
DIGESTIBILIDADE APARENTE DA CASCA DE SOJA E DA POLPA CÍTRICA PARA JUVENIS DE PACU (*PIARACTUS MESOPOTAMICUS*) UTILIZANDO DOIS MARCADORES EXTERNOS

Apparent digestibility of soybean speal and citric pulp for pacu (Piaractus mesopotamicus) juveniles using two different external markers

Ian Taibo Timpone^a, João Batista Kochenborger Fernandes^b,
Marianne Schorer^c, Thiago Perez El Hadi Fabregat^d

^a Zootecnista, Mestrando em Zootecnia (UNESP), Jaboticabal, SP - Brasil, e-mail: iantimpone@hotmail.com

^b Zootecnista, Professor do Centro de Aquicultura (UNESP), Jaboticabal, SP - Brasil, e-mail: jbatista@caunesp.unesp.br

^c Zootecnista, MSc. em Aquicultura, Centro de Aquicultura (UNESP), Jaboticabal, SP - Brasil, e-mail: marianne_schorer@uol.com.br

^d Zootecnista, Doutorando do Centro de Aquicultura (UNESP), Jaboticabal, SP - Brasil, e-mail: thiagofabregat@hotmail.com

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a digestibilidade aparente da casca de soja e da polpa cítrica utilizando a cinza ácida insolúvel e o óxido de cromo como marcadores externos em ensaios com juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Foram utilizados 150 peixes, com peso médio de $63,07 \pm 9,0$ gramas, distribuídos em 15 aquários (10 peixes/aquário) com capacidade de 75 L de água. Foram realizados dois ensaios de digestibilidade: no primeiro ensaio foram estudados os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes da polpa cítrica e no segundo da casca de soja. Os coeficientes foram determinados pelo método de coleta parcial de excretas e foi avaliada a adição na dieta de 0,5 e 1% de cinza insolúvel em ácido (Celite™) e 1% de óxido de cromo (Cr_2O_3) como marcadores inertes. As coletas de fezes foram realizadas utilizando-se seis coletores cilíndricos de fundo cônico (sistema de Guelph modificado). De acordo com a análise estatística não houve diferença significativa entre os marcadores nas rações com a inclusão da polpa cítrica e da casca de soja, indicando que ambos os marcadores são apropriados para a determinação da digestibilidade aparente de ingredientes para o pacu.

Palavras-chave: Peixe; Óxido de cromo; Cinza; Nutrição.

Abstract

*The aim of this study was to evaluate the apparent digestibility of soybean speal and citric pulp comparing the acid insoluble ash with the chromic oxide as an external marker in assay with pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles. In the experiment, 150 fish with mean weight of 63.07 ± 9.0 grams, distributed in 15 aquariums (75 L, 10 fishes/aquarium) were used. The collects of the feaces were realized using six cylindrical collectors of conical bottom (Guelph modified system). Two digestibility trials were realized evaluating the digestibility coefficient of the citric pulp nutrients in the first one and soybean speal in the second. The apparent digestibility coefficients were determined by the excrements partial collect method. It was evaluated the addition of 0.5 and 1% in the diet of acid insoluble ash (Celite™) and 1 % of chromic oxide (Cr_2O_3) as an inert marker. In both assays an entirely random design was used with three treatments and five replicates. According to statistical analysis there was no significative difference between the markers (Celite™ 0.5 and 1% and 1% chromic oxide) in the diets with addition of citric pulp and soybean speal. The studied markers are appropriated for the apparent digestibility determination.*

Keywords: Fish; Chromic oxide; Ash; Nutrition.

INTRODUÇÃO

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é uma das espécies de peixe mais estudadas da ictiofauna brasileira, sendo seu hábito alimentar classificado como onívoro (URBINATI; GONÇALVES, 2005).

Uma forma de melhorar nutricionalmente a qualidade da dieta dos peixes é quantificar a capacidade desses animais de digerir e assimilar os alimentos, e isso pode ser feito por meio da determinação da digestibilidade aparente que vem dar suporte à formulação de dietas que atendam às necessidades nutricionais sem causar alterações deletérias (McGOOGAM; REIGH, 1996).

Para determinação da digestibilidade aparente em peixes é necessária a utilização de um método de coleta de fezes que seja adequado e se obtenha precisão nos resultados (AUSTRENG, 1978; SMITH; PETERSON; ALLRED, 1980). O método direto de coleta de fezes se caracteriza pela coleta total de excretas e o método indireto pela coleta parcial. O método direto (coleta total) foi citado por alguns autores como sendo trabalhoso e impreciso (NOSE, 1966; DE SILVA, 1985; NUNES, 1996). Assim, para empregar o método da coleta parcial é necessário o uso de um indicador na dieta. O uso de indicadores externos inertes possibilita a utilização de água corrente nos coletores, uma vez que as perdas de fezes podem ser calculadas, proporcionando significativa redução no estresse dos peixes (KLONTZ, 1995).

Os indicadores podem ser classificados como externos ou internos. Os marcadores externos são definidos como substâncias, adicionadas à ração, não digeridas pelo animal e os marcadores internos como componente natural inerte da dieta ou dos ingredientes da ração, não necessitando serem adicionados.

O cromo é o marcador externo mais utilizado na determinação da digestibilidade dos nutrientes dos alimentos. Entretanto, de acordo com alguns autores, pode haver recuperação incompleta do óxido de cromo nas excretas, gerando concentrações subestimadas (AUSTRENG et al., 2000). Além disso, o óxido de cromo também pode alterar a velocidade de passagem do alimento pelo trato digestório (TACON; RODRIGUEZ, 1984; LEAVITT, 1985).

A cinza insolúvel em ácido (CIA) é um mineral indigestível composto basicamente por sílica, podendo ser utilizada como marcador. Embora seja muito utilizada como marcador interno para ruminantes, em monogástricos os ingredientes normalmente utilizados nas rações apresentam baixas concentrações de CIA endógenas e, por isso, fontes exógenas como o Celiteã têm sido utilizadas com

o objetivo de diminuir erros de análises (SALES; JANSEN, 2003). Alguns autores afirmam que a CIA proporciona valores superestimados de digestibilidade, apresentando um grande potencial em experimentos de digestibilidade, além da sua facilidade metodológica (VOGTMANN et al. 1974), maior reprodução dos resultados e menor custo da análise (SALES; JANSEN, 2003).

O processamento de alimentos destinados à alimentação humana e animal nos últimos anos vem sendo responsável por elevada produção de subprodutos na indústria. Aproveitando-se das habilidades do pacu para aproveitamento de alimentos fibrosos, foram utilizadas duas fontes energéticas, a polpa cítrica, fonte de fibra solúvel utilizada na nutrição dos animais, sendo um subproduto do beneficiamento da laranja e a casca de soja que é originada pela decorticação do grão de soja para extração de óleo e farelo.

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a digestibilidade aparente da casca de soja e da polpa cítrica comparando a cinza insolúvel em ácido e o óxido de cromo, como marcadores externos, em ensaios com juvenis de pacu.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalações e material biológico

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, do Centro de Aquicultura da UNESP, Campus de Jaboticabal-SP, por um período de 60 dias.

Foram utilizados 150 juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com peso médio de $63,07 \pm 9,0$ gramas, distribuídos em 15 aquários com capacidade de 75 L de água. Os aquários eram abastecidos continuamente por água proveniente de poço artesiano e aeração contínua. Os parâmetros físico-químicos da água (temperatura, oxigênio dissolvido, pH, amônia e alcalinidade) foram mensurados semanalmente. O regime de iluminação foi de 12 horas com luz e 12 horas sem luz.

As coletas de excretas foram realizadas após cinco dias de alimentação com as três dietas (referência, polpa cítrica e casca de soja), utilizando os marcadores CIA (0,5 e 1%) e o óxido de cromo (1%). Após o período de alimentação os peixes foram conduzidos para aquários cilíndricos de fundo cônico, capacidade de 200 L, com renovação constante e baixa quantidade de água. Utilizou-se para a coleta um tubo acoplado no fundo dos aquários, onde se sedimentavam as excretas, método de Guelph modificado, de acordo com Abimorad e Carneiro (2004).

Ensaio de digestibilidade e dietas

As coletas de excretas foram realizadas após cinco dias de alimentação com as três dietas: referência (Tabela 1), polpa cítrica e casca de soja (Tabela 2), utilizando os marcadores CIA (0,5 e 1%) e o óxido de cromo (1%).

Neste estudo a metodologia consistiu na utilização de uma dieta teste contendo 30% do ingrediente (polpa cítrica ou casca de soja) e 70% de uma dieta referência (Tabela 1).

As excretas foram coletadas por meio de tubos de ensaio acoplados na base dos coletores, em intervalos de 40 minutos, e armazenadas em congelador. As quantidades de excretas dos peixes foram baixas, mas suficiente para a determinação de energia bruta, proteína bruta e dos marcadores.

Foram realizados dois ensaios de digestibilidade pelo método de coleta parcial de excretas: no primeiro foram estudados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes e energia da polpa cítrica, e no segundo da casca de soja.

TABELA 1 - Fórmula e composição da dieta referência

Table 1 - Formulation and composition of the reference diet

Ingredientes <i>Ingredients</i>	(%) da Dieta <i>(%) of Diet</i>
Farinha de peixe <i>Fishmeal</i>	10,00
Farelo de soja <i>Soybean meal</i>	31,00
Milho <i>Corn</i>	26,00
Farelo de trigo <i>Wheat meal</i>	27,00
Óleo de soja <i>Oil Soybean</i>	3,00
Supl. vitamínico e mineral ¹ <i>Supplement vitamin and mineral</i>	1,00
Calcário calcítico <i>Limestone</i>	2,00
Total <i>Total</i>	100,00
Composição calculada² <i>Calculated composition</i>	
Matéria seca <i>Dry matter</i>	89,85
Proteína bruta <i>Crude proteína</i>	26,02
Extrato etéreo <i>Ether extract</i>	6,01
ENN ³ <i>Carbohydrates</i>	43,08
Fibra bruta <i>Crude fiber</i>	5,60
Cálcio <i>Calcium</i>	1,60
Fósforo <i>Phosphorus</i>	0,87
EB (kcal/kg) ⁴ <i>Gross energy</i>	4093,57

¹ Suplemento vitamínico e mineral: Vit. A - 50000 UI; Vit. D₃ - 2000 UI; Vit. E - 50 UI; Vit. K₃ - 10 mg; Vit. C - 150 mg; Vit B₁₂ - 40 mg; Vit. B₁ - 15 mg; Vit. B₂ - 15 mg; Vit. B₆ - 15 mg; Biotina (*Biotin*) - 0,5 mg; ácido fólico - 5 mg; Ácido pantotêmico - 40 mg; Colina 400 mg; Fe, 50 mg; Cu, 5 mg; Mn, 15 mg; Co, 0,1 mg; I, 0,5 mg; Se, 0,1 mg e Zn, 50 mg.

² Composição calculada com base nos dados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do CAUNESP, Jaboticabal, segundo A.O.A.C (1995)

³ Extrato não-nitrogenado.

⁴ Energia bruta.

TABELA 2 - Composição bromatológica dos ingredientes teste

Table 2 - Chemical composition of ingredients test

Análises	Ingredientes (%)	
	Polpa Cítrica	Casca de Soja
MS	85,11	90,18
Cinzas (%MS)	7,63	5,40
PB (%MS)	8,27	11,31
FDN (%MS)	23,81	69,84
FDA (%MS)	17,54	56,67
Lignina (%MS)	3,01	1,98
Amido (%MS)	0,62	2,35
FSDN (%MS)	37,89	12,44
EB (Kcal/Kg)	4,32	4,17

Matéria seca (MS), Cinzas, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, amido, fibra solúvel em detergente neutro (FSDN) e energia bruta (EB) dos ingredientes utilizados das formulações das dietas.

Ao final das coletas as amostras permaneceram 24 horas em estufa de ventilação forçada, a uma temperatura de 55°C. Posteriormente foram processadas em micromoinho, das quais foram retirados escamas e corpos estranhos, deixando-as uniformes e pré-secas. Esse processamento foi realizado no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, do Centro de Aquicultura da UNESP, Campus de Jaboticabal-SP.

Análises laboratoriais

As análises da proteína bruta foram realizadas de acordo com a AOAC (1995) e a determinação de energia bruta em bomba calorimétrica. As concentrações do óxido de cromo foram determinadas conforme Willians et al. (1962) e a CIA conforme método adaptado de Van Keulen e Young (1977).

Marcadores

O óxido de cromo utilizado neste experimento apresentou 98% de pureza de acordo com análise realizada (metodologia de Absorção Atômica) no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. Essa metodologia é proposta por Willians et al. (1962), em que as amostras de alimento e das fezes, pesando aproximadamente 0,7 g e contendo óxido de cromo, foram colocadas em cadinhos, levadas ao forno mufla à 600°C por três horas e transformadas em cinzas. Após esses procedimentos foram realizadas a digestão em banho de areia, as filtragens e as diluições das amostras de cromo na forma de dicromato (Cr_2O_7), depois encaminhadas para leitura em espectrofotômetro de absorção atômica.

A cinza insolúvel em ácido (CIA), fração indigerível presente nas dietas e excretas, foi determinada no Laboratório do Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Jaboticabal, através de determinação gravimétrica, em que se utilizou aproximadamente 0,7 g de amostra, pesadas em tubos cônicos de borossilicato com capacidade para 15 mL. As amostras permaneceram em estufa de secagem por convecção a 80°C durante 12 horas e então foram encaminhadas ao forno mufla com temperatura de 500°C, por 8 horas. Após incineração foi adicionado a cada amostra, 5 mL de ácido hidrolorídrico (4 molL⁻¹) e essas foram levadas ao bloco digestor a 125°C, permanecendo por 30 minutos. As amostras passaram novamente por um procedimento de lavagem, secagem e incineração. Após o esfriamento, se realizou a pesagem da amostra para a determinação da porcentagem de cinza ácida insolúvel.

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) foram estimados por meio da equação proposta por Nose (1966):

$$CDA (\%) = 100 - 100 \left\{ \begin{array}{l} \% \text{ marcador na dieta} \quad \cdot \quad \% \text{ nutriente nas fezes} \\ \% \text{ marcador nas fezes} \quad \cdot \quad \% \text{ nutriente na dieta} \end{array} \right\}$$

Para o cálculo da digestibilidade dos nutrientes dos alimentos estudados foi utilizada a equação abaixo, descrita por Reight et al. (1990):

$$DAN (\%) = (100/30) \cdot [\text{Teste} - (70/100 \cdot \text{Referência})]$$

Onde:

DAN = Digestibilidade Aparente do Nutriente;

Teste = Digestibilidade aparente da proteína e energia presente na dieta teste;

Referência = Digestibilidade aparente da proteína e energia presente na dieta referência.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos (1% de óxido de cromo, 0,5 e 1% de CIA), cinco repetições (aquário com 10 peixes) para cada alimento avaliado. As análises estatísticas foram realizadas por meio do Statistical Analysis System (SAS, 9.0, 2004). As médias foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey (P<0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos valores médios dos parâmetros físico-químicos da água dos aquários e coletores apresentaram valores recomendados para a espécie (BOYD, 1982; SIPAÚBA-TAVARES, 1995; URBINATI; GONÇALVES, 2005) em que a temperatura se manteve em 25,7 ± 0,25°C, o oxigênio dissolvido em 4,8 ± 0,85mg/L, alcalinidade em 154 ± 3,5 mg/L, amônia obteve 0,16 ± 0,09 e pH apresentou valores de 7,62 ± 0,05.

De acordo com a análise estatística (P< 0,05), os coeficientes de digestibilidade não apresentaram diferença significativa entre os marcadores (Celite™ 0,5 e 1% e 1% de óxido de cromo) nas rações com a inclusão da polpa cítrica e da casca de soja, como pode ser observado na Tabela 3:

TABELA 3 - Coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e energia e proteína e energia digestíveis da polpa cítrica e casca de soja utilizando-se a cinza insolúvel em ácido (0,5 e 1%) e o óxido de cromo (1%), como marcadores em estudos com pacu

Table 3 - Coefficient of apparent digestibility of protein and energy and protein and energy digestible of citric pulp and soybean speal using insoluble ash in acid (0,5 and 1%) and chromic oxide (1%) like markers for pacu

Ingredientes	Marcador	DaPB ¹ (%)	DaEB ² (%)	PD ³ (%)	ED ⁴ (Kcal/Kg)
Polpa cítrica	CIA 0,5 %	82,9 ± 6,1	73,2 ± 6,4	6,85	3162
	CIA 1,0 %	80 ± 6,9	69,4 ± 8,2	6,61	2998
	CR ² O ³	75,7 ± 7,6	73,3 ± 2,9	6,26	3166
CV ⁵ %		8,7	8,7		
Casca de soja	CIA 0,5 %	80,1 ± 10,8	54,9 ± 14,9	9,05	2289
	CIA 1,0 %	68,3 ± 6,1	41,7 ± 10,1	7,72	1738
	CR ² O ³	73,2 ± 9,2	52,9 ± 9,7	8,27	2205
CV %		12	29,4		

¹ Digestibilidade aparente da proteína bruta (Apparent digestibility protein);

² Digestibilidade aparente da energia bruta (Apparent digestibility energy);

³ Proteína digestível (Digestible protein);

⁴ Energia digestível (Digestible energy);

⁵ Coeficiente de variação (Coefficient of variation).

Já foi demonstrado anteriormente para a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) que a cinza ácida pode substituir o óxido de cromo, sem alterar a digestibilidade da proteína e da energia (VANDENBERG; DE LA NÖUE, 2001). Gooddard e Mclean (2001), em estudo com tilápias (*Oreochromis áureos*), também não encontraram diferenças significativas entre o óxido de cromo e o Celite™ 0,5 e 1% na determinação dos coeficientes de digestibilidade da proteína e energia bruta.

Embora existam diversas pesquisas com a cinza ácida insolúvel em estudos com animais aquáticos, algumas controvérsias são questionadas em relação a seu uso. Tacon e Rodrigues (1984) encontraram valores significativamente subestimados na digestibilidade da truta (*Salmo gairdneri*) onde os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta das dietas foram significativamente superiores pela utilização do nível de 2,0% de Cr₂O₃ em relação aos níveis de 0,5% e 1,0% de CIA. Morales et al. (1999) observaram na truta arco-íris, que os coeficientes de digestibilidade da proteína bruta e da energia bruta da CIA, foram significativamente superiores aos coeficientes de digestibilidade da ração quando utilizado o óxido de cromo.

Scott e Boldaji (1997) ao comparar a cinza ácida insolúvel e o óxido de cromo para determinar a energia metabólica aparente de dietas à base de trigo e cevada observaram que o óxido de cromo foi menos apropriado em dietas com maiores teores de fibra em aves. Esse trabalho mostra que o cromo apresenta problemas na determinação da digestibilidade em alguns tipos de dietas, e como o Celite já comprovou sua eficiência em diversos estudos, explicaria porque ocorrem resultados controversos em determinados estudos.

A CIA proveniente dos alimentos da dieta foi estudada como marcador endógeno em ensaios de digestibilidade com o tambaqui (*Colossoma macropomum*) por Vidal Jr. et al. (2004), que constataram que ela pode ser utilizada em substituição ao óxido de cromo desde que esteja presente nos ingredientes da ração em teores superiores a 3,8%. No presente estudo foi utilizada uma fonte exógena de CIA para garantir um teor mínimo que permitisse sua determinação para substituição do óxido de cromo, sem comprometer os resultados, uma vez que os ingredientes utilizados nas rações de peixes possuem pequena quantidade de CIA endógeno.

No presente estudo a CIA foi eficiente na avaliação da digestibilidade da polpa cítrica e da casca de soja. Entretanto, os coeficientes para a casca de soja apresentaram variação bastante grande. Esse resultado pode estar relacionado com o alto teor de fibra (FB=30%) desse ingrediente. Existem evidências de que a fibra pode afetar a avaliação da digestibilidade (SHIAU et al., 1988; SCOTT; BOLDAJI, 1997; LANNA et al., 2004). Há, portanto, a necessidade de se conhecer os níveis máximos toleráveis de fibra bruta que devem conter as rações das diferentes espécies de peixes.

CONCLUSÃO

Os dois marcadores avaliados foram adequados para a determinação da digestibilidade aparente da polpa cítrica e da casca de soja para juvenis de pacu. Sendo assim, o óxido de cromo, que é um produto tóxico, pode ser substituído pela CIA, já que esta apresenta menores custos com as análises e resultados confiáveis na determinação da digestibilidade do pacu.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, do Centro de Aquicultura da UNESP, Laboratório de Nutrição Animal (LANA) Campus de Jaboticabal-SP e o Laboratório do Setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Jaboticabal.

REFERÊNCIAS

- ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J. Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração protéica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus*, Holmberg (1887). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 5, p. 1101-1109, 2004.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY – AOAC. **Official methods of analysis**. 16th Arlington: Patricia Cunnif, 1995, p. 1025.
- AUSTRENG, E. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of from different segments of the gastrointestinal tract. **Aquaculture**, v. 13, n. 3, p. 265-272, 1978.
- AUSTRENG, E. et al. Evaluation of selected trivalent metal oxide as inert markers used to estimate apparent digestibility in salmonids. **Aquaculture**, v. 188, n. 1, p. 65-78, 2000.
- BOYD, C. E. **Water quality managements for pond fish culture**: development in Aquaculture and fisheries science. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing, p. 1982.
- De SILVA, S. S. Evaluation of internal and external markers in digestibility studies. In: CHO, C.Y. (Ed.). **Finfish nutrition in Asia, methodological approaches to research and development**. Red. Ottawa: Int. Dev. Research Center, 1985. p. 96-102.
- GOODDARD, J. S.; MCLEAN, E. Acid-insoluble ash as an inert reference material for digestibility studies in tilápia (*Oreochromis aureus*). **Aquaculture**, v. 194, n. 2, p. 93-98, 2001.
- KLONTZ, G. W. Care of fish in biological research. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 11, p. 3485-3492, 1995.
- LANNA, E. A. T. et al. Fibra bruta e óleo em dietas práticas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 2177-2185, 2004. Supl. 3.
- LEAVITT, D. F. An evaluation gravimetric and inert markers techniques to measure digestibility in the American lobster. **Aquaculture**, v. 47, n. 2, p. 131-142, 1985.
- McGOOGAN, B. B.; REIGH, R. C. Apparent digestibility of selected ingredients in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. **Aquaculture**, v. 141, n. 3-4, p. 233-244, 1996.

MORALES, A. E.; CARDENETE, G.; SANZ, A. et al. Re-evaluation of crude fibre and acid-insoluble ash as inert markers, alternative to chromic oxide, in digestibility studies with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 179, n. 1-4, p. 71-79, 1999.

NOSE, T. Recent advances in the study of fish digestion in Japan. In: SYMPOSIUM ON FEEDING TROUT AND SALMON CULTURE, 7., 1966. Belgrade. **Proceedings...** Belgrade: EIFAC, 1966. p. 17.

NUNES, C. S. Avaliação do valor nutricional de fontes de proteína. II – Metodologia in vivo aplicável aos animais monogástricos e aos teleósteos. **Revista Portuguesa Ciências Veterinárias**, v. 91, n. 519, p. 144-151, 1996.

REIGH, R. C.; BRADEN, S. L.; CRAIG, R. J. Apparent digestibility coefficients for common feedstuffs in formulated diets for red swamp crayfish, *procambarus clarkii*. **Aquaculture**, v. 84, n. 3-4, p. 321-334, 1990.

SALES, J.; JANSENS, G. P. J. The use of markers to determine energy metabolizability and nutrient digestibility in avian species. **World Poltry Science**, v. 59, n. 3, p. 314-327, 2003.

SAS INSTITUTE. SAS® user's guide: statistics, versão 8.0. Cary, 2004.

SCOTT, T. A.; BOLDAJI, F. Comparison of inert markers (chromic oxide or insoluble ash (Celite™)) for determining apparent metabolizable energy of wheat-or barley-based broiler diets with or without enzymes. **Poltry Science**, v. 76, n. 9, p. 594-598, 1997.

SHIAU, S. Y. et al. The influence of carboxymethylcellulose on growth, digestion, gastric emptying time and body composition of tilapia. **Aquaculture**, v. 70, n. 4, p. 345-354, 1988.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aquicultura**. Jaboticabal: FUNEP, 1995.

SMITH, R. R.; PETERSON, M. C.; ALLRED, A. C. Effect of leaching on apparent digestion coefficients of feedstuffs for salmonids. **The Progressive Fish Culturist**, v. 42, n. 2, p. 195-199, 1980.

TACON, A. G. J.; RODRIGUES, A. M. P. Comparison of chromic oxide, crude fibre, polyethylene and acid-insoluble ash as dietary markers for the estimation of apparent digestibility coefficients in rainbow trout. **Aquaculture**, v. 43, n. 4, p. 391-399, 1984.

URBINATI, E. C.; GONÇALVES, F. D. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**, Santa Maria: UFSM, 2005, p. 225-226.

VANDENBERG, G. W.; NOÛE, J. D. L. Apparent digestibility comparison in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) assessed using three methods of feces collection and three digestibility markers. **Aquaculture**, v. 7, n. 4, p. 237-245, 2001.

VAN KEULEN, J.; YOUNG, B. A. Evaluation of acid-insoluble ash as natural marker in ruminant digestibility studies. **Journal Science**, v. 44, n. 2, p. 282-287, 1977.

VIDAL Jr., M. V. et al. Determinação da digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta do fubá de milho e do farelo de soja para tambaqui (*Colossoma macropomum*), utilizando-se técnicas com uso de indicadores internos e externos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 2193-2200, 2004.

VOGTMANN, H.; PFIRTER, H. P.; PRABUCKI, A. L. A new method of determining metabolizability of energy and digestibility of fatty acids in broiler diets. **British Poultry Science**, v. 16, p. 531-534, 1974.

WILLIAMS, C. H.; DAVID, D. J.; IISMAA, O. The determination of chromic oxide in feces samples by atomic absorption spectrophotometry. **Journal Agriculture Sciences**, v. 59, n. 3, p. 381-385, 1962.

Recebido: 25/02/2008
Received: 02/25/2008

Aprovado: 25/08/2008
Approved: 08/25/2008