigências nutricionais nas diferentes fases de criação é apontada como o principal fator limitante para a criação desta espécie (Machado, 2003 e Cyrino, 2000).

A proteína é o nutriente mais caro da dieta (Lovell, 1989; Khan et al., 1993). Portanto, estudos para determinar sua exigência são normalmente os primeiros a serem conduzidos (NRC, 1993). Quando a dieta contém proteína acima da exigência da espécie, esta será utilizada como fonte de energia, aumentando os custos da ração (NRC, 1993, Buttle et al., 1995), já que a energia pode ser fornecida por nutrientes de menor custo como carboidratos e lipídios. Quando, ao contrário, houver uma deficiência de proteína na dieta, não haverá aminoácidos essenciais em quantidade suficiente para a síntese protéica, ocasionando redução no crescimento dos peixes (Shiau & Lan, 1996).

Dois estudos sobre a exigência protéica do dourado foram realizados, até o presente. O estudo com juvenis (167,4 g), realizado por Borghetti et al. (1990), não apresentou dados conclusivos sobre a exigência protéica da espécie. Neste estudo, tanques-rede foram utilizados como unidades experimentais e três dietas práticas, as quais variaram na sua concentração protéica (30%, 35% e 40% de proteína bruta, PB), foram oferecidas por um período de 25 semanas. O ganho em peso foi maior nos peixes que receberam a maior concentração protéica, o que não permitiu a estimativa da exigência para esta fase de desenvolvimento. Outro estudo, mais recente realizado com dietas semipurificadas, por um período de 94 dias, demonstrou que alevinos de dourado com peso inicial médio de 5,68 g apresentaram maior ganho em peso quando a dieta continha 40,97 % de proteína bruta (Machado, 2004). Entretanto, o rápido crescimento inicial do dourado sugere que sua exigência protéica seja ainda mais elevada nas fases iniciais de desenvolvimento. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo determinar a exigência protéica de alevinos de dourado com peso inicial de 0,75 g por um período de apenas 29 dias, buscando aumentar a probabilidade de sucesso da alevinagem desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Peixes e Condições Experimentais

O experimento foi realizado no Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina (LAPAD/CCA/UFSC), localizado no município de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Duzentos e setenta alevinos de dourado, pesando em média $0,75 \pm 0,01$ g, provenientes do cruzamento entre um macho selvagem e uma fêmea "F1" submetidas à indução hormonal, foram estocados na densidade de 15 alevinos/tanque, em 18 unidades experimentais de polietileno (68 x 50 x 38 cm), com volume útil de 120 L. Estas unidades estavam ligadas a um sistema de recirculação de água, com taxa de renovação diária de 1.000%. Tal sistema possuía filtragem mecânica e biológica, aeração individual e controle de temperatura da água. A cada 4 dias, a água do fundo dos tanques foi sifonada, para evitar o acúmulo de fezes e conseqüente aumento na concentração de amônia na água. O fotoperíodo foi mantido em 12 h (7 h às 19 h).

Os peixes foram aclimatados às condições experimentais por 4 dias; período durante o qual receberam porções crescentes de uma dieta basal semipurificada (32% PB), misturada a porções decrescentes de uma dieta comercial contendo aproximadamente 40% de proteína. Após a aclimação, os peixes foram alimentados com as dietas experimentais até a saciedade aparente, duas vezes ao dia (9 h e 16 h), durante 29 dias.

Uma vez a cada 15 dias os peixes foram submetidos a uma pesagem para coleta parcial dos dados de ganho em peso. A cada pesagem os alevinos foram anestesiados com 0,1 mL/10L de óleo de cravo e submetidos a um banho profilático em uma solução de 50 mg/L de oxitetraciclina, durante 20 min. O peso do alimento oferecido durante os 29 dias de ensaio alimentar foi registrado separadamente para cada unidade experimental após a última alimentação diária, para posterior cálculo dos índices de desempenho.

Durante o período experimental, os parâmetros de qualidade da água: temperatura, concentração de oxigênio dissolvido e concentração hidrogeniônica (pH) foram registrados diariamente, no período da manhã, com o auxílio de um oxímetro e termômetro (YSI 55) e um pHgâmetro (YSI 60/10), respectivamente. As concentrações de amônia total e nitrito foram medidas semanalmente no Laboratório de Qualidade de Água do LAPAD de acordo com Koroleff (1976) e Golterman et al. (1978). Os parâmetros de qualidade da água monitorados (Tabela 1) mantiveram-se dentro dos limites considerados adequados para o desenvolvimento da espécie (Gazzola, 2003; Streit, 2006).

Tabela 1. Valores médios, mínimos e máximos dos parâmetros de qualidade da água durante o período experimental.

Parâmetros	Média	Mínimo	Máximo
Temperatura (°C)	28,11	24,2	30,2
Oxigênio dissolvido (mg/L)	6,91	5,95	8,02
pH	7,26	6,85	7,79
Amônia total (mg/L)	0,04	0,04	0,04
Nitrito (mg/L)	0,01	0,01	0,01

Dietas Experimentais

Seis dietas semipurificadas, aproximadamente isocalóricas, foram formuladas para atender às exigências nutricionais da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (NRC, 1993), espécie também carnívora e de água doce, com exceção da concentração protéica. Foram testadas seis concentrações protéicas crescentes de 32,29%; 36,96%; 40,32%; 47,27%; 51,85% e 57,63% com a energia metabolizável (EM) variando de 4.000 a 4.376 kcal/kg (Tabela 2), distribuídas aleatoriamente às unidades experimentais, com três repetições cada. A quantidade de energia das dietas foi estimada a partir dos valores fisiológicos padrão de 5,64 kcal/kg para proteínas, 4,11 para carboidratos digestíveis e 9,44 kcal/g para lipídios (NRC, 1993). Em todas as dietas utilizou-se a mesma relação entre as fontes protéicas (caseína:gelatina, 5:1), as fontes lipídicas (óleo de fígado de bacalhau:óleo de soja, 1,8:1) e as fontes energéticas não protéicas (carboidrato:lipídio, 3,1:1). Estas proporções foram mantidas com o objetivo de diminuir a variação na utilização dos nutrientes entre as dietas experimentais.

Na confecção das dietas, foram inicialmente misturados os ingredientes secos, sendo após adicionados os óleos e água. A massa resultante da mistura dos ingredientes passou por uma matriz de 2 mm e foi seca em estufa, a 60 °C, por 8h. Após a secagem, as dietas foram trituradas e fracionadas em peneiras de 850 a 1.180 μ , sendo então embaladas e armazenadas sob congelamento (-20°C) até o momento da sua utilização.

Análise das Dietas e da Composição Corporal

As concentrações de proteína bruta, extrato etéreo, matéria seca, fibra e cinzas das dietas experimentais também estão expressas na Tabela 2. A proteína bruta foi obtida pelo método de Kjeldahl ($N \times 6,25$), após digestão ácida, o extrato etéreo por extração em éter (após hidrólise ácida), a matéria seca por secagem a 105 °C até peso constante, a fibra pela digestão em detergente ácido e as cinzas (material mineral) por incineração a 550 °C. Todas as metodologias aplicadas seguiram normas padronizadas pela AOAC (1999) e foram realizadas no Laboratório de Nutrição do LAPAD.

No início do experimento, 40 alevinos foram amostrados para a realização das análises de composição corporal inicial (peixe inteiro), agrupando-os em uma amostra única. Ao final do período experimental, todos os indivíduos restantes de cada tratamento foram utilizados para as análises de composição centesimal final. Os alevinos foram triturados, homogeneizados e uma alíquota submetida a análise da composição corporal em duplicata (proteína bruta, extrato etéreo e umidade), com exceção da determinação de cinzas, que foi feita em triplicata. A composição corporal dos peixes foi determinada seguindo as mesmas metodologias utilizadas na análise de composição das dietas.

Parâmetros Indicadores de Desempenho

Os dados de peso obtidos nas biometrias, do consumo de ração e composição corporal e das dietas foram utilizados para o cálculo dos seguintes parâmetros indicadores de desempenho: ganho

em peso diário (GPD = peso final – peso inicial/números de dias), eficiência alimentar [EA = ganho em peso/alimento consumido (matéria seca)], conversão alimentar [CA = alimento consumido (matéria seca) /ganho em peso] e taxa de crescimento específico [TCE = 100x (ln peso médio final – ln peso médio inicial)/dias]. Foi também calculada a taxa de retenção de proteína [TRP = 100 x (proteína corporal final – proteína corporal inicial)/ consumo em proteína (matéria seca)].

Tabela 2: Composição das dietas experimentais (% da matéria seca).

Ingredientes ¹	% Proteína Bruta					
	32,29	36,96	40,32	47,27	51,85	57,63
Caseína	28,0	32,0	36,5	41,7	46,0	50,6
Gelatina	5,6	6,4	7,3	8,0	9,2	10,1
Dextrina	32,3	27,7	23,6	19,2	16,3	13,3
Celulose	12	13,3	13,3	13,1	11,5	10,0
Óleo de soja ²	3,7	3,2	2,7	2,2	1,9	1,5
Óleo de bacalhau ³	6,7	5,8	4,9	4,0	3,4	2,8
Carbox-metil-celulose	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Mistura mineral e vitamínica ⁴	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Mistura macromineral ⁵	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7	5,7
Composição proximal ⁶ (% matéria seca)						
Matéria seca	91,27	92,62	93,06	92,49	90,77	91,77
Proteína bruta	32,29	36,96	40,32	47,27	51,85	57,63
Extrato etéreo	11,78	8,34	8,45	8,23	7,01	6,82
Fibra em detergente ácido	20,47	19,18	17,54	17,81	15,04	13,27
Cinzas	7,99	8,04	7,93	8,11	8,21	8,47
Energia metabolizável estimada ⁷	4.000	4.154	4.158	4.177	4.283	4.376
Relação EM/PB, kcal EM/g PB	12,39	11,25	10,31	8,80	8,26	7,59

¹ Rhoster LTDA (São Paulo, SP).

² SOYA Bunge Alimentos S.A. (Gaspar, SC).

³ Delaware LTDA (Porto Alegre, RS).

⁴ Composição/kg do produto (Nutron Alimentos, Campinas, SP): ácido fólico (250 mg), ácido pantotênico (5.000 mg), antioxidante (0,6 g), biotina (125 mg), cobalto (25 mg), cobre (7.000 mg), colina (75.000 mg), ferro (13.820 mg), iodo (100 mg), manganês (3.750 mg), niacina (5.000 mg), selênio (75 mg), vitamina A (1.000.000 UI), Vitamina B1 (1.250 mg), Vitamina B12 (3.750 mg), Vitamina B2 (2.500 mg), Vitamina B6 (1.875 mg), Vitamina C (42.000 mg), Vitamina D3 (500.000 UI), Vitamina E (20.000 UI), Vitamina K (500 mg), zinco (17.500 mg) (Nutron Alimentos, Campinas, SP).

⁵ Composição: 45,4% Fosfato Bicálcico, 29,7% Sulfato de Potássio, 17,4% Cloreto de Sódio, 7,5% Sulfato de Magnésio. Nuclear (Diadema, SP).

⁶ Análises realizadas em duplicatas, com exceção da análise de umidade, realizada em triplicata.

⁷ Energia metabolizável: estimada pelos valores fisiológicos padrão: 5,64 kcal/kg para proteínas, 4,11 para carboidratos digestíveis e 9,44 kcal/g para lipídios (NRC, 1993).

Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância unifatorial (one-way - ANOVA) e, quando houve diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Duncan, sempre adotando-se o nível de significância de 5%. Para estimar a exigência protéica, a partir dos dados de ganho em peso, foi utilizada a análise de regressão linear e regressão polinomial para a taxa de retenção de proteína.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros indicadores de desempenho dos alevinos de dourado alimentados com as diferentes concentrações de proteína bruta na dieta estão resumidos na Tabela 3. Não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) na taxa de sobrevivência entre os tratamentos, cuja média foi $91,4 \pm 10,0\%$. Esta sobrevivência é semelhante à observada em outros estudos com espécies de hábito alimentar carnívoro: para alevinos (6,3 g) de robalo japonês (*Lateolabrax japonicus*) a taxa de sobrevivência média foi $94,1 \pm 1,2\%$ (Al et al., 2004), enquanto que, para alevinos (1,2 g) de truta marrom (*Salmo trutta*), foi de $97,8 \pm 0,2\%$ (ARZEL et al., 1995). Em ensaio alimentar com alevinos (5,68 g) de dourado, no mesmo sistema de recirculação utilizado no presente experimento, Machado (2004) relata uma sobrevivência média de $94,1 \pm 5,6\%$.

No presente estudo, a principal causa de mortalidade foi a tentativa de canibalismo entre os indivíduos, constatada pela presença de lesões corporais nos peixes mortos. Weingartner & Zaniboni-Filho (2005) recomendam a estocagem de alevinos de dourado em lotes de tamanho homogêneo, visto que o canibalismo é intenso nessa fase. Comportamento semelhante foi relatado por Sá & Fracalossi (2000) para alevinos (8,4 g) de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) e Tibaldi et al. (1996) para juvenis (17,0 g) de “dentex” (*Dentex dentex*).

Tabela 3. Desempenho dos alevinos de dourado alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de proteína bruta durante 29 dias^{1,2}.

Parâmetros	Concentração de proteína bruta na dieta (%)					
	32,29	36,96	40,32	47,27	51,85	57,63
Taxa de crescimento específico, %	2,36 ^d	2,36 ^d	3,30 ^c	3,95 ^{bc}	4,21 ^{ab}	4,83 ^a
Conversão alimentar	1,93 ^b	1,83 ^b	1,26 ^a	1,13 ^a	1,05 ^a	1,03 ^a
Eficiência alimentar	0,53 ^b	0,56 ^b	0,82 ^a	0,89 ^a	0,96 ^a	0,98 ^a
Taxa de sobrevivência, %	84,33 ^a	93,33 ^a	84,33 ^a	97,67 ^a	91,00 ^a	97,67 ^a

¹ Média de três repetições. Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem significativamente ($P<0,05$).

² Peso inicial $0,75 \pm 0,01$ g.

O ganho em peso é o parâmetro mais utilizado para avaliação das exigências nutricionais em peixes, devido principalmente à dificuldade na precisa determinação do consumo alimentar em peixes. Os dados de consumo são utilizados para o cálculo da conversão e eficiência alimentar, bem como para a taxa de retenção protéica (COWEY, 1992). O ganho em peso diário de alevinos de dourado foi influenciado significativamente ($P<0,05$) pela concentração protéica da dieta, aumentando com a elevação dos níveis de proteína bruta nas dietas. Os menores ganhos (0,027 g/peixe/dia) foram observados nos alevinos alimentados com as dietas que continham 32,29% e 36,96% PB. Um acréscimo na concentração protéica para 40,32% PB resultou em aumento no ganho em peso (0,047 g/peixe/dia), entretanto, esta diferença não foi detectada estatisticamente ($P>0,05$). A dieta com 47,27% PB resultou em um aumento significativo ($P<0,05$) no ganho em peso diário (0,054 g/peixe/dia), em relação as dietas com 32,29% e 36,96% PB. A dieta com 51,85% PB mostrou uma dependência na melhora do ganho em peso diário, 0,065 e o melhor resultado neste parâmetro ($P<0,05$), 0,078 g/peixe/dia, foi verificado na dieta contendo 57,63%PB.

Estudos para estimativa da exigência em um nutriente essencial na dieta pela medida de uma resposta, como o ganho em peso, em relação a acréscimos gradativos na dieta do nutriente em questão, podem ser analisados usando vários métodos estatísticos (Shearer, 2000). A estimativa da exigência nutricional pode ser considerada como a concentração mínima do nutriente na dieta que produz a máxima resposta (Lovell, 1998). Sabe-se que o crescimento dos peixes pode ser afetado tanto por baixas como por elevadas concentrações de proteína na dieta (Chong et al., 2000). Vários estudos realizados com peixes relatam acréscimo no ganho em peso até uma determinada concentração de proteína na dieta, não sendo observado ganho adicional com o aumento da proteína dietética. Exemplos deste tipo de resposta são encontrados nos estudos para determinação da exigência protéica na dieta de alevinos (0,8 g) de barbus, *Barbodes altus* (Elangovan & Shim, 1997), alevinos (7,0 g) de bagre da malásia, *Mystus nemurus* (NG et al., 2001), alevinos (8,4 g) de piracanjuba (Sá & Fracalossi, 2002), alevinos (5,68 g) de dourado (Machado, 2004) e alevinos (1,52 g) de jundiá, *Rhamdia quelen* (Meyer & Fracalossi, 2004). Entretanto, no presente estudo, o ganho em peso não seguiu uma resposta exponencial. A análise do ganho em peso de alevinos de dourado pelo modelo de regressão linear revelou que as concentrações protéicas testadas foram insuficientes para estimar a máxima resposta (Figura 1), uma vez que a maior concentração protéica utilizada não apresentou redução ou estabilização no ganho em peso. Resultado semelhante foi relatado para juvenis de dourado por Borghetti, et al. (1990), bem como para alevinos de “rabbitfish”, *Siganus canaliculatus* (Yousif et al., 1996), adultos de linguado, *Paralichthys dentatus* (Daniels & Gallagher, 2000), juvenis de “black bass”, *Micropterus salmoides* (Tidwell et al., 1996) e alevinos de pirarucu, *Arapaima gigas* (Iltuassú et al., 2002).

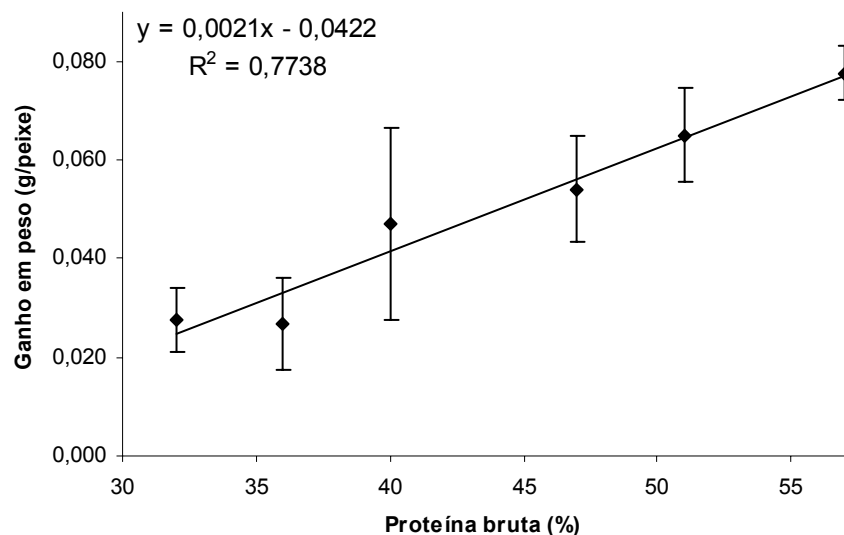


Figura 1. Regressão linear do ganho em peso de alevinos de dourado alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de proteína bruta na dieta por 29 dias.

De acordo com os resultados obtidos, recomenda-se que dietas para alevinos de dourado de 0,75 g a 3,01 g sejam confeccionadas com, no mínimo, 57% PB e 4.376 kcal EM/kg. Esta concentração protéica mínima na dieta está próxima àquela recomendada para alevinos de outras espécies carnívoras, como a truta marrom (1,2 g), o “dentex” (17,0 g), o robalo asiático (3,0 g) (*Lates*

calcarifer) e o robalo europeu (2,8 g) (*Dicentrarchus labrax*), cujas exigências protéicas foram, respectivamente, 53% (Arzel et al., 1995), 44,3 a 58,9%, dependendo da concentração de lipídios na dieta (Tibaldi et al., 1996), 55% (Cuzon & Fuchs, 1988) e 45 a 55% (Pérez et al., 1997). Por outro lado, a concentração protéica que permitiu o máximo ganho em peso para alevinos de dourado no presente estudo foi mais elevada que aquela estimada para juvenis (peso maior ou estágio de desenvolvimento mais adiantado) de outras espécies carnívoras, tais como a garoupa (*Epinephelus malabaricus*) (9 g), o “snakehead” (*Channa striata*) (12 g), o acará disco (*Symphysodon* spp.) (4,5 g) e o “black bass” (14,5 g), cujas exigências protéicas foram 44% (Shiau & Lan, 1996), 47,8% (Chen & Tsai, 1994), 40% (Samantaray & Mohanty, 1997), 44,9 a 50,1% (Chong et al., 2000) e 43,5% (Cyrino et al., 2000).

Além da espécie e hábito alimentar, diversos outros fatores podem influenciar a exigência protéica em peixes, tais como a qualidade da proteína, tamanho do peixe (idade) e a quantidade de energia na dieta (Tacon, 1989). Comparando o presente estudo com o realizado por Machado (2004), que estimou a exigência protéica de juvenis de dourado (5,68 g) como sendo aproximadamente 41% PB na concentração energética de 4.000 kcal EM/kg, evidencia-se uma exigência protéica mais elevada em estágios de desenvolvimento anteriores, já que o máximo ganho em peso observado no presente estudo ocorreu nos alevinos (0,75 g) alimentados com a máxima concentração protéica testada na dieta, que foi 57,63%. Vários estudos demonstraram a influência do tamanho dos peixes na exigência protéica. Ribeiro et al. (2001) estimou que a exigência protéica de alevinos (2,5 g) de truta arco-íris está entre 45 e 50%, caindo para 40% em juvenis (50 g) e diminuindo ainda mais, para 35%, em peixes acima de 50 g. Page & Andrews (1973) demonstraram que 25% de PB é uma concentração adequada para bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) de 114 a 500 g, mas a exigência protéica aumenta para 35% em indivíduos com 14 a 100 g. Esta maior exigência protéica em peixes de menor tamanho está relacionada ao maior crescimento e à maior eficiência em absorção deste nutriente nas fases iniciais de desenvolvimento (Fiogbé & Kestemont, 1995).

A taxa de crescimento específico seguiu a mesma tendência do ganho em peso, sendo influenciada significativamente ($P < 0,05$) pelo aumento da concentração protéica das dietas. Os alevinos de dourado apresentam rápido desenvolvimento inicial, o que é uma característica desejável para piscicultura (Weingartner & Zaniboni-Filho, 2005). Este rápido desenvolvimento foi claramente observado no presente estudo, onde a taxa de crescimento específico variou de 2,36 a 4,83%, sendo superior às observadas para alevinos (5-7 g) de “halibut” (*Hippoglossus hippoglossus*), de 0,87 a 1,04% (Aksnes et al., 1996), alevinos (2,78 g) de robalo europeu, de 1,73 a 2,05% (Pérez et al., 1997) e alevinos (0,34 g) de “zacco” (*Zacco barbata*), de 1,55 a 2,13% (Shyong et al., 1998). Na literatura consultada, valores maiores aos observados no presente estudo (5,26 a 6,37%) foram encontrados somente para alevinos (1,34 g) de robalo asiático (Catacutan & Coloso, 1995). Machado (2004) observou uma taxa de crescimento específico máxima de 2,19% para alevinos (5,68 g) de dourado. Este valor é praticamente a metade do máximo observado no presente estudo (4,83%), demonstrando que quanto menor o alevino de dourado, mais rápido é o seu crescimento específico e quão curto pode ser o período necessário para a alevinagem desta espécie.

A conversão alimentar e a eficiência alimentar melhoraram significativamente ($P < 0,05$) com o aumento da concentração de proteína bruta na dieta, até a concentração de 40,32%. Embora não significativamente ($P > 0,05$), estes parâmetros continuaram melhorando à medida que aumentou a concentração de proteína bruta nas dietas. O melhor valor de conversão alimentar obtido neste estudo (1,03) foi observado em alevinos alimentados com 57,63% PB, estando próximo dos valores de conversão encontrados para outras espécies carnívoras como alevinos de “cuneate drum” (*Nibea miichthioides*), “black bass”, robalo asiático e tucunaré (*Cichla* sp.), que apresentaram, respectivamente, valores médios de 0,92 (Wang et al., 2006), 0,96 a 1,10 (Cyrino et al., 2000), 1,01 (Catacutan & Coloso, 1995) e 1,35 (Sampaio et al., 2000). A variação na conversão alimentar observada no presente estudo de 1,03 a 1,93, foi similar à encontrada por Machado (2004) para alevinos de dourado, que foi de 1,37 a 1,75. A boa conversão alimentar apresentada por alevinos de dourado, mesmo quando concentrações protéicas inadequadas são utilizadas na dieta, reafirma a sua potencialidade para a criação intensiva.

A eficiência alimentar apresentou a mesma tendência da conversão alimentar, sendo influenciada diretamente ($P < 0,05$) pelo aumento na concentração protéica da dieta até a concentração de 36,96% PB. Os alevinos de dourado alimentados com a dieta contendo 57,63% PB apresentaram uma tendência na melhora da eficiência alimentar (0,98), o que significa que os peixes alimentados com esta dieta tiveram maior ganho em peso por grama de dieta consumida. Em estudos onde há variação na concentração protéica da dieta, geralmente observa-se que as dietas que promovem o maior ganho em peso também proporcionam a melhor eficiência alimentar (Khan et al., 1993; Peres & Oliva-Teles, 1999 e Machado, 2004). Isto provavelmente ocorre porque o ganho em peso está diretamente relacionado à concentração protéica da dieta e porque os peixes utilizam este nutriente como fonte energética preferencial em suas rotas metabólicas (Hepher, 1988).

A taxa de retenção protéica, que indica quanto da proteína ingerida via dieta foi convertida em proteína corporal, não foi significativamente diferente ($P > 0,05$) para as diferentes concentrações protéicas testadas, assim como verificado por Sá & Fracalossi (2002). Os valores da taxa de retenção protéica encontrados neste trabalho (25,25 a 35,94%) estão próximos aos encontrados em outros estudos para espécies carnívoras. Ai et al. (2004) relataram valores de retenção protéica de 29,20 a 38,30% para o robalo japonês. Para alevinos de robalo asiático, a taxa de retenção protéica foi de 24,68 a 39,64% (Catacutan & Coloso, 1995) e, para o “cuneate drum”, a retenção protéica variou de 27,84 a 36,32 (Wang et al., 2006). Nestes estudos, as máximas taxas de retenção protéica foram observadas nas concentrações definidas como a exigência em proteína.

No presente estudo, a melhor utilização da proteína consumida foi obtida com a dieta contendo 40,32% PB; resultado semelhante ao encontrado por Machado (2004) para alevinos da mesma espécie, onde a melhor taxa de retenção protéica foi observada nos peixes alimentados com a dieta contendo 41,18% PB, concentração próxima àquela definida como a exigência (40,97% PB). Contudo, no presente trabalho, através da análise de regressão, observou-se uma redução na retenção de proteína em alevinos alimentados com dietas contendo concentrações protéicas acima de 45,87% (Figura 2). Segundo Sampaio et al. (2000), a utilização da proteína alcança um valor máximo perto do nível mínimo de proteína exigido, sendo que, em níveis protéicos além do exigido, a

utilização da proteína diminui. Uma possível explicação para este fenômeno é a diminuição da energia disponível para a realização da síntese protéica, devido a elevação dos gastos energéticos associados à desaminação dos aminoácidos contidos na proteína em excesso (Jauncey, 1982).

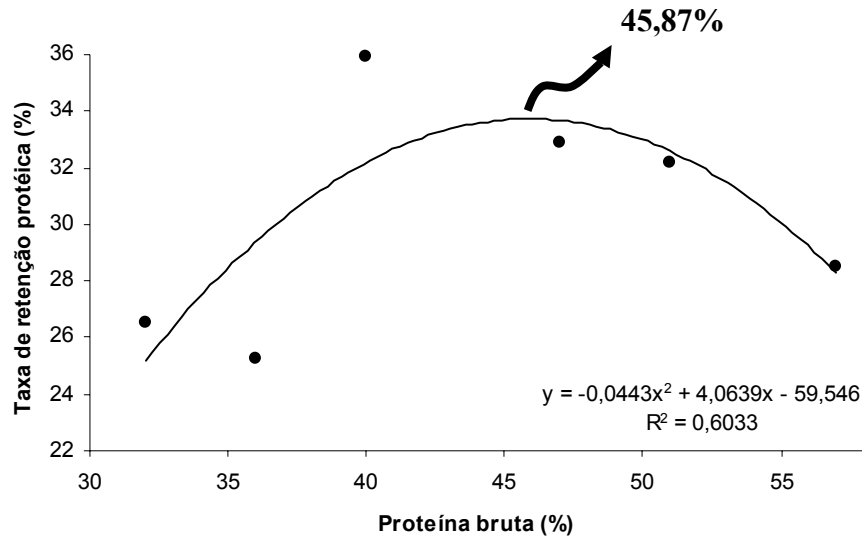


Figura 2. Regressão polinomial da taxa de retenção de proteína dos alevinos de dourados alimentados com diferentes concentrações de proteína bruta por 29 dias.

O efeito das concentrações de proteína da dieta sobre a composição corporal dos alevinos de dourado está sumarizado na Tabela 4. De uma maneira geral, a composição corporal dos peixes não foi influenciada significativamente ($P > 0,05$) pelos diferentes níveis de proteína da dieta, com exceção do extrato etéreo. Contudo, foi possível observar uma tendência no incremento da proteína corporal à medida que os peixes foram alimentados com dietas contendo mais proteína bruta. Resultados semelhantes foram relatados por Nematipour et al. (1992), Catacutan & Coloso (1995) e Meyer & Fracalossi (2004) para alevinos de "hybrid striped bass" (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*), robalo asiático e jundiá, respectivamente. Porém, o mesmo não foi observado para alevinos de dourado por Machado (2004).

Tabela 4. Composição corporal final dos alevinos de dourado alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de proteína bruta durante 29 dias^{1,2}.

Proteína bruta nas dietas experimentais	Proteína Bruta	Extrato Etéreo	Umidade	Cinzas
	%			
32,29	15,29	2,59 ^{ab}	79,06	3,43
36,96	15,29	2,06 ^b	79,03	3,28
40,32	16,21	2,43 ^{ab}	78,11	3,39
47,27	16,51	2,61 ^{ab}	77,28	2,95
51,85	16,16	2,37 ^{ab}	78,08	2,69
57,63	16,07	3,32 ^a	77,27	2,74

¹ Média de 3 repetições, valores expresso na matéria úmida.

² Composição corporal inicial (matéria úmida): proteína bruta 14,50%, extrato etéreo 2,80%, umidade 79,32% e cinzas 2,87%.

A quantidade de gordura corporal nos alevinos de dourado (2,06 a 3,32%), encontra-se abaixo dos valores encontrados para outras espécies carnívoras (Shiau & Lan, 1996; Sampaio et al., 2000; Cyrino et al., 2000; Wang et al., 2006). Este fato provavelmente se deve ao pequeno tamanho inicial dos peixes (0,75 g), aliado ao curto período experimental (29 dias). Entretanto, ao contrário do observado por Sá & Fracalossi (2002), Machado (2004) e Arzel et al. (1995), ainda que não diferente estatisticamente, a maior quantidade de gordura corporal foi verificada nos peixes alimentados com a dieta contendo a maior concentração protéica. Este resultado sugere que a relação energia/proteína desta dieta (5,81) seja inadequada para alevinos de dourado, já que, apesar destes terem apresentado o maior ganho em peso, eles também apresentaram a pior taxa de retenção protéica, indicando que seu ganho em peso se deu na forma de acúmulo de gordura corporal e não de proteína. É conhecido que peixes são eficientes na conversão da proteína ingerida em energia, a qual pode ser armazenada na forma de gordura corporal (Lovell, 1998; Khan et al., 1993; Sampaio et al., 2000). Contudo, este processo é indesejável, já que a proteína é o nutriente mais caro da dieta. A energia necessária ao crescimento dos peixes provém do catabolismo dos macronutrientes: proteína, lipídio e carboidrato (Lovell, 1998; Wang et al., 2006). A energia não protéica é abundante em ingredientes ricos em carboidratos e lipídios, os quais têm um custo relativamente reduzido, quando comparado ao de ingredientes ricos em proteína. Desta forma, a elevação da concentração energética da dieta pela introdução de ingredientes não protéicos, resultará na redução da concentração protéica exigida, como observado por Tibaldi et al. (1996), Samantaray & Mohanty (1997), Jantrarotai et al. (1998) e Meyer & Fracalossi (2004). Quando uma dieta contém a concentração energética adequada, oriunda de nutrientes não protéicos, somente uma pequena parte da proteína será utilizada como fonte de energia (Cowey & Sargent, 1979) e não como fonte de aminoácidos para a síntese protéica (Tacon & Cowey, 1985), reduzindo o custo da ração. Como a exigência protéica dos peixes está intimamente relacionada à concentração de energia na dieta, a determinação da exigência protéica de alevinos de dourado deve ser realizada em diferentes concentrações energéticas, visando maximizar o desempenho, com o menor custo de produção.

CONCLUSÃO

Para alevinos de dourado, o maior ganho em peso e a melhor taxa de crescimento específico, bem como a melhor conversão alimentar foram observados com a concentração de 57,63% PB na dieta (4.376 kcal EM/kg). Entretanto, a relação energia: proteína desta dieta (5,81) não propiciou a melhor taxa de retenção protéica e tendeu a produzir maior acúmulo de gordura corporal, sugerindo que em estudos futuros para a determinação da exigência protéica em alevinos desta espécie sejam incluídas diferentes concentrações energéticas e/ou relações energia: proteína nas dietas experimentais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- AI, Q.; MAI, K.; LI, H.; ZHANG, C.; ZHANG, L.; DUAN, Q.; TAN, B.; XU, W.; MA, H.; ZHANG, W.; LIUFU, Z. Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**. v.230, p.507-516, 2004.
- AKSNES, A.; HJERTNES, T.; OPSTVEDT, J. Effects of dietary protein level on growth and carcass composition in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Aquaculture**. v.145, p.225-233, 1996.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of analysis**. 17^a ed. Gaithersburg: Association of official analytical chemists. 1999, 1141p.
- ARZEL, J.; METAILLER, R.; KERLEGUER, C.; LEDELLIOU, H.; GUILLAUME, J. The protein requirement of brown trout (*Salmo trutta*) fry. **Aquaculture**. v.130, p.67-78, 1995.
- BARBIERI, G.; SALLES, F. A.; CESTAROLLI, M.A. Influência de fatores abióticos na reprodução do dourado, *Salminus maxillosus* e do curimatá, *Prochilodus lineatus* do rio Mogi Guaçu (Cachoeira de Emas, Pirassununga/SP). **Acta Limnologica Brasiliensis**. v.12, n.2, p.85-91, 2000.
- BARBOSA, N. D. C.; ZANIBONI-FILHO, E. Curva de crescimento e idade de primeira maturação gonadal do dourado (*Salminus maxillosus* VALENCIENNES, 1849) criado em cativeiro. In: ENCONTRO ANUAL DE AQUICULTURA DA ASSOCIAÇÃO MINEIRA DE AQUICULTURA, 8., Belo Horizonte, 1990. **Resumos...** Belo Horizonte: 1990. p.18.
- BORGHETTI, J. R.; CANZI, C.; FERNANDEZ, D. R. A influência de diferentes níveis de proteína no crescimento do dourado (*Salminus maxillosus*). **Arq. Biol. Tecnol.** v.33, n.3, p.683-689, 1990.
- BUTTLE, L. G.; UGLOW, R. F.; COWX, I. G. Effect of dietary protein on the nitrogen excretion and growth of the African catfish, *Clarias gariepinus*. **Aquatic Living Resource**. v.8, p.407-414, 1995.
- CATACUTAN, M. R.; COLOSO, R. M. Effects of dietary protein to energy ratio on growth, survival, and body composition of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*. **Aquaculture**. v.131, p.125-133, 1995.
- CHEN, H. Y.; TSAI, J. C. optimal dietary protein level for the growth of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed semipurified diets. **Aquaculture**. v.119, p.265-271, 1994.
- CHONG, A.S.C.; HASHIM, R.; ALI, A.B. Dietary protein requirements for discus (*Symphysodon spp.*). **Aquaculture Nutrition**. v.6, p.275-278, 2000.
- COWEY, C. B. Nutrition: estimating requirements of rainbow trout. **Aquaculture**. v.100, p.177-189, 1992.

COWEY, C. B.; SARGENT, J. R. Nutrition. In: HOAR, W. S; RANDALL, D. J.; BRETT, J. R. (Eds) **Fish physiology**. London: Academic Press, 1979. v.8. p.01-69, 1979.

CUZON, G.; FUCHS, J. Preliminary nutritional studies of seabass *Lates calcarifer* (Bloch) protein and lipid requirement: In: PROGRAM AND ABSTRACTS, 19^A ANNUAL CONFERENCE AND EXPOSITION WORLD AQUACULTURE SOCIETY, 1., Hawaii, 1983. **Proceedings...** Hawaii, 1988. p.15-16.

CYRINO, J. E. O. **Condicionamento alimentar e exigências nutricionais de espécies carnívoras: Desenvolvimento de uma linha de pesquisa**. Piracicaba: USP/ESALQ, 2000. 200p. (Livro-Docência).

CYRINO, J. E. O.; PORTZ, R.; MARTINO, R. C. Retenção de proteína e energia em juvenis de black bass, *Micropterus salmoides*. **Scientia Agrícola**. v.57, p.609-616, 2000.

DANIELS, H. V.; GALLAGHER, M. L. North American flounders. In: WEBSTER, C. D.; LIM, C. **Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture**. CABI Publishing, 2002. p.121-130.

ELANGOVA, A.; SHIM, K. F. Growth response of juvenile *Barbodes altus* fed isocaloric diets with variable protein levels. **Aquaculture**. v.158, p.321-329. 1997.

FIOGBÉ, E. D.; KESTEMONT, P. An assessment of the protein and amino acid requirement in goldfish (*Carassius auratus*) larvae. **Journal Applied Ichthyology**. v. 11, p. 282-289, 1995.

FROESE, R.; D. PAULY. Editors. **FishBase**. Disponível em: <<http://www.fishbase.org>>. Acesso em: 01 de abril 2006.

GAZZOLA, A. C. Efeito da amônia e do oxigênio dissolvido na sobrevivência de alevinos de dourado *Salminus brasiliensis*. Florianópolis: UFSC/CCA, 2003. 47f. (Dissertação-Mestrado).

GOLTERMAN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. **Methods for chemical analysis of freshwater**. Oxford: Black Well Scientific publications, 1978. 213p.

HEPHER, B. **Nutrition of pond fishes**. Grain Britain: Cambridge University Press, 1988. 388p.

ITUASSÚ, D. R.; GANDRA, A.L.; NASCIMENTO, K. R. Pesquisas desenvolvidas no INPA com o pirarucu, *Arapaima gigas*, na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. In: CONGRESO VENEZOLANO DE AQUICULTURA, 6., San Cristóbal, 2002. **Anais...** San Cristóbal: Universidad del Estado del Tachira, 2002, p.197-201.

JANTRAROTAI, W.; SITASIT, P.; JANTRAROTAI, P. Protein and energy levels for maximum growth, diet utilization, yield of edible flesh and protein sparing of hybrid clarias catfish (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus*). **Journal World Aquaculture Society**. v.29, p.281-289,1998.

- JAUNCEY, K. The effect of varying dietary protein level on the growth, food conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapia (*Sarotherodon mossambicus*). **Aquaculture**. v.27, p.43-54, 1982.
- KHAN, M. S.; ANG, K. J.; AMBAK, M. A.; SAAD, C. R. Optimum dietary protein requirement of Malaysian freshwater catfish, *Mystus nemurus*. **Aquaculture**. v.112, p.227-235, 1993.
- KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: GRASSHOFF, K. (Ed). **Methods of sea water analysis**. Verlag: Chemie Weenheim, 1976. p.117-181.
- LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. 2^a ed. Boston: Kluwer Academic, 1998. 276p.
- MACHADO, C. **Aspectos reprodutivos do dourado (*Salminus brasiliensis* CUVIER, 1816) (Pisces, Characidae) na região do Alto Rio Uruguai, Brasil**. Florianópolis: UFSC/CCA, 2003. 52p. (Dissertação-Mestrado).
- MACHADO, C.C. **Exigência protéica de alevinos de dourado, *Salminus brasiliensis***. Florianópolis: UFSC/CCA, 2004. 49p. (Dissertação-Mestrado).
- MACHADO, J. H. **Desempenho produtivo de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), arraçoados com diferentes níveis de proteína e energia**. Ilha Solteira: Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira/Universidade do Estado de São Paulo, 1999. 43p. (Dissertação-Mestrado).
- MEYER, G.; FRACALLOSSI, D. M. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. **Aquaculture**. v.240, p.331-343, 2004.
- MORAIS FILHO, M. B.; SCHUBART, O. **Contribuição ao estudo do dourado (*Salminus maxillosus* Val.) do Rio Mogi Guassu (Pisces, Characidae)**. São Paulo: Ministério da Agricultura/Divisão de caça e pesca, 1955. 144p.
- NEMATIPOUR, G. R.; BROWN, M. L.; GATLIN, D. M. Effects of dietary energy:protein ratio on growth characteristics and body composition of hybrid striped bass, *Morone chrysops* x *M. saxatilis*. **Aquaculture**. v.107, p.359-368,1992.
- NG, W. K.; SOON, S. C.; HASHIM, R. The dietary requirement of bagrid catfish, *Mystus nemurus* (Cuvier & Valenciennes), determined using semipurified diets of varying protein level. **Aquaculture Nutrition**. v.7, p.45-51, 2001.
- NRC (National Research Council). **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academic Press, 1993. 114 p.

PAGE, J. W.; ANDREWS, J. W. Interactions of dietary levels of protein and energy on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Journal of nutrition**. v.103, n.1, p.1339-1346, 1973.

PERES, H.; OLIVA-TELES, A. Influence of temperature and protein utilization in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**. v.170, p.337-348, 1999.

PÉREZ, L.; GONZALEZ, H.; JOVER, M., FERNÁNDEZ-CARMONA, J. Growth of european sea bass fingerlings (*Dicentrarchus labrax*) fed extruded diets containing varying levels of protein, lipid and carbohydrate. 1997. **Aquaculture**. v.156, p.183-193, 1997.

RIBEIRO, K. G.; PEREIRA O. G.; VALADARES, S.D. Characterization of the protein and the carbohydrate fractions, and the respective degradation rates of Tifton 85 bermudagrass hays at different regrowth ages. **Revista Brasileira de Zootécnia**. v. 30, n.2, p.589-595, 2001.

SÁ, M. V. C.; FRACALOSSO, D. M. Densidade de estocagem e presença de abrigos controlam canibalismo em alevinos de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, estocados em tanques. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA. 2000, Florianópolis, 2000. **Anais...** Florianópolis: SIMBRAQ 2000, não paginado, CD-ROM.

SÁ, M. V. C.; FRACALOSSO, D. M. Exigência protéica e relação energia/proteína para alevinos de piracanjuba (*Brycon orbignianus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.31, n.1, p.1-10, 2002.

SAMANTARAY, K.; MOHANTY, S. S. Interaction of dietary level of protein and energy on fingerling snakehead, *Channa striata*. **Aquaculture**. v.156, p.241-249, 1997.

SAMPAIO, A. M. B. M.; KUBITZA, F.; CYRINO, J. E. P. Relação energia: Proteína na nutrição do tucunaré. **Scientia Agricola**. v. 57, n.2, p.213-219, 2000.

SHEARER, K. D. Experimental desing, statistical analysis and modeling of dietary nutrient requirement studies for fish: a critical reiew. **Aquaculture nutrition**. v.6, p.91-102, 2000.

SHIAU, S. Y.; LAN, C. W. Optimum dietary protein level and protein to energy ratio for growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*). 1996. **Aquaculture**. v.145, p.259-266, 1996.

SHYONG, W. J.; HUANG, C. H.; CHEN, H. C. Effects of dietary protein concentration on growth and muscle composition of juvenile *Zacco barbata*. **Aquaculture**. v.167, p.35-42, 1998.

STREIT, A. A. R. Efeito da exposição crônica à amônia (NH₃) no crescimento e nas aminotransferases de juvenis de dourado (*Salminus brasiliensis*). 2006. 24f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

TACON, A. G. J.; COWEY, C. B. Protein and amino acid requirements. In: TYTLER, P.; CALOW, P. (Ed.) **Fish Energetics**. London-Sydney: New Perspectives, 1985. p.155-183.

TIBALDI, E.; BERALDO, P.; VOLPELLI, L.A.; PINOSA, M., Growth response of juvenile dentex (*Dentex dentex* L.) to varying protein level and protein to lipid ratio in practical diets. **Aquaculture**. v.139, p.91-99, 1996.

TIDWELL, J. H.; WEBSTER, C. D.; COYLE, S. D. Effects of dietary protein level on second year growth and water quality for largemouth bass (*Micropterus salmoides*) raised in ponds. **Aquaculture**. v.145, p.213-223, 1996.

WANG, Y.; GUO, J.; LI, K.; BUREAU, D. P. Effects of dietary protein and energy level on growth, feed utilization and body composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*) **Aquaculture**. v.252, p.421-428, 2006.

WEINGARTNER, M.; ZANIBONI-FILHO, E. Dourado. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Org). **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2005. p.257-286.

YOUSIF, O. M.; OSMAR, M. F.; ANAWHI, A. A. Optimum protein-to-energy ratio for two size groups of rabbitfish, *Siganus canaliculatus*. **Aquaculture Nutrition**. v.2, n.4, p.229-233, 1996.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo teve como objetivo a determinação da exigência protéica de alevinos de dourado na sua fase inicial de desenvolvimento. A seguir, são apresentadas algumas considerações acerca do manejo experimental, bem como sugestões para futuros estudos que visem maximizar as técnicas de criação da espécie.

1. Foi realizado um teste piloto para a determinação da densidade de estocagem dos alevinos por tanque, antes do início do ensaio alimentar. Esta determinação é de fundamental importância para reduzir a competição por alimento e o canibalismo, comum entre alevinos desta espécie. Os alevinos foram estocados em várias densidades (15, 20 e 25 alevinos/tanque) e seu comportamento observado por 1 dia: a menor densidade que propiciou o comportamento de formação de cardume foi a adotada para o ensaio alimentar, no caso deste experimento foi a de 15 alevinos/tanque de 120 L.
2. A utilização de telas para cobrir dos tanques é fundamental para evitar perda de alevinos, já que estes saltam com grande facilidade para fora das unidades experimentais. Também por este motivo, recomenda-se diminuir o nível de água, quando houver necessidade de remoção dos alevinos, como é o caso na realização das biometrias.
3. Para minimizar o canibalismo entre os alevinos, sugere-se o uso de estruturas dentro das unidades experimentais, as quais servirão de abrigo aos peixes menores, conforme observado por SÁ & FRACALLOSSI (2000). Estudos futuros sobre frequência alimentar e intensidade luminosa deverão facilitar o manejo da espécie, já que o canibalismo é mais intenso no período noturno.
4. De acordo com os resultados observados neste trabalho, recomenda-se a utilização de concentrações protéicas acima de 57% de PB, na concentração energética de 4.376 kcal EM/kg, em estudos que visem a determinação da exigência protéica para alevinos nesta fase de desenvolvimento (0,75 a 3,18 g), já que, no presente estudo, o máximo ganho em peso foi observado nesta concentração protéica, impedindo a estimativa da exigência protéica.
5. Com o objetivo de encontrar a relação proteína/energia que maximizará a utilização da proteína e reduzirá os custos da dieta, recomenda-se que os próximos estudos para determinar a exigência protéica do dourado incluam, pelo menos, dois níveis energéticos. No presente estudo, a concentração energética utilizada (4.000 a 4.376 kcal/kg) foi provavelmente insuficiente para promover uma boa deposição protéica nos alevinos que receberam a dieta com maior concentração protéica (57,63%).
6. Determinar a influência da temperatura na utilização da proteína e energia pelos alevinos de dourado.
7. Buscando também a redução de custos de produção, recomenda-se a realização de estudos que avaliem os melhores níveis de inclusão de fontes energéticas de origem não protéica na dieta, ou seja, qual a melhor relação carboidrato:lipídio para o dourado.

8. Futuramente, estudos sobre a exigência protéica e relação proteína:energia devem ser desenvolvidos com dietas práticas, em viveiros de terra, incluindo a avaliação da digestibilidade dos aminoácidos nos diferentes ingredientes. Estudos desta natureza são de grande relevância para a consolidação da criação desta espécie.

O anexo I exibe fotografias da espécie estudada e do sistema de recirculação de água utilizado no ensaio alimentar.

ANEXO I



Figura 1: Alevino de dourado, provavelmente morto após saltar de um dos tanques experimentais



Figura 2: Arraçoamento dos alevinos de dourado nas unidades experimentais.



Figura 3: Alevino de dourado com sinais de lesões corporais.



Figura 4: Alevinos de dourado submetidos a um banho profilático em uma solução de 50 mg/l de oxitetraciclina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

- AI, Q.; MAI, K.; LI, H.; ZHANG, C.; ZHANG, L.; DUAN, Q.; TAN, B.; XU, W.; MA, H.; ZHANG, W.; LIUFU, Z. Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**. v.230, p. 507-516, 2004.
- ARZEL, J.; METAILLER, R.; KERLEGUER, C.; LEDELLIOU, H., Guillaume, J. The protein requirement of brown trout (*Salmo trutta*) fry. **Aquaculture**. v.130, p.67-78, 1995.
- BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ-NETO, J. **Criação de jundiá**. 1ª ed. Santa Maria: UFSM, 2004. 232p.
- BORBA, M. R.; FRACALLOSSI, D. M.; PEZZATO, L. E.; MENOYO, D.; BAUTISTA, J.M. growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. **Aquatic Living Resources**. v.16, p.362-369, 2003.
- BORBA, M. R.; FRACALLOSSI, D. M.; PEZZATO, L. E. Dietary energy requirement of piracanjuba fingerlings, *Brycon orbignyanus*, and relative utilization of dietary carbohydrate and lipid. **Aquaculture Nutrition**. v.12, p.183-191, 2006.
- BORGHETTI, J. R.; CANZI, C.; FERNANDEZ, D. R. A influência de diferentes níveis de proteína no crescimento do dourado (*Salminus maxillosus*). **Arq. Biol. Tecnol.** v.33, n.3, p.683-689, 1990.
- CATACUTAN, M. R.; COLOSO, R. M. Effects of dietary protein to energy ratio on growth, survival, and body composition of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*. **Aquaculture**. v.131, p.125-133, 1995.
- CAVALHEIRO, J. M.; PEREIRA, J. A. Efeito de diferentes níveis de proteína e energia em dietas no crescimento do robalo, *Centropomus parallelus* (Poey, 1860) em água doce. In: Simpósio brasileiro de aqüicultura, 10., 1998, Recife. **Anais...** Recife: ABRAq, 1998. p.35-39.
- CHO, C. Y. Feeding systems for rainbow-trout and other salmonids with reference to current estimates of energy and protein-requirement. **Aquaculture**. v. 1, p.107-123, 1992
- CHONG, A.S.C.; HASHIM, R.; ALI, A.B. Dietary protein requirements for discus (*Symphysodon spp.*). **Aquaculture Nutrition**. v.6, p.275-278, 2000.
- CYRINO, J. E. O. **Condicionamento alimentar e exigências nutricionais de espécies carnívoras: Desenvolvimento de uma linha de pesquisa**. 2000. 200f.. Livre-Docência - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

DABROWSKI, K. Protein requirements of grass carp fry *Ctenopharygodon idella*. **Aquaculture**. v.12, p.63-73, 1997.

DANIELS, H. V.; GALLAGHER, M. L. North Americans flounders. In: Webster, C. D.; Lim, C. **Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture**. CABI Publishing, 2002. p.121-130.

ELANGOVAN, A.; SHIM, K. F. Growth response of juvenile *Barbodes altus* fed isocaloric diets with variable protein levels. **Aquaculture**. v.158, p.321-329, 1997.

FERNANDES, J. B. K.; CARNEIRO, D. J.; SAKOMURA, N. K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.29, n.3, p.646-653, 2000.

FIOGBÉ, E. D.; KESTEMONT, P. An assessment of the protein and amino acid requirement in goldfish (*Carassius auratus*) larvae. **Journal Applied Ichthyology**. v.11, p.282-289, 1995.

FRACALOSSO, D. M.; ZANIBONI-FILHO, E.; MEURER, S. No rastro das espécies nativas. **Panorama da Aqüicultura**. v.12, n.74, p.43-49, 2002.

FROESE, R.; D. PAULY. Editors. **FishBase**. Disponível em: <<http://www.fishbase.org>>. Acesso em: 01 de abril 2006.

FURUYA, W. M. Nutrição de peixes. In: Zimmermann, S. (Orgs). **Fundamentos da Moderna Aqüicultura**. Canoas: ULBRA, 2001. 200p.

ITUASSÚ, D. R.; GANDRA, A.L.; NASCIMENTO, K. R. Pesquisas desenvolvidas no INPA com o pirarucu, *Arapaima gigas*, na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. In: CONGRESO VENEZOLANO DE Aqüicultura, 6., 2002, San Cristóbal. **Anais...** San Cristóbal: Universidad del Estado del Tachira, 2002. p.197-201.

JAUNCEY, K. The effect of varying dietary protein level on the growth, food conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapia (*Sarotherodon mossambicus*). **Aquaculture**. v.27, p.43-54, 1982.

KHAN, M. S.; ANG, K. J.; AMBAK, M. A.; SAAD, C. R. Optimum dietary protein requirement of Malaysian freshwater catfish, *Mystus nemurus*. **Aquaculture**. v.112, p.227-235, 1993.

KUBITZA, F. Preparo de rações e estratégias de alimentação no cultivo intensivo de peixes carnívoros. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE NUTRIÇÃO DE PEIXES E CRUSTÁCEOS, 1995, Campos do Jordão. **Resumos...**Campos do Jordão: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1995. p.53-68.

LOCHMANN, R.T.; PHILLIPS, H. Dietary protein requirement of juvenile golden shiners (*Notemigonus crysoleucas*) and goldfish (*Carassius auratus*) in aquaria. **Aquaculture**, v.128, p.227-285, 1994.

LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. 2ª ed. Boston: Kluwer Academic, 1998. 276p.

LUZ, R. K.; FERREIRA, A. A.; REYNALTE-TATAJE, D. A.; MAFFEZZOLLI, G.; ZANIBONI-FILHO, E. Larvicultura de pós-larvas de dourado (*Salminus maxillosus*, Valenciennes, 1849), nos primeiros dias de vida. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 11., 2000. Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SIMBRAQ, 2000. não paginado, CD-ROM.

MACHADO, C. Aspectos reprodutivos do dourado, *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) (TELEOSTEI, CHARACIDAE) na região do Alto Rio Uruguai, Brasil. 2003. 52f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

MACHADO, C.C. **Exigência protéica de alevinos de dourado, *Salminus brasiliensis***. 2004. 49f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

MACHADO, J. H. **Desempenho produtivo de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), arraçoados com diferentes níveis de proteína e energia**. 1999. 43f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade do Estado de São Paulo, Ilha Solteira, 1999.

MARTINO, R. C.; CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L.; TRUGO, L. C. Effect of dietary lipid level on nutritional performance of the surubim, *Pseudoplatytoma coruscans*. **Aquaculture**. v.209, p.209-218, 2002.

MAZID, M. A.; TANAKA, Y.; KATAYMA, T. Growth response of *Tilapia zilli* fingerlings fed isocaloric diets with variable protein levels. **Aquaculture**. v.8, p.115–122, 1979.

MEYER, G.; FRACALOSSO, D. M. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. **Aquaculture**. v.240, p.331-343, 2004.

MONTES-GIRAO, P. J.; FRACALOSSO, D. M.. Dietary lysine requirement as basis to estimate the essential dietary amino acid profile for jundia *Rhamdia quelen* has been accepted for publication in the **Journal of the World Aquaculture Society**, v.37, n.5, no prelo. 2006.

MORAIS FILHO, M. B.; SCHUBART, O. **Contribuição ao estudo do dourado (*Salminus maxillosus* Val.) do Rio Mogi Guassu (Pisces, Characidae)**. São Paulo: Ministério da Agricultura/Divisão de caça e pesca, 1955, 144p.

NG, W. K.; SOON, S. C.; HASHIM, R. The dietary requirement of bagrid catfish, *Mystus nemurus* (Cuvier & Valenciennes), determined using semipurified diets of varying protein level. **Aquaculture Nutrition**. v.7, p.45-51, 2001.

NRC (National Research Council). **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academic Press, 1993. 114p.

OLIVEIRA-FILHO, P. R. C.; FRACALLOSSI, D. M. Coeficiente de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de jundiá, *Rhamdia quelen*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, no prelo. 2006-4S.

PÉREZ, L.; GONZALEZ, H.; JOVER, M.; FERNÁNDEZ-CARMONA, J. Growth of european sea bass fingerlings (*Dicentrarchus labrax*) fed extruded diets containing varying levels of protein, lipid and carbohydrate. 1997. **Aquaculture**. v.156, p.183-193, 1997.

PINTO, M. L. G.; GUGLIELMONI, L. A. Observações sobre a reprodução induzida do dourado (*Salminus maxillosus* VALENCIENNES, 1849). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 4., 1986, Cuiabá. **Resumos...** Cuiabá: SIMBRAQ, 1986. p.89-98.

RIBEIRO, K. G.; PEREIRA O. G.; VALADARES, S.D. Characterization of the protein and the carbohydrate fractions, and the respective degradation rates of Tifton 85 bermudagrass hays at different regrowth ages. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 30, n.2, p.589-595, 2001.

RIBEIRO, D. F. O. **Alimentação de pós larvas de dourado *Salminus brasiliensis* (Pisces, Characidae) em viveiros de piscicultura**. 2005. 36f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SÁ, M. V. C.; FRACALLOSSI, D. M. Densidade de estocagem e presença de abrigos controlam canibalismo em alevinos de piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, estocados em tanques. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 2000, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: SIMBRAQ, 2000. não paginado, CD-ROM.

SÁ, M. V. C.; FRACALLOSSI, D. M. Exigência protéica e relação energia/proteína para alevinos de piracanjuba (*Brycon orbignianus*). **Revista brasileira de zootecnia**. v.31, n.1, p.1-10, 2002.

SALHI, M.; BESSONART, M.; CHEDIK, G.; BELLAGAMBA, M.; CARNEVIA, D. Growth, feed utilization and composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. **Aquaculture**. v.231, p.435–444, 2004.

SAMANTARAY, K.; MOHANTY, S. S. Interaction of dietary level of protein and energy on fingerling snakehead, *Channa striata*. **Aquaculture**. v.156, p.241-249, 1997.

SAMPAIO, A. M. B. M.; KUBITZA, F.; CYRINO, J. E. P. Relação energia: Proteína na nutrição do tucunaré. **Scientia Agrícola**. v. 57, n.2, p.213-219, 2000.

SIDDIQUI, A. Q.; HOWLADER, M. S.; ADAN, A. A. Effects of dietary protein levels on growth, feed conversion and protein utilization in fry young Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**. v.70, p.63-73, 1988.

TACON, A. G. J. **Nutricion alimentacion de peces y camarones cultivados**. Brasília: FAO, 1989.

TACON, A. G. J.; COWEY, C. B. Protein and amino acid requirements. In: TYTLER, P.; CALOW, P. (Ed.) **Fish Energetics**. London-Sydney: New Perspectives, 1985. p.155-183.

TIBALDI, E.; BERALDO, P.; VOLPELLI, L.A.; PINOSA, M., Growth response of juvenile dentex (*Dentex dentex* L.) to varying protein level and protein to lipid ratio in practical diets. **Aquaculture**. v.139, p.91-99, 1996.

TUCKER, J. W. **Marine fish culture**. Norwell, MA, USA: Kluwer Academic Publishing, 1998. 750p.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: Teoria e prática**. Maringá: Ed. Universidade Estadual de Maringá, 1996. 169p.

VEGA-ORELLANA, O. M.; FRACALLOSSI, D. M.; SUGAI, J. K. Dourado (*Salminus brasiliensis*) larviculture: Weaning and ontogenetic development of digestive proteinases. **Aquaculture**. v.252, p.484-493, 2006.

WEINGARTNER, M.; ZANIBONI-FILHO, E. Dourado. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Org). **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2005. p.257-286.

WILSON, R. P. Amino acids and proteins. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (Ed.) **Fish Nutrition**. San Diego: Academic press, 2002. 824p.

ZANIBONI-FILHO, E. Larvicultura de peixes. **Informe Agropecuário**. v.21, n.203, p.69-77,-8 2000.