

Larvicultura de *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae) con proteína vegetal y animal, suplementadas con plancton

Larviculture of *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae) with vegetal and animal proteins, supplemented with plankton

Germán Castañeda A,^{1,5*} M.Sc, Juan Esquivel G,² Ph.D, Betina Muelbert E,² Ph.D, Wálter Vásquez-Torres,^{3,5} Ph.D, Débora Machado F,⁴ Ph.D.

¹Acuicultura Aguas Continentales, IALL, Villavicencio, Meta, Colombia. ²Piscicultura Panamá, Paulo Lopes (SC), Brasil. ³Universidad de los Llanos, Instituto de Acuicultura (IALL), Villavicencio, Meta, Colombia. ⁴Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Aquicultura, (SC) Brasil. ⁵Universidad de los Llanos (IALL). Grupo de alimentación y nutrición de organismos acuáticos GRANAC, Instituto de Acuicultura, Villavicencio, Meta, Colombia.*Correspondencia: gerdavcas@gmail.com

Recibido: Marzo de 2010; Aceptado: Junio de 2011.

RESUMEN

Objetivo. Determinar el efecto de dietas con diferentes proporciones de fuentes proteicas animales y vegetales suplementadas con plancton sobre el crecimiento y sobrevivencia en larvas de *Rhamdia quelen*. **Materiales y métodos.** Fueron formuladas dos dietas experimentales, dieta-1 con 70% de proteína de origen vegetal (torta de soya) y dieta-2 con 70% de proteína proveniente de animales (corazón bovino y harina de pescado); se utilizaron cuatro protocolos de alimentación (cinco réplicas por tratamiento): dieta-1 + plancton filtrado en tamiz de 50-200 micras (T1), dieta-2 + plancton filtrado en tamiz de 50-200 micras (T2), dieta-1 (T3), dieta-2 (T4). Las larvas fueron manejadas a una densidad de 20 animales L-1 suministrando alimento hasta aparente saciedad diariamente a las 07:00, 11:00, 16:00 y 21:00 horas; la suplementación con plancton se realizó a las 11:00 y 21:00 horas. **Resultados.** Entre T1 y T2 no se observaron diferencias estadísticas ($p > 0.05$) en peso final (21.89 ± 15.17 mg vs 20.37 ± 10.37 mg), longitud total (13.41 ± 2.34 mm vs 13.39 ± 1.99 mm), factor de condición (K) (0.80 ± 0.13 vs 0.78 ± 0.13) y sobrevivencia ($46.6 \pm 2.68\%$ vs $36.0 \pm 7.41\%$); las diferencias entre T3 y T4 tampoco fueron significativas (3.35 ± 1.40 mg vs 2.98 ± 1.48 mg; 7.54 ± 0.91 mm vs 7.33 ± 0.96 mm; 0.75 ± 0.13 vs 0.71 ± 0.12 ; $33.6 \pm 9.07\%$ vs $24.8 \pm 6.76\%$, respectivamente); hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos suplementados con plancton y los alimentados solo con ración. **Conclusiones.** La suplementación con plancton fue más efectiva que el ofrecimiento solo de ración. La inclusión del 62.9% de torta de soya en la formulación (T1), aparentemente no afectó el crecimiento ni la sobrevivencia.

Palabras clave: Alimentos, dieta artificial, larvas, *Rhamdia quelen*, plancton (Fuentes: AIMS, CAB).

ABSTRACT

Objective. To determine the effect on larval growth and survival of *Rhamdia quelen* of diets containing different proportions of animal and plant protein supplemented with plankton. **Materials and methods.** Two experimental diets were formulated, Diet-1 with 70% vegetable protein (soybean meal) and diet-2 with 70% animal protein (beef heart and fish meal); four feeding treatments (T) were studied: T1) 70% vegetable protein + filtering plankton sieve of 50-200 microns, T2) 70% vegetable protein + filtering plankton sieve of 50-200 microns, T3) 70% vegetable protein, T4) 70% animal protein. Larvae were handled at a density of 20 animals L⁻¹ offering food daily to apparent satiation at 07:00, 11:00, 16:00 and 21:00 hours; supplementation with plankton was made at 11:00 and 21:00 hours. **Results.** There were no differences between T1 and T2 ($p > 0.05$) in final weight (21.89 ± 15.17 mg vs 20.37 ± 10.37 mg), total length (13.41 ± 2.34 mm vs 13.39 ± 1.99 mm), condition factor (K) (0.80 ± 0.13 vs 0.78 ± 0.13) and survival ($46.6 \pm 2.68\%$ vs $36.0 \pm 7.41\%$); between T3 and T4 the differences for these variables were not significant (3.35 ± 1.40 mg vs 2.98 ± 1.48 mg, 7.54 ± 0.91 mm vs 7.33 ± 0.96 mm, 0.75 ± 0.13 vs 0.71 ± 0.12 , $33.6 \pm 24.8 \pm 9.07\%$ vs 6.76% , respectively). In addition, significant differences were observed between the groups supplemented with plankton (T1 and T2) vs groups that received only vegetable or animal protein (T3 and T4) ($p < 0.05$). **Conclusions.** Plankton supplementation was more effective than offering vegetable or animal ration. The inclusion of 62.9% of soybean meal in the formulation (T1), apparently did not affect growth or survival.

Key words: Artificial diets, foods, larvae, plankton, *Rhamdia quelen* (Sources: AIMS, CAB).

INTRODUCCIÓN

El jundiá (*Rhamdia quelen*) es un silúrido (*Pimelodidae*) omnívoro, con amplia distribución geográfica, desde el sur de México hasta Argentina (1), soporta el invierno y tiene altas tasas de crecimiento en verano, acepta raciones formuladas y se reproduce fácil y eficientemente utilizando protocolos comunes de inducción hormonal; éstas características hacen que sea un buen candidato para la acuicultura en regiones subtropicales (2).

La intensificación de la producción de peces en el mundo ha requerido desarrollar dietas completas para la acuicultura. Tradicionalmente la harina de pescado ha sido la fuente proteica preferida debido a su balance de aminoácidos y palatabilidad. Sin embargo, el creciente aumento en el precio de éste insumo es un factor que restringe su inclusión en raciones para peces (3). En varias especies de peces se ha tratado de remplazar la proteína animal, aportada en su mayor proporción por harina de pescado, por fuentes diferentes altamente proteicas como bacterias (4),

levaduras (5), algas (6), zooplancton (7) y plantas (8). Entre estas diferentes fuentes alternativas de proteína, las materias primas de origen vegetal han sido las más estudiadas y actualmente las más usadas (9), inclusive, se han recomendado mezclas de proteínas vegetales para la sustitución completa de la harina de pescado en peces carnívoros (10).

La proteína es el nutriente que se encuentra en mayor proporción en el plancton, que es el principal alimento al iniciar la exotrofia (11), así mismo, en la etapa larval los componentes nutricionales que más se requieren para síntesis de tejidos y producción energética para mantenimiento y crecimiento, son los aminoácidos libres, péptidos y proteínas (12), sugiriendo que en esta etapa de desarrollo la principal actividad digestiva es la proteólisis. Adicionalmente, en esta fase de vida es donde el alimento afecta en mayor proporción la sobrevivencia, debido a que se genera la mayor tasa metabólica (12) y los órganos, especialmente los del

sistema digestivo, se encuentran en pleno desarrollo.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de la proporción proteína animal/proteína vegetal en dos dietas artificiales, con y sin suplementación de plancton silvestre, sobre el desempeño productivo de larvas de jundia (*Rhamdia quelen*) al inicio de su alimentación exógena.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio. Este trabajo se realizó en la granja experimental "Piscicultura Panamá", localizada en el Municipio de Paulo Lopes, Estado de Santa Catarina (SC), Brasil (57° 57' 59.6" S; 48° 45' 45.9" W; 63 m).

Material biológico y alimentación. Fueron utilizadas 2000 larvas obtenidas por reproducción inducida con EPC (13), de 80 horas post-eclosión (HPE) con longitud total de 5.15 ± 0.3 mm y peso de 0.99 ± 0.18 mg. (media \pm STD).

Se elaboraron dos dietas formuladas con los ingredientes que se registran en la tabla 1. En la dieta-1 la fuente principal de proteína fue de origen vegetal (70% del total de la proteína proveniente de torta de soya) y en la dieta-2, ingredientes de origen animal (70% del total de la proteína proveniente de corazón bovino fresco y harina de pescado).

Se utilizó un diseño experimental con cuatro tratamientos consistentes en los siguientes protocolos de alimentación: Tratamiento 1: dieta-1 + plancton tamizado 50-200 micras (vegetal + plancton). Tratamiento 2: dieta-2 + plancton tamizado 50-200 micras (animal + plancton). Tratamiento 3: solo la dieta-1. Tratamiento 4: solo la dieta-2.

Los peces fueron alimentados hasta aparente saciedad 4 veces al día (07:00; 11:00; 16:00; 21:00 hr); para garantizar el consumo de ración en los tratamientos con zooplancton, este fue ofrecido solo 2 veces al día (11:00 y 21:00), luego del suministro de la ración.

Los ingredientes de las dietas fueron molidos y cernidos por separado en un tamiz con poros de 200 micras, posteriormente se mezclaron y se adicionaron las premezclas vitamínicas y minerales de acuerdo con la formulación; luego de la fabricación fueron conservadas en refrigerador. La composición proximal de las raciones fue realizada según AOAC (1999) (14) en el Laboratorio de Nutrición de Organismos Acuáticos del Centro de Ciencias Agrarias de la Universidad Federal de Santa Catarina en Florianópolis/SC Brasil. En la tabla 1 se registran las proporciones de las materias primas utilizadas y la composición proximal de las raciones. El plancton fue colectado permanentemente tomando agua de un estanque externo en tierra, ubicado a mayor altura que el laboratorio; el agua fue conducida hasta una incubadora Woynarovich de 200 litros a través de una manguera plástica de 1", al final de la cual se le colocó un filtro con malla de 200 micras. Para concentrar el plancton y facilitar su distribución en las unidades experimentales se acopló a la incubadora un embudo con malla de 5 micras.

Tabla 1. Formulación y composición proximal de las dietas experimentales.

Ingredientes (% del alimento)	Dietas experimentales	
	Dieta-1 (Vegetal)	Dieta-2 (Animal)
Corazón bovino	3.5	13.5
Harina de pescado	25	51.9
Torta de soya	62.9	28
Aceite soya	6	4
Premix vitam/mineral ¹	0.6	0.6
Vitamina C ²	0.006	0.006
CMC	1.994	1.994
Composición proximal analizada (% de la MS)		
Materia seca (%)	89.2	83.05
Proteína bruta	51.93	53.48
Extracto etéreo	14.65	18.58
Cenizas	10.13	14.84
Fibra	5.64	2.91
ELN ³	17.65	10.19

¹Composición - unidades/kg de premix: antioxidante 0.6g; ácido fólico 250mg; ácido pantoténico 5.000mg; biotina 12.5mg; niacina 5.000mg; vitamina A 1.000.000 IU; tiamina 1.250mg; cianocobalamina 3.750mg; riboflavina 2.500mg; piridoxina 2.485mg; ácido ascórbico 42.000mg; vitamina D3 500.000 IU; vitamina E 20.000 IU; vitamina K3 500mg; cobalto 25mg; cobre 2.000mg; hierro 13.820mg; yodo 100mg; manganeso 3.750mg; selenio 75mg e zinc 17.500mg; ²Stay-C 35% Rovimix ®; CMC=carboximetilcelulosa; ³ELN = extracto libre de nitrógeno, calculado como $100 - (\% \text{ proteína bruta} + \% \text{ lípidos} + \% \text{ ceniza} + \% \text{ fibra})$.

Parámetros ambientales. Los parámetros de calidad de agua fueron monitoreados diariamente; el oxígeno disuelto y la temperatura utilizando una sonda multiparamétrica (YSI 500A); el pH, dureza y alcalinidad utilizando kit de análisis de aguas Alfakit®. Se empleó un sistema abierto de circulación de agua con filtro de malla plástica y espuma. Las larvas fueron distribuidas aleatoriamente en 20 baldes plásticos circulares de 25 cm de diámetro de 5 litros de capacidad, con entrada de agua controlada por la parte superior y evacuación a través de malla de 400 micras, localizada en la parte inferior; todo el conjunto se manejó dentro de 2 tanques de plástico de 1000 litros cada uno. En cada balde se introdujeron 100 larvas para una densidad de 20 larvas L⁻¹. La altura del agua se reguló con el nivel de salida del agua del tanque, para contar con una capacidad efectiva de 5 litros en cada balde, y se mantuvo un caudal de entrada entre 1 y 1.5 l/min. El experimento tuvo una duración de 10 días con fotoperiodo 13:11 luz: oscuridad.

Mediciones. Para determinar los parámetros de crecimiento al final del experimento, 70 larvas por tratamiento fueron medidas vivas con calibrador digital (Messen, sensibilidad 0.01 mm) a través de estereoscopio (Tecnival CGA 6745 ocular 10X 7-45X) y pesadas en balanza analítica (Celtac FA-2104N, sensibilidad 0.0001 g) al final del experimento.

También se analizó el factor de condición (K), el cual expresa la relación entre el peso total y la longitud, indicando la condición nutricional y la energía de reserva; fue determinado a través de la ecuación: $K = (W/L^3 \times 100)$, en donde W = peso (mg); L = longitud total (mm) (15).

Diseño experimental y análisis estadístico. Para el experimento se aplicó

un diseño de clasificación experimental completamente aleatorizado, balanceado, efecto fijo, con 4 tratamientos y 5 replicas por tratamiento, para 20 unidades asociadas con el modelo experimental y contrastándose el efecto del tratamiento (alimentación). Los datos fueron procesados en el programa SAS (versión 8.02), aplicando ANOVA de una vía con el 95% de confianza, se empleo la prueba de Tukey para analizar las diferencias entre las medias de los pesos, longitudes finales, factor de condición (K) y porcentajes de sobrevivencia de los tratamientos ($p < 0.05$). Para determinar diferencias en la sobrevivencia los datos fueron transformados por Arcoseno.

RESULTADOS

Las propiedades físico-químicas del agua durante el desarrollo del experimento se mantuvieron dentro de los siguientes valores: oxígeno disuelto 5.89 ± 0.68 mg/l, temperatura 24.72 ± 1.24 , pH 6.0 ± 0.00 , dureza 15 mg CaCO₃/l y alcalinidad 15 mg CaCO₃/l. De un modo general, estos niveles no presentaron grandes variaciones y son considerados normales o aceptables para el cultivo de esta especie (16).

Los mayores valores de crecimiento (peso y longitud) se registraron en los tratamientos suplementados con plancton ($p < 0.0001$), en comparación con los alimentados solamente con ración formulada, sin obtener diferencia entre los suplementados con plancton (vegetal + plancton y animal + plancton) e igualmente, no hubo diferencias ($p < 0.0001$) entre los que no se suplementaron (vegetal y animal); para el factor de condición (K) no se registró diferencia ($p > 0.05$) entre los animales de los tratamientos T1, T2 y T3, mientras que, en las del T4, K fue significativamente menor con respecto a T1 y T2 ($p < 0.05$) (Tabla 2).

Tabla 2. Parámetros de desempeño obtenidos en los diferentes tratamientos (media \pm STD).

Tratamiento	Peso (mg)	Longitud total (mm)	(K)	Sobrevivencia (%)
T1	21.89 \pm 15.17 ^a	13.41 \pm 2.34 ^a	0.80 \pm 0.13 ^a	46.6 \pm 2.68 ^a
T2	20.37 \pm 10.37 ^a	13.39 \pm 1.99 ^a	0.78 \pm 0.13 ^a	36.0 \pm 7.41 ^{ab}
T3	3.35 \pm 1.40 ^b	7.54 \pm 0.91 ^b	0.75 \pm 0.13 ^{ab}	33.6 \pm 9.07 ^b
T4	2.98 \pm 1.48 ^b	7.33 \pm 0.96 ^b	0.71 \pm 0.12 ^b	24.8 \pm 6.76 ^b

Peso ($p < 0.0001$); Longitud total ($p < 0.0001$); (K) ($p < 0.05$); %sobrevivencia ($p < 0.05$); Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas entre tratamientos.

Las mayores tasas de sobrevivencia ($p < 0.05$) se registraron en las larvas de T1 y T2, estadísticamente iguales entre sí ($p > 0.05$). Los menores valores para éste parámetro fueron registrados para larvas de T3 y T4, sin diferencia estadística entre sí ($p > 0.05$). Tampoco se determinó diferencia estadística entre T2, T3 y T4 ($p > 0.05$).

DISCUSIÓN

Se ha reportado que el uso de una dieta artificial para alimentar larvas de diferentes especies de peces es más efectiva cuando es ofrecida junto con alimento vivo, estrategia conocida como co-alimentación (17). El alimento vivo influye en la ingestión, digestión y asimilación de la dieta de dos formas: una, los aminoácidos libres al ser liberados por el organismo vivo (la presa) activan los receptores químicos de la larva (predador), estimulando el apetito y orientando la larva hacia la presa; dos, a través de la influencia directa de la composición bioquímica del zooplancton (presa) sobre la digestión y asimilación del alimento ingerido (18), debido a que provee al predador de enzimas digestivas (19) y factores neurohormonales que ayudan a la activación gástrica, la secreción de tripsinógeno del páncreas, la activación de zimógenos en el intestino y la maduración de los enterocitos (20,21). En otro reporte (22), también se determinó en larvas alimentadas únicamente con ración un retardo en el inicio de las secreciones pancreáticas y la diferenciación de los enterocitos, en comparación a las alimentadas con *Artemia*.

En larvas del silúrido *Clarias gariepinus*, alimentadas con raciones secas y con *Artemia*, se determinó que la mayor producción en términos de biomasa, fue obtenida por la combinación de éstas dos fuentes alimenticias (23); también se observó un desempeño similar en larvas de *Rhamdia quelen* cuando se utilizó una combinación de zooplancton natural y alimento formulado con 45% de proteína bruta y 10% de lípidos (24). En el presente trabajo las mayores ganancias de peso fueron obtenidas en las dietas con

alimento natural en combinación con el formulado. Sin embargo, no hubo diferencia significativa entre los dos tratamientos suplementados con plancton, posiblemente porque *Rhamdia* es una especie omnívora (25) y esta característica aparentemente es exhibida desde sus primeras etapas de vida.

A pesar de que la soya natural (*Glycine max*) contiene sustancias antinutricionales como inhibidores de proteasas digestivas, fitohemoaglutininas, ácido fítico, saponinas, factores de flatulencia, antivitaminas A y B, entre otras, se ha demostrado que en la torta están desactivadas por procesos de desengrasamiento y calor, lo cual permite incluirla en dietas para peces en altos porcentajes con resultados positivos (9). Esta fuente de proteína vegetal posee uno de los mejores perfiles de aminoácidos y satisface los requerimientos de aminoácidos de la mayoría de peces (10), entre ellos, los del bagre de canal americano (*Ictalurus punctatus*), remplazando satisfactoriamente más del 50% del total de la proteína en el alimento (26). En alevinos de *Rhamdia quelen* se obtuvieron los mejores parámetros de desempeño al utilizar materias primas proteicas vegetales (25% de levadura de caña y 47.79% harina de soya) que cuando se utilizaron dietas con harina de carne y hueso (27).

En alevinos de carpa (*Cyprinus carpio*) alimentados con soya se determinó que la metionina fue el primer aminoácido limitante (28). Sin embargo, en alevinos de bagres azules (*Ictalurus furcatus*) el 100% de la proteína fue aportada con proteínas vegetales (harina de soya y maní) sin suplementar con metionina y no se encontró ninguna diferencia estadística entre las ganancias de peso, longitud y sobrevivencia en comparación con los alimentados con la dieta que contenía harina de pescado (29). En el presente trabajo, la deficiencia de metionina de la torta de soya fue compensada con harina de pescado.

En condiciones controladas, el factor de condición ha sido útil para evaluar el crecimiento sujeto a cambios en

la temperatura, alimentación, estadio reproductivo, acumulación de grasa, entre otros, reflejando el balance metabólico y facilitando una constante para comparar animales (30). Generalmente K es un valor cercano a 1. Valores por debajo indican formas alargadas del cuerpo, mientras que peces con gran profundidad corporal obtienen valores superiores a 1. No se encontró diferencia estadística significativa entre los dos tratamientos suplementados con plancton (T1 y T2) y entre estos con la ración con 70% de proteína vegetal (T3). El K más bajo fue determinado en T4, indicando que el crecimiento fue afectado en mayor proporción al utilizar solo la ración con 70% de proteína animal sin suplementación con plancton.

Por lo tanto, se concluye que la estrategia de co-alimentación es más productiva que cuando se alimenta solamente con el

alimento formulado; además, la inclusión del 62.9% de torta de soya en la formulación de dietas para larvas de *Rhamdia quelen* no disminuyó el desempeño productivo cuando fueron suplementadas con plancton entre 50 y 200 micras al inicio de su alimentación exógena. Se requieren análisis más exactos en cuanto a la cantidad de zooplancton que permite este remplazo en la formulación, así como la caracterización de organismos planctónicos en cuanto a composición nutricional, específicamente en la composición de aminoácidos.

Agradecimientos.

Al agrónomo Anselmo Moraes, técnico de la Piscicultura Panamá por la colaboración durante el período experimental, así como a los trabajadores de ésta estación piscícola, por los aportes recibidos.

REFERENCIAS

1. Silvergrip AMC. A systematic revision of the neotropical catfish Genus *Rhamdia* (*Teleostei*, *pimelodidae*). [Tesis de Doctorado]. Estocolmo: Swedish Museum Natural History; 1996.
2. Behr ER, Tronco AP, Neto JR. Ação do tempo e da forma de suplementação alimentar com *Artemia franciscana* sobre a sobrevivência eo crescimento de larvas de jundiá. *Ciência Rural* 2000; 30:503-507.
3. Soltan MA, Hanafy MA, Wafa MIA. Effect of replacing fish meal by a mixture of different plant protein sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets. *Global Veterinaria* 2008; 2:157-164.
4. Storebakken T, Kvien IS, Shearer KD, Grisdale-Helland B, Helland SJ, Berge GM. The apparent digestibility of diets containing fish meal, soybean meal or bacterial meal fed to Atlantic salmon (*Salmo salar*): evaluation of different faecal collection methods. *Aquaculture* 1998; 169:195-210.
5. Oliva-Teles A, Gonçalves P. Partial replacement of fishmeal by brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in diets for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 2001; 202:269-278.
6. El-Sayed A.F.M. Evaluation of soybean meal, spirulina meal and chicken offal meal as protein sources for silver seabream (*Rhabdosargus sarba*) fingerlings. *Aquaculture* 1994; 127:169-176.
7. Anetekhai MA, Owodeinde FG, Denloye AA, Akintola SL, Aderinola OJ, Agboola JI. Growth response of north african catfish fry to organic and inorganic fertilizers. *Acta Ichthyologica Et Piscatoria* 2005; 35:39-44.
8. Francis G, Makkar HPS, Becker K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 2001; 199:197-227.

9. Tacon AGJ. Fishmeal replacers: Review of antinutrients within oilseeds and pulses. A limiting factor for the aquafeed Green revolution? En: FAO. Feed ingredients Asia. Roma: FAO; 1995.
10. NRC. Nutrient Requirements of Fish. Washington D.C.: National Academy Press; 1993.
11. García-Ortega A. Valor nutricional de los quistes de *Artemia* y su uso como fuente de proteína en dietas artificiales para larvas de peces. En: Cruz-Suarez L, Ricque-Marie D, Tapia-Salazar M, Olvera-Novoa M, Civera-Cerecedo R Editores. Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola; Mérida 19-22 de noviembre de 2000. Yucatán, México; 2000.
12. Dabrowski K, Terjesen BF, Zhang Y, Phang JM, Jun Lee K. A concept of dietary dipeptides: a step to resolve the problem of amino acid availability in the early life of vertebrates. *J Exp Biol* 2005; 208:2885-2894.
13. FAO. A propagação artificial de peixes de águas tropicais. Manual de extensão. Woynarovich E, Horváth L. Roma: FAO; 1983.
14. A.O.A.C. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis. Washington, D.C.: Association of Analytical Chemists; 1999.
15. Le Cren ED. The length-weight relationship and seasonal cycle gonad weight and condition in perch (*Perca fluviatilis*). *J Anim Ecol* 1951; 20:201-291.
16. Baldisserotto B. Fisiologia de peixes aplicada á piscicultura. 2da Ed. Brasil: Editorial UFSM; 2009.
17. Borges M, Portella M. Degradation analysis of microencapsulated diet in pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) larvae intestine through scanning electron microscopy (SEM). *Acta Sci Anim Sci* 2003; 25:49-52.
18. Kolkovski S, Koven W, Tandler A. The mode of action of *Artemia* in enhancing utilization of microdiet by gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture* 1997; 155:193-205.
19. Dabrowski K, Glogowski J. Studies on the role of exogenous proteolytic enzymes in digestion processes in fish. *Hydrobiologia* 1977; 54:129-134.
20. Chan CB, Hale E. Effect of somatostatin on intragastric pressure and smooth muscle contractility of the rainbow trout. *J Fish Biol* 1992; 40:545-556.
21. Kolkovski S, Arieli A, Tandler A. Visual and olfactory stimuli as determining factors in the stimulation of microdiet ingestion in gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. P. Lavens, E. Jaspers, I. Roelants, Editors Spec. Publ. no. 24, Larvi '95 Fish and Shellfish Larviculture Symposium. Gent, Belgium: European Aquaculture Society; 1995.
22. Cahu CL, Zambonino Infante JL, Le Gall MM, Quazuguel P. Early weaning of seabass: are digestive enzymes limiting? En: Lavens P, Jaspers E, Roelants I. Editores. Larvi '95-Fish and Shellfish Larviculture Symposium. Gent 3-7 de septiembre de 1995. Gent, Belgium: European Aquaculture Society; 1995.
23. Appelbaum S, Mcgeer JC. Effect of diet and light regime on growth and survival of African catfish (*Clarias gariepinus*) larvae and early juveniles. *Aquacult Nutr* 1998; 4:157-164.
24. Carneiro PCF, Mikos JD, Schorer M, Filho PRCO, Bendhack F. Live and formulated diet evaluation through initial growth and survival of jundiá larvae, *Rhamdia quelen*. *Sci agric* 2003; 60:615-619.
25. Trombetta CG, Neto RJ, Lazzari R. Suplementação vitamínica no desenvolvimento de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Ciênc Agrotec* 2006; 30:1224-1229.

26. Lovell KT. Use of soybean products in diets for aquaculture species. *J Aquat Products* 1988; 2:27-52.
27. Coldebella IJ, Neto JR. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). *Ciência Rural* 2002; 32:499-503.
28. Murai TH, Ogata P, Kosutarak S. Effects of amino acid supplementation and methanol treatment on utilization of soy flour by fingerling carp. *Aquaculture* 1986; 56:197-206.
29. Webster C, Tidwell JH, Tiu LS, Yancey DH. Use of soybean meal as partial or total substitute of fish meal in diets for blue catfish (*Ictalurus furcatus*). *Aquat Living Resour* 1995; 8:379-384.
30. Wheatherley AH, Gills HS. *The biology of fish growth*. New York: Academic Press; 1989.