

RELACIÓN ENERGÍA : PROTEÍNA EN LA NUTRICIÓN DE ALEVINOS DE PIAUÇU (*Leporinus macrocephalus*)

Pezzato, L.E.¹; Barros, M.M.¹; Pezzato, A.C.¹; Miranda, E.C.²; Quintero, P. L.G.³; Furuya, W.M.²

RESUMEN

Este experimento tuvo como objetivo evaluar el desempeño productivo de alevinos de piauçu, al ser alimentados con dietas con las siguientes relaciones energía:proteína (ED:PB): 280:24; 280:28; 280:32; 320:24; 320:28 y 320:32 kcal ED/g PB. El diseño experimental fue completamente aleatorizado, en un arreglo factorial (3x2), con tres niveles de proteína bruta y dos niveles de energía digestible y tres repeticiones. El experimento tuvo una duración de 70 días. Se usó un lote de 108 alevinos (peso medio inicial de $1,97 \pm 0,16$ g) en número de seis peces por acuario. Se concluyó que: a) es más adecuado para la alimentación de alevinos del piauçu, una ración con 2800 kcal ED/kg y 28 % de proteína bruta, que corresponde a la relación energía:proteína 10 (kcal ED/g de PB) y; b) para la fase pre-invierno del piauçu, se recomienda el uso de una ración con 3200 kcal ED/kg y 28 % de proteína bruta, que corresponde a la relación energía:proteína 11,4 (kcal ED/g de PB), ya que proporciona un depósito lipídico mayor a los alevinos. **Rev. Med. Vet. Zot.** 47:2-7

Palabras claves adicionales: Unitermos: relación energía:proteína, mijes, *Leporinus*-sp, nutrición de peces.

RESUMO

Esse experimento teve por objetivo avaliar o desempenho de alevinos de piauçu, quando arraçoados, com dietas contendo as seguintes relações energia:proteína (ED:PB): 280:24; 280:28; 280:32; 320:24; 320:28 e 320:32 kcal ED/g PB. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, num esquema fatorial (3x2), com três teores de proteína bruta e dois níveis de energia digestível e três repetições. O experimento teve duração de 70 dias. Empregou-se um lote de 108 alevinos (peso médio de $1,97 \pm 0,16$ g) em número de seis peixes por aquário. Concluiu-se que: a) apresenta-se mais adequada para o arraçoamento de alevinos de piauçu, a ração com 2800 kcal ED/kg e 28 % de proteína bruta, correspondendo à relação energia:proteína 10 (kcal ED/g de PB) e; b) para a fase pré-invernal de piauçu, recomenda-se o uso de uma ração com 3200 kcal ED/kg e 28 % de proteína bruta, correspondendo à relação energia:proteína 11,4 (kcal ED/g de PB), por proporcionar alevinos com maior depósito lipídico.

Unitermos: relação energia:proteína, piauçu, nutrição de peixe.

1. INTRODUCCIÓN

El género *Leporinus* pertenece a la familia Anostomidae y prácticamente es desconocido desde el punto de vista zootécnico, algunas de sus especies ahora están siendo usadas por los piscicultores, gracias a que presentan buen desempeño y aceptan dietas artificiales (Castagnolli, 1992). Se caracterizan por ser de hábito alimenticio omnívoro, se puede utilizar para su alimentación una amplia gama de alimentos, siendo los vegetales y las semillas los ítems mas frecuentes en su dieta (Andrian et al., 1994).

En la naturaleza, según Pezzato (1990), estos peces ingieren los alimentos disponibles alcanzando el balance nutritivo; esto mismo no sucede en los ambientes de confinamiento en los que estos alimentos se encuentran ausentes o en limitada cantidad, lo que implica la premisa de conocer las necesidades nutricionales de las especies cultivadas. Considerando la gran diversidad de las especies y la consecuente diferenciación morfofisiológica y comportamental, la nutrición de los peces se presenta como una gran área de estudios, donde las generalizaciones no encajan y cada caso es digno de atención específica (Pezzato, 1997). Las raciones usadas para tratar los peces en sistemas de producción, clasificados como

1 Departamento de Nutrición Animal - FMVZ / UNESP - Botucatu - SP - Brasil (18.618-000) apartado postal: 560.

2 Estudiante del Curso de pos-graduación en Zootecnia - FMVZ / UNESP-Botucatu.

3 Estudiante del Curso de pos-graduación en Acuicultura - CAUNESP / UNESP-Jaboticabal

intensivos, en función de su relación energía:proteína (8 a 10 kcal ED/g de PB), tienden a producir peces mas gordos. Por otro lado, ellos se presentan más magros en ambiente natural, cuando se alimentan de insectos, crustáceos, frutas y semillas, dieta que presenta en promedio de 5 a 6 kcal ED/g.

Siguiendo a Smith (1993), para algunas especies de peces, son óptimas las relaciones de 8 a 10 kcal de ED/g PB de la dieta. En ese sentido, NRC (1993) presenta las relaciones ED:PD (kcal de ED/g PD) de 8 a 9,7 para el bagre del canal, 10,3 para el tilapia nilótica, 10,8 para la carpa común y de 9,1 a 10,2 para la trucha arco iris. La relación ED:PB de la dieta que varía en función de la edad y del tamaño del pez, afecta su crecimiento y su composición corporal. Sampaio (1998), en una investigación realizada con alevinos de tucunaré alimentados con dietas isoenergéticas y niveles de PB de 30, 33, 37 y 41% (relación ED/PB 8, 9, 10 y 11), concluyó que la demanda nutricional de ese pez pueden ser suplida con una ración conteniendo entre 8 y 9 kcal de ED/g de PB.

Según Burtle (1990), cuando el bagre de canal fue alimentado con una dieta conteniendo una baja relación energía:proteína (24 a 26% PB y 2700 a 2800 kcal), se mostró más magro y tubo reducida tasa de crecimiento. Lee & Putnam (1993) alimentaron alevinos trucha arco iris con dietas de relaciones ED:PB variando de 6,17 a 13,70 kcal/g. Estos autores concluyeron que la densidad energética de la dieta reguló su consumo de alimento y que hubo efecto economizador de la proteína por los carbohidratos contenidos en la ración.

Una baja relación energía:proteína en la dieta puede reducir la tasa de crecimiento específico debido al aumento de la demanda metabólica para la excreción de nitrógeno. Por otro lado, el exceso de energía en la ración puede causar depósito excesivo lipídico en los peces, reducir el consumo de alimento e inhibir la utilización de otros nutrientes (Cho, 1990). En temperaturas altas, las demandas en energía para mantenimiento son mayores, porque los peces no son capaces de consumir la suficiente energía para acumular lípidos (energía) en el cuerpo (Shearer, 1994).

De acuerdo con Milward (1989), si se proporciona a los peces una dieta con insuficiente cantidad de proteína o con composición inadecuada de aminoácidos, puede ocasionar reducción en el crecimiento, disminución de la eficacia alimenticia y pérdida de peso, en función de la movilización de la proteína para mantener las funciones vitales. Por otro lado, si la proteína es proporcionada en exceso, sólo una parte será usada en la formación de tejidos y la restante se transformará en energía. La concentración óptima de proteína en las dietas para peces está señalada por un delicado balance entre proteína y energía, en el que se tiene que prestar especial atención a la calidad protéica, patrón adecuado de aminoácidos esenciales disponibles, y fuentes de energía no el protéica, lípidios y carbohidratos (Cho, 1992). Según Colin et al. (1993), un exceso de energía no protéica, como resultado de la formulación de dietas con alta relación energía:proteína, conduce a la disminución de la ingesta antes de que se consuma la cantidad de proteína suficiente, ya que los niveles de ingesta, son determinados, fundamentalmente, por la densidad energética de la dieta.

Con frecuencia datos referentes a las especies ícticas de clima templado, no compatibles con las tropicales, son usados en la formulación de dietas completas, no adecuadas para atender las exigencias nutricionales de nuestros peces. En este sentido, se desarrolló este estudio con el piaçu (*Leporinus macrocephalus*), con el objetivo de mejorar el conocimiento de la relación energía:proteína y proporcionar informaciones para el diseño de raciones completas para las especies omnívoras tropicales.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Este experimento fue realizado en el Laboratorio de Investigaciones en Nutrición de Organismos Acuáticos, FMVZ-UNESP, Campus Botucatu, unidad integrada al Centro de Acuicultura de la UNESP. Se utilizaron 18 acuarios de fibra de vidrio con capacidad de 80 litros de agua, dotados de aireación y flujo continuo de agua con renovación de 0,75 L/min, y filtro biológico para remover del agua las excretas de los peces y los eventuales excesos de ración del fondo de esos acuarios.

El agua de cada acuario fue calentada con el uso de resistencias de 100W las que estaban controladas por un termostato central. La temperatura fue medida dos veces por día (8:00 y 14:00 horas). Semanalmente se evaluaron, el pH con potenciómetro, el contenido de oxígeno disuelto

por el método de Wincker según Boyd (1984), y el amonio total basado en el método de Golteman *et al* siguiendo a Tavares (1994).

El diseño experimental fue completamente al azar, en un arreglo factorial (3x2), con tres niveles de proteína bruta (24, 28 y 32%) y dos niveles de energía digestible (2800 y 3200 kcal ED/kg de ración) y tres repeticiones. Se evaluó la ganancia en peso, la conversión alimenticia y la composición de las caracasas. Las diferencias entre medias fue probada a un nivel de significancia de 5% según Steel & Torrie, (1984).

Las dietas fueron confeccionadas según las normas presentadas por el NRC (1993). Esas raciones se formularon de tal forma que presentaron relaciones energía:proteína (ED:PB) de: 280:24; 280:28; 280:32; 320:24; 320:28 y 320:32 kcal ED/g de PB.

En la manufactura de las mezclas, se utilizaron ingredientes normalmente usados por la industria de raciones y cuya composición es presentada en la Tabla 1. Los ingredientes secos fueron finamente molidos y homogeneizados en las proporciones respectivas. La mezcla fue humedecida con 40% de agua y peletizada en un molino eléctrico de carnes. Los pelets obtenidos se deshidrataron en estufa ventilada (55°C) y poco después almacenados en bolsas de plástico en refrigerador (-4°C). Las raciones usadas en este experimento, se procesaron para obtener pelets con diámetro de 3,36 mm, tal como es presentado en la Tabla 2.

El experimento tuvo una duración de 70 días. 15 días antes del inicio de la fase de obtención de datos, los peces fueron sometidos a un período de adaptación al ambiente, al ma-

Tabla 1. Composición química de los ingredientes empleados para la formulación de las raciones experimentales *

Ingrediente	Composición					
	PB (%)	FB (%)	EE (%)	ED (kcal/g)	Ca (%)	Pd (%)
Almidón de maíz	0,60	0,30	0,20	2,70	-	-
Torta de soya	48,50	8,50	1,70	3,01	0,30	0,20
Harina de pescado	54,10	1,50	9,20	4,00	6,30	3,00
Torta de trigo	15,30	9,60	3,80	2,89	0,10	0,30
Bagazo de caña	-	48,10	-	-	-	-

* Análisis realizados en el Laboratorio de Bromatología del Departamento de Mejoramiento y Nutrición Animal - FMVZ - Botucatu

Tabla 2. Composición porcentual estimada de los ingredientes y características nutricionales de las raciones experimentales.

Ingredientes	Tratamientos					
	ED:PB (kcal ED/g de PB)					
	280:24	280:28	280:32	320:24	320:28	320:32
Almidón de maíz	37,35	30,28	23,83	31,60	25,44	24,98
Torta de soya	41,21	49,50	57,70	41,00	49,70	57,90
Harina de pescado	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Torta de trigo	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Bagazo de caña	2,72	1,50	-	2,90	1,44	-
Aceite de soya	1,01	0,50	-	7,20	6,30	-
Fosfato bicálcico	1,88	2,35	2,45	1,50	1,50	1,50
DL-metionina	0,31	0,35	0,50	0,28	0,10	0,10
Alginato	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
BHT (antioxidante)	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Premix (vit y min)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Total	100	100	100	100	100	100
Proteína Bruta (%)	24,07	28,08	32,11	23,93	28,00	32,04
Energía digestible (kcal/Kg)	2804	2819	2854	3193	3199	3196
Fibra Bruta (%)	5,93	6,03	5,99	5,98	6,00	6,04
Cálcio (%)	0,80	0,92	0,96	0,70	0,73	0,75
Fósforo disponible (%)	0,54	0,64	0,67	0,48	0,49	0,51

nejo y al alimento seco. Se empleó un lote de 108 alevinos del piauçu (*Leporinus macrocephalus*), de un total de 500 individuos, provenientes de la Piscigranja Piracatu (Botucatu, SP). Estos fueron distribuidos, aleatoriamente, con peso medio de $1,97 \pm 0,16$ g, en número de 6 para cada acuario. Los peces de los diferentes tratamientos se alimentaron *ad libitum*, dos veces al día, a las 8:00 y 17:00 horas. El consumo diario de ración fue determinado por la diferencia entre el peso inicial y final del alimento, obtenido con la ayuda de una balanza digital con precisión de 0,001g.

Todos los individuos de cada tratamiento fueron pesados al inicio y al final del período experimental.

Se evaluó la ganancia de peso (GP), la conversión alimenticia aparente (CAA) y la composición de proteína bruta y el extracto etéreo de las carcasas, al final del período experimental. Para el análisis de las carcasas se utilizaron individuos al principio y al final del experimento, siendo considerada la carcasa como el pez entero sin las vísceras y seco en estufa a 60°C durante 48 horas, según Hanley (1991).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Variables ambientales

La temperatura media del agua durante todo el periodo experimental fue de $23,7 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$, la concentración de oxígeno disuelto de $7,8 \pm 0,1 \text{ mg/L}$, el pH de $6,8 \pm 0,3$ y el amonio de $0,08 \pm 0,02 \text{ ppm}$ de N-NH_3 .

3.2. Ganancia de Peso y Conversión Alimenticia Aparente

Los valores medios de las repeticiones y los promedios de ganancia de peso (GP) en gramos y de la conversión alimenticia (CAA) de los diferentes tratamientos se encuentran reportados en la Tabla 3. Sometiendo los datos de estas dos evaluaciones al análisis de varianza, no se observó a través de la prueba F, efecto estadísticamente significativo ($p > 0,05$) para los diferentes tratamientos.

Aunque los promedios de ganancia de peso hayan sido similares, se puede inferir que los peces alimentados con las dietas que contenían las relaciones energía:proteína de 320:28 (11,4 kcal ED/g de PB) y 280:28 (10 kcal ED/g de PB), presentaron tendencia de mejores ganancias de peso. Esta tendencia del nivel protéico 28% con los niveles de energía digestible entre 2800 y 3200 kcal/kg, de proporcionar mejores ganancias de peso, concuerdan con las recomendaciones hechas por Smith (1993), que una relación óptima de energía: proteína de la dieta, para algunas especies de peces, se encuentran entre 8 y 10 kcal de energía digestible por gramo de proteína bruta.

Por otro lado, se observa una ligera tendencia de los peces a disminuir la ganancia de peso en la relación 280:32 (8,8 kcal ED/g PB). Se verifica que al aumentar el valor protéico de la dieta, a menos que se mantenga apropiada la relación energía:proteína, no implica una respuesta de incremento en la tasa de ganancia de peso. Esto confirma las observaciones hechas por Cho (1990), que la gran concentración de proteína en las dietas para peces es marcada para un delicado balanceo entre la proteína y la energía de la dieta.

Las relaciones energía:proteína de 280:28 (10 kcal/g PB); 320:24 (13,3 kcal/g PB) y 320:28 (11,4 kcal/g PB), presentaron idénticos coeficientes de conversión alimenticia aparente (2,5:1,0). Se destaca más aún, que la relación 320:32 produjo una tendencia a empeorar de conversión alimenticia. Por otro lado, contrario a la tendencia observada para la ganancia de peso, hubo una mejor respuesta de conversión alimenticia en la relación 280:32 (8,8 kcal ED/g PB). Tales resultados, confirman a Colin et al. (1993), cuando afirmaron que el exceso de energía no protéica en la dieta, lo que corresponde a una alta relación energía:proteína, provoca una disminución del nivel de ingestión antes de que los peces hayan consumido la dosis necesaria de proteína.

Estos resultados permiten inferir que las relaciones energía:proteína de 280:28 (10 kcal ED/g de PB), y 320:28 (11,4 kcal ED/g de PB), tienden a proporcionar las mejo-

Tabla 3. Valores medios para las repeticiones de ganancia de peso (GP) en gramos y conversión alimenticia aparente (CAA) de los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Relación ED:PB*	Repeticiones			Media
		1	2	3	
280:24	GP	37,50	38,32	38,58	38,13
	CA	2,50	2,80	2,40	2,56
280:28	GP	44,35	42,73	40,12	42,40
	CA	2,40	2,60	2,50	2,50
280:32	GP	38,75	37,52	34,85	37,04
	CA	2,40	2,40	2,50	2,43
320:24	GP	41,57	38,50	40,30	40,12
	CA	2,50	2,40	2,60	2,50
320:28	GP	50,66	44,53	34,97	43,38
	CA	2,40	2,50	2,60	2,50
320:32	GP	35,51	45,18	37,48	39,39
	CA	2,50	2,60	2,80	2,63

* (kcal ED/g de PB)

GP = Ganancia de peso (CV = 10,18%)

CA = Conversión alimenticia (CV = 5,11%)

res respuestas de ganancia de peso y conversión alimenticia aparente. Sin embargo, con base en los probables costos de producción y porque ellos no difieren estadísticamente (respuestas biológicas similares) puede ser considerada la relación 280:28 (10 kcal ED/g de PB), como más aceptable para la alimentación inicial del piaçu.

3.3. Composición de la canal

Cuando fueron sometidos al análisis de varianza los valores medios (%) de las repeticiones de los niveles de proteína bruta y de extracto etéreo de la carcasa de los peces, revelaron para ambos fragmentos, a través de la prueba F, efecto altamente significativo ($p < 0,01$) para los tratamientos. Sometiendo a prueba el desdoblamiento de los factores, se descubrió interacción entre los niveles de energía y de proteína bruta de la dieta para los dos factores analizados de la carcasa (proteína bruta y el extracto etéreo), como se presenta en la Tabla 4.

En esta tabla 4, se observa que los mayores niveles de extracto etéreo (EE) se encuentran en las carcasas de los peces alimentados con las raciones que contenían la relación 320:28 (11,4 kcal ED/g de PB), mientras que el depósito lipídico más pequeño fue proporcionado por la relación 280:28 (10 kcal ED/g de PB). Más aún se puede verificar que las relaciones 320:28 y 280:28, ocasionaron la menor y mayor retenciones de proteína en las carcasas respectivamente.

Estos resultados confirman lo referido por Milward (1989), que si la proteína es proporcionada en exceso en la dieta, sólo una parte de ésta se usará en la formación de tejidos, mientras que la fracción restante se transformará

en energía. Ello más aún confirma las aceveraciones de Cho (1990), que el exceso de energía en la ración puede causar excesivo depósito lipídico en los peces, reducir el consumo e inhibir el uso de otros nutrientes.

Considerando los resultados de ganancia de peso y de composición de la carcasa, proporcionados por la ración con la relación 320:28 (11,4 kcal ED/g PB), puede considerarse que esa ganancia resulta de un mayor depósito de grasa en la misma. Así, las mejores respuestas fueron proporcionadas por la relación 280:28 (10 kcal ED/g PB), toda vez que hubo una tendencia de mejor ganancia de peso, además de proporcionar una carcasa con niveles significativamente inferior de grasa y superiores en proteína.

Esta relación, 280:28 (10 kcal ED/g de PB), se presenta ligeramente inferior a la recomendada para trucha arco iris por Lee & Putnam (1993) y, superior a la propuesta para el tucunare por Sampaio (1998). Entre tanto, está de acuerdo con lo recomendado por Smith (1993) y por el NRC (1993).

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en esta investigación, se puede concluir:

- Se presenta más adecuado para la alimentación de alevinos del piaçu una ración con 2800 kcal ED/kg y 28% de la proteína bruta, correspondiendo a la relación energía:proteína 280:28 (10 kcal ED/g de PB);
- Para la fase pre-inviernal de piaçu, se recomienda el uso de una ración con 3200 kcal ED/kg y 28% de la proteína bruta, correspondiendo a la relación energía: proteína 320:28 (11,4 kcal ED/g de PB), ya que proporciona la obtención de alevinos con depósito lipídico mayor.

BIBLIOGRAFÍA

- Andrian IF, Doria, I.R.C.; Torrente, G.; Ferretti, C.M. Espectro alimentar e similaridade na composição da dieta de quatro espécies de *Leporinus* (Characiformes, Anostomidae) do rio Paraná. *Acta Scientiarum*, 16(3): 97-106, 1994.
- Boyd CE *Warter quality in warmwater fish ponds*. 3ª edición. Alabama: Auburn University. 1984. 359p.
- Burtle GJ. Body composition of farm-raised catfish can be controlled by attention to nutrition. *Feedstuffs*, v. 62, n. 5, p. 68-71, 1990.
- Castagnolli N. *Piscicultura de Água Doce*. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 205p.
- Cho CY Feeding for rainbow trout and other salmonids. With reference to current estimates of energy and protein requirements. *Aquaculture*, v. 100, p. 107-123. 1992.
- Cho CY Fish Nutrition, Feeds, and feeding: with special emphasis on salmonid aquaculture. *Food Reviews International*, v. 6, n. 3, p. 333-357, 1990.

Tabla 4. Valores medios (%) para la composición de la carcasa de las fracciones proteína bruta (PB) y extracto etéreo (EE), de los peces en los diferentes tratamientos*.

Proteína bruta (%)	Energía digestible (kcal/kg de ração)			
	2800		3200	
	EE(%)	PB(%)	EE(%)	PB(%)
24	21,35 ± 0,34 Aa	65,67 ± 2,78 Ab	16,19 ± 0,35 Bb	71,59 ± 0,38 Aa
28	10,90 ± 0,35 Cb	76,22 ± 1,21 Ba	25,73 ± 0,61 Aa	62,28 ± 1,06 Bb
32	18,40 ± 0,17 Ba	67,17 ± 1,30 Bb	13,99 ± 1,64 Cb	70,46 ± 1,03 Aa

* Valores seguidos de la misma letra no difieren entre si por el test de Tukey ($p < 0,05$), donde las letras minúsculas representan las diferencias entre los niveles de energía digestible y las mayúsculas representan las diferencias entre los niveles de proteína bruta.

- Colin B, Cowet CB, Young DC, Cho C. Nutritons requeriments of fish. *Proccedings of the Nutrition Society*, v. 52, p. 417-426, 1993.
- Hanley F. Effects of feeding supplementary diets containig varing levels of lipid on growth, food conversation, and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*. 93: 323-4, 1991.
- Lee DJ, Putnam GB. The response of rainbow trout to varing protein/energy ratios in a test diet. *Journal of Nutrition*, v. 103, n. 11, p. 916-922, 1973.
- National Research Council. *Nutrient Requirements of Fish*. 1993. 114p.
- Milward DJ. The nutrition regulation of muscle growth and protein turnover. *Aquaculture*, v. 79, p. 1-28. 1989.
- Pezzato LE. Efeito de diferentes níveis de gordura animal e vegetal sobre o desempenho e depósito de ácidos graxos em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Jaboticabal, 1990. 91p. Tesis (Doctorado)- FCAV, UNESP.
- Pezzato LE. O estabelecimento das exigências nutricionais das espécies de peixes cultivadas. p. 45-62. In: J.E.P. Cyrino (Ed.). *Anais do Simpósio Sobre Manejo e Nutrição de Peixes*. Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, Campinas, SP. 1997.
- Sampaio AM de B. Relação energia:proteína na nutrição do tucunare (*Cichla sp*). Piracicaba, 1998. 49p. Disertación (Maestria) ESALQ, USP.
- Shearer KD. Factors affecting the proximate composition of culture fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture*, v. 119, n. 1, p. 63-88. 1994.
- Smith RR. Nutritional energetics. In: Halver, J. (Ed.) *Fish Nutrition*. Washington: Academic Press, 1993. 114p.
- Steel RGD, Torrie SH. *Principles and procedures of statistics - a biometrical approach*. Auckland: McGraw-Hill International, 1984.
- Tavares LHS. *Limnologia aplicada à aqüicultura*. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 70p.