

CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DE JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) ALIMENTADOS COM RAÇÕES CONTENDO FARINHA DE FOLHA DE LEUCENA (*Leucaena leucocephala*)

Geraldo Pereira JUNIOR¹, Manoel Pereira FILHO², Elenice Martins BRASIL², Paula de Sousa BARBOSA²

1 Instituto Federal do Rio de Janeiro. Curso Técnico em Agropecuária - Campus Nilo Peçanha. Pinheiral, Rio de Janeiro, Brasil.

2 Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Coordenação de Pesquisas em Aqüicultura. Manaus, Amazonas, Brasil.

*Autor para correspondência: geraldoinpa@hotmail.com

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar as características hematológicas de juvenis de tambaqui alimentados com rações contendo farinha de folha de leucena. O estudo foi conduzido seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos (0%, 8%, 16% e 24% de inclusão de farinha de folha de leucena) e três repetições. Foram distribuídos 250 juvenis de tambaqui com peso inicial médio de 41,1 g, em 12 caixas plásticas redondas. Após 60 dias de cultivo, seis peixes por tratamento foram capturados e anestesiados para a coleta de sangue da veia caudal e determinação dos parâmetros hematológicos. Os resultados mostraram que a inclusão de farinha de folha de leucena nas rações alterou significativamente ($p < 0,05$) os parâmetros hematológicos (hematócrito, eritrócito, hemoglobina, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média e glicose plasmática) dos peixes nos diferentes tratamentos. A conclusão desta pesquisa é que a inclusão de farinha de folha de leucena em rações para juvenis de tambaqui comprometeu as características hematológicas desta espécie.

Palavras chave: Fisiologia, hematologia, nutrição de peixes, piscicultura.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the hematological characteristics of juvenile tambaqui fed diets containing leucaena leaf meal. The study was conducted following a completely randomized design with four treatments (0%, 8%, 16% and 24% inclusion of leucaena leaf meal) and three replications. 250 tambaqui were distributed with an average initial weight of 41.1 g, 12 round plastic boxes. After 60 days of cultivation, six fish per treatment were captured and anesthetized for blood collection from the tail vein for analysis of hematological parameters. The results showed that the inclusion of leucaena leaf meal in diets significantly ($p < 0.05$) hematological parameters (hematocrit, erythrocyte, hemoglobin, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin concentration and plasma glucose) of fish in different treatments. The conclusion of this research is that the inclusion of leucaena leaf meal in diets for juvenile tambaqui committed hematological characteristics of this species.

Keywords: physiology, hematology, fish nutrition, fish farming.

1 Introdução

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é um peixe teleósteo de água doce, nativo das bacias dos rios Amazonas, Orinoco e seus afluentes (GÉRY, 1977). Esta espécie pode chegar a 20 kg de peso, sendo considerado o segundo maior peixe de escama da região amazônica (GRAEF, 1995), perdendo apenas para o pirarucu (*Arapaima gigas*). O tambaqui possui hábito alimentar onívoro com tendência a frugívoro, alimentando-se em ambiente natural de zooplânctons, insetos, moluscos, frutas e sementes, dependendo da disponibilidade destes alimentos e da época do ano (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998). Em cativeiro esta espécie aceita bem rações comerciais e subprodutos agroindustriais (GRAEF, 1995), sendo esta uma das características favoráveis ao cultivo do tambaqui. Outras características que destacam este peixe na piscicultura nacional são: sua rusticidade (VAL e HONCZARYK, 1995), rápido crescimento com boa conversão alimentar (SILVA *et al.*, 2003), boa qualidade de sua carne (ROUBACH *et al.*, 2003) e aceitação pelo mercado consumidor (BATISTA e PETRERE JÚNIOR, 2003).

Para se conseguir bons resultados em cultivos comerciais de peixes o alimento fornecido para as espécies devem conter todos os nutrientes necessários para o bom desenvolvimento (PEREIRA FILHO, 1995). Entretanto é necessário controlar os custos com a alimentação dos peixes, que podem corresponder de 60 a 80% dos custos totais de produção (ROTTA, 2002). Geralmente, o nutriente mais caro em dietas para organismos aquáticos é a proteína, sendo sua principal fonte a farinha de peixe, que possui um custo elevado quando comparado aos ingredientes proteicos de origem vegetal (SANTOS *et al.*, 2009). Neste sentido, muitas pesquisas têm sido realizadas objetivando a substituição total ou parcial da farinha de peixe por ingredientes proteicos de origem vegetal (PIAIA e RADUNZ NETO, 1997; FERNANDES *et al.*, 2000; GALDIOLI *et al.*, 2002; MEDRI *et al.*, 2005). Mas é necessário que outras fontes proteicas de origem vegetal sejam avaliadas em dietas para peixes comerciais.

A leucena (*Leucaena leucocephala*) é uma leguminosa originária da América Central, México, sendo encontrada em muitas regiões tropicais do mundo (SILVA *et al.*, 2007). Trata-se de uma espécie arbustiva, perene, que apresenta raízes profundas, característica que lhe confere excelente tolerância à seca, sendo considerada uma planta bastante rústica (PRATES *et al.*, 2000). Além da rusticidade, as possibilidades de uso desta espécie contribuíram para sua ampla dispersão. A leucena é utilizada na recuperação de áreas degradadas, adubação verde, produção de madeira, produção de carvão vegetal, sombreamento e quebra vento (OLIVEIRA, 2008). Entretanto, o grande destaque desta planta é a sua utilização na alimentação de animais ruminantes e monogástricos (ALMEIDA *et al.*, 2006; ARRUDA *et al.*, 2010).

Porém a leucena possui um aminoácido não proteico, conhecido como mimosina, que é um fator antinutricional inibidor competitivo da produção do hormônio Tiroxina (ALMEIDA *et al.*, 2006), produzido na tireoide. Por este motivo, o uso desta leguminosa tem sido limitado na alimentação de algumas espécies animais monogástricos (OLIVEIRA *et al.*, 2000). Entretanto, a quantidade de mimosina na folha de leucena pode ser reduzida com o tratamento térmico do material (TANGENDJAJA *et al.*, 1994). Estudos demonstraram que é possível utilizar a leucena como fonte de proteína para ruminantes (BARRETO *et al.*, 2010) e para monogástricos (MUTAYOBA *et al.*, 2003; ARRUDA *et al.*, 2010), proporcionando aumento na produtividade.

Na literatura podemos encontrar relatos de que o potencial nutritivo da folha de leucena em dietas para peixes é conflitante. Melhora no crescimento e desempenho de peixes alimentados com ração contendo folha de leucena foi relatado para espécies de tilápia (GHATNEKAR *et al.*, 1982;

SANTIAGO *et al.*, 1988; SEGUNDO *et al.*, 2006) e para *Labeorohita* (BAIRAGI *et al.*, 2004). Por outro lado, piora no desempenho zootécnico de peixes alimentados com dietas contendo leucena foi reportada para espécies de tilápia (JACKSON *et al.*, 1982; WEE e WANG, 1987) e carpa comum (MOHIRE e DEVARAJ, 1990; HASAN *et al.*, 1997).

Uma das maneiras de se investigar o estresse que a dieta pode impor aos peixes é através das variáveis hematológicas (TAVARES-DIAS e MORAES, 2003), sendo esta uma ferramenta importante para se avaliar a utilização de ingredientes alternativos em rações para peixes. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar as características hematológicas de juvenis de tambaqui alimentados com rações contendo farinha de folha de leucena.

2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido no galpão experimental da Coordenação de Pesquisas em Aquicultura – CPAQ/INPA, no período de outubro até dezembro de 2005, com duração de 60 dias.

Durante o período experimental foram aferidos os parâmetros de qualidade da água, sendo realizadas a cada sete dias, medidas de amônia ([média ± desvio]), nitrito ([média ± desvio]), gás carbônico, dureza ([média ± desvio]) e alcalinidade ([média ± desvio]), através dos métodos de colorimetria (amônia e nitrito) e titulação (gás carbônico, dureza e alcalinidade). A cada dois dias os teores de oxigênio dissolvido foi avaliado por meio de um oxímetro digital e as medidas de temperatura ([média ± desvio]) e pH ([média ± desvio]) foram aferidas com um peagâmetro digital.

Foram utilizados 250 juvenis de tambaqui, com peso médio inicial de $41,1 \pm 4,83$ g (média ± DP), distribuídos em 12 unidades experimentais, em um delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições. As rações foram formuladas de modo a serem isoprotéicas (32% PB) e isocalóricas (3500 kcal ED/kg), com níveis crescentes (0, 8, 16 e 24%) de inclusão de farinha de folha de leucena, correspondendo aos tratamentos controle, I, II e III, respectivamente.

Tabela 1. Composição percentual dos ingredientes e características nutritivas das dietas experimentais com níveis crescentes de inclusão de farinha de folha de leucena.

Ingredientes	Níveis de inclusão de farinha de folha de leucena (%)			
	0	8	16	24
Farinha de peixe	36,0	33,0	31,0	28,0
Milho	27,0	43,0	40,0	30,0
Farelo de trigo	34,0	7,0	0,0	1,0
Farelo de glúten de milho	0,0	6,0	8,0	10,0
Óleo de soja	2,0	2,0	4,0	6,0
Farinha de folha de leucena	0,0	8,0	16,0	24,0
Premix	1,0	1,0	1,0	1,0
Total	100,0	100,0	100,0	100,0

Nutrientes	Níveis de inclusão de farinha de folha de leucena (%)			
	0	8	16	24
Matéria seca (%)	92,5	91,5	91,7	91,6
Proteína bruta (%)	30,5	32,8	33,1	35,3
Extrato etéreo (%)	6,6	6,4	7,6	8,7
Cinzas (%)	7,1	5,5	5,3	5,4
Fibra bruta (%)	3,9	2,6	4,2	4,4
ENN (%)	44,4	44,2	41,5	37,8
Energia bruta (Kcal/kg) *	4168	4270	4289	4364
EB:PB	13,6	13,0	12,95	12,3

Ms = Matéria seca; PB = Proteína bruta; EE = Extrato etéreo; FB = Fibra bruta; ENN = Extrativo não nitrogenado.
*Calculado segundo NRC 1996

Para secagem das folhas, o material vegetal foi colocado em uma estufa a uma temperatura de 40 °C, durante 24 horas. Após a desidratação, os folíolos foram retirados e moídos em moedor de carne, com matriz fina de 6 mm.

Para elaboração das rações experimentais, os ingredientes foram moídos individualmente em um moedor de carne, com matriz fina de 1 mm. Posteriormente, os ingredientes foram misturados, umedecidos e processados em moedor de carne, com matriz de 6 mm, para a formação dos peletes. Para secagem, foi usada uma estufa com circulação forçada de ar, a temperatura constante de 30 °C. As rações foram acondicionadas em sacos plásticos de 2 kg e mantidas em freezer a 5 °C negativos.

Para aferir a homogeneidade dos animais experimentais, foi realizada ao início do experimento, uma biometria tomando-se o peso em grama, com uma balança eletrônica com 0,5 g de precisão. Posteriormente foi realizado um sorteio, para distribuição aleatória dos juvenis de tambaqui nos aquários experimentais, onde receberam os tratamentos a que foram submetidos.

Para adaptação às condições experimentais, os peixes foram alimentados com uma dieta controle contendo 32% de proteína bruta, durante uma semana. Após esta fase, os animais foram submetidos a um jejum de 24 horas e, posteriormente, alimentados duas vezes ao dia (8:30 e 16:30 h) com a ração experimental, até a saciedade aparente.

Após o período de alimentação foi realizada coleta de sangue de 6 peixes de cada unidade experimental. Para reduzir os efeitos de estresse durante a manipulação dos peixes, foi usada uma solução com anestésico, 100 mg/L de benzocaína (GOMES *et al.*, 2001). Amostras de sangue foram coletadas através de punção da veia caudal, utilizando-se seringas com EDTA 10%, destinadas à determinação das seguintes análises: hematócrito (Ht), realizado em tubos de microhematócrito após centrifugação; concentração de hemoglobina [Hb] pelo método da cianometahemoglobina, utilizando o reagente de Drabkin; contagem de eritrócitos (RBC) e leucócitos (WBC) em câmara de Neubauer, utilizando o reagente de NATT e HERRICK (1952); volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), utilizando os valores absolutos de Ht, [Hb] e RBC; glicose plasmática por métodos enzimático-colorimétricos e proteínas totais por método colorimétrico utilizando o reagente de biureto.

Para avaliar os efeitos dos tratamentos foi usada a análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, sendo utilizado o aplicativo estatístico SYSTAT.

3 Resultados

Os parâmetros de qualidade da água analisados não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 2), estando os valores dentro da faixa de conforto para o tambaqui (KUBTIZA, 2003).

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos da água, durante o período experimental (média e desvio padrão)

Parâmetros	Níveis de inclusão de farinha de folha de leucena (%)			
	0	8	16	24
Oxigênio (mg/L)	5,7 ± 0,2	5,5 ± 0,1	5,7 ± 0,1	6,0 ± 0,4
Temperatura (°C)	28,2 ± 0,0	28,2 ± 0,0	28,2 ± 0,0	28,0 ± 0,0
Cond. Elétrica (µS/cm)	23,3 ± 0,6	23,8 ± 0,7	23,5 ± 0,5	23,6 ± 0,3
pH	5,2 ± 0,0	5,3 ± 0,0	5,3 ± 0,0	5,2 ± 0,0
Amônia (mg/L)	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
Nitrito (mg/L)	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

Os valores correspondentes aos parâmetros hematológicos estão representados na Tabela 3. O hematócrito apresentou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) nos tratamentos em que os animais receberam 8, 16 e 24% de farinha de folha de leucena na ração em relação aos peixes do tratamento controle (0% de farinha de folha de leucena na ração). O número de eritrócitos teve uma diminuição significativa ($p < 0,05$) no tratamento em que os peixes receberam 16% de farinha de folha de leucena na ração, quando comparado aos demais tratamentos. Já as concentrações de hemoglobina corpuscular média e hemoglobina apresentaram diminuição significativa ($p < 0,05$) nos peixes que se alimentaram com ração contendo 24% de farinha de folha de leucena. A avaliação das proteínas totais dos peixes nos diferentes tratamentos não demonstrou diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 3. Parâmetros hematológicos de juvenis de tambaqui (*Collossoma macropomum*), após o período experimental (média e desvio padrão)

Parâmetros Sanguíneos	Níveis de inclusão de farinha de folha de leucena (%)			
	0	8	16	24
Hematócrito (%)	34,25 ± 2,86 ^a	27,42 ± 1,69 ^b	24,83 ± 4,1 ^b	26,00 ± 4,56 ^b
Eritrócitos (x10 ⁶ /μL)	1,82 ± 0,21 ^a	1,87 ± 0,22 ^a	1,42 ± 0,21 ^b	1,64 ± 0,39 ^{ab}
Hemog.(mg/dL)	9,49 ± 1,65 ^{ab}	8,53 ± 1,02 ^{ab}	9,85 ± 3,98 ^a	6,21 ± 1,33 ^b
VCM (μm ³ /cel)	188,66 ± 7,36 ^a	147,84 ± 9,15 ^b	174,96 ± 10,15 ^{ac}	160,74 ± 19,05 ^{cb}
CHCM (%)	27,80 ± 5,08 ^{ab}	31,27 ± 4,67 ^{ab}	40,16 ± 18,58 ^a	23,78 ± 2,21 ^b
Leucócitos (x10 ³ /μL)	30,67 ± 3,78 ^a	38,50 ± 5,65 ^b	25,33 ± 3,78 ^a	29,83 ± 5,88 ^a
Glicose (mg/dL)	46,48 ± 7,78 ^a	43,25 ± 2,65 ^a	43,84 ± 7,26 ^a	64,23 ± 14,31 ^b
Prot. totais (mg/dL)	1,30 ± 0,28	1,02 ± 0,16	1,08 ± 0,12	1,15 ± 0,20

4 Discussão

É muito importante que seja levado em consideração o estado fisiológico dos peixes nos estudos que avaliam a possibilidade de substituição total ou parcial dos ingredientes tradicionalmente utilizados em rações por ingredientes alternativos. Atenção especial tem sido dada às respostas hematológicas de peixes alimentados com dietas artificiais (BARROS *et al.*, 2002; CHAGAS e VAL, 2003; FERRARI *et al.*, 2004), sendo essa uma ferramenta importante para se avaliar a eficiência das dietas em ambiente de cultivo (AFFONSO *et al.*, 2007). Através dos parâmetros hematológicos pode-se estimar a condição nutricional do peixe (TAVARES-DIAS *et al.*, 2002), sendo a homeostase biológica um indicativo de boa condição nutricional.

Apesar de o tambaqui ser caracterizado como onívoro, podendo aproveitar uma ampla gama de alimentos vegetais (GOULDING, 1980), observou-se neste estudo alterações nos parâmetros hematológicos dos peixes com a inclusão de farinha de folha de leucena na ração. Todas as variáveis estudadas pioraram, com exceção de proteínas totais, na medida em que foi incluída farinha de folha de leucena na ração. A ração contendo 24% de farinha de folha de leucena proporcionou aos peixes uma condição de hiperglicemia, que é um indicativo de estresse fisiológico.

Os resultados observados nesta pesquisa podem estar relacionados com a presença de mimosina na farinha de folha de leucena. Este aminoácido é um inibidor competitivo do hormônio tiroxina, que é fundamental para o metabolismo dos lipídios, carboidratos e proteínas, sendo imprescindível para a manutenção do bom estado fisiológico dos animais.

5 Conclusão

As características hematológicas de juvenis de tambaqui foram comprometidas com a inclusão de farinha de folha de leucena na ração.

6 Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM pela bolsa de estudos e suporte financeiro para execução do projeto. Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA pelo auxílio estrutural.

7 Referências Bibliográficas

AFONSO, E. G.; SILVA, E. C.; TAVARES-DIAS, M.; MENEZES, G. C.; CARVALHO, C. S. M.; NUNES, E. S. S.; ITUASSÚ, D. R.; ROUBACH, R.; ONO, E. A.; FIM, J. D. I.; MARCON, J. L. Effect of high levels of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 147, p. 383-388, 2007.

ALMEIDA, A. P.; KOMMERS, G. D.; NOGUEIRA, A. P.; MARQUES, B. P.; LEMOS, R. A. Avaliação do efeito tóxico de *Leucaena leucocephala* (Leg. Mimosoideae) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, p. 190-194, 2006.

ARAÚJO-LIMA, C.; GOULDING, M. **Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. MCT-CNPQ. Brasília; 1998.

ARRUDA, A. M. V.; MELO, A. S.; OLIVEIRA, V. R. M.; SOUZA, D. H.; DANTAS, F. D. T.; OLIVEIRA, J. F. Avaliação nutricional do feno de leucena com aves caipiras. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, p. 162-167, 2010.

BAIRAGI, A.; GHOSH, K. S.; SEM, S. K.; RAY, A. K. Evaluation of the nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *Labeo rohita*. **Aquaculture Research**, v. 35, p. 436-446, 2004.

BARRETO, M. L. J.; LIMA-JÚNIOR, D. M.; OLIVEIRA, J. P. F.; RANGEL, A. H. N. AGUIAR, E. M. Utilização de leucena (*Leucaena leucocephala*) na alimentação de ruminantes. **Revista Verde**, v. 5, p. 7-16, 2010.

BARROS, M. M.; PEZATO, L. E.; KLEEMANN, G. K.; HISANO, H.; ROSA, G. J. M. Níveis de vitamina C e Ferro para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 2149-2156, 2002.

BATISTA, V. S.; PETRERE JÚNIOR, M. Characterization of the commercial fish production landed at Manaus, Amazonas State, Brazil. **Acta Amazônica**, v. 33, p. 53-66, 2003.

CHAGAS, E. C.; VAL, A. L. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 397-402, 2003.

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, p. 646-653, 2000.

FERRARI, J. E. C.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; GONÇALVES, G. S.; HISANO, H. Níveis de cobre em dietas para tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*. **Acta Scientiarum Animal Science**, v. 26, p. 429 – 436, 2004.

- GALDIOLI, E. M.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, R. B.; FARIA, A. C. E. A. Substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de canola em rações para alevinos de Curimatá (*Prochilodus lineatus* V.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 552-559, 2002.
- GÉRY, J. **Characoids of the world**. Neptune: Tropical fish Hobbyist; 1977.
- GHATNEKAR, S. D.; AUTI, D. G.; KAMAT, V. S. Feeding *Leucaenaleucocephala* Mozambique tilapia and Indian major carp. **Australian Veterinary Journal**, v. 52, p. 257-268, 1982.
- GOULDING, M. **The fish and the forest**. Explorations in Amazonian Natural History. University of California Press, Los Angeles; 1980.
- GRAEF, E. W. **As espécies de peixes com potencial para criação no Amazonas**. In: Val L.A, Honczark A (Editors), Criando peixes na Amazônia. Manaus: INPA; 1995. p 29-43
- HASAN, M. R.; MACINTOSH, D. J.; JAUNCEY, K. Evaluation of some plant ingredients as dietary protein sources for common carp (*Cyprinus carpio*) fry. **Aquaculture**, v. 151, p. 55-70, 1997.
- JACKSON, A. J.; CAPPER, B. S.; MATTY, A. J. Evaluation of some plant proteins in complete diets for the tilapia *Sarotherodon mossambicus*. **Aquaculture**, v. 27, p. 97-109, 1982.
- KUBITZA, F. **Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões**. Jundiá; 2003.
- MEDRI, V.; MEDRI, W.; FILHO, M. C. Desempenho de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes níveis de proteína de levedura de destilaria em tanques-rede. **Acta Scientiarum**, v. 27, p. 221-227, 2005.
- MOHIRE, K. L.; DEVARAJ, K. V. Supplemental feeds containing subabul leaf meal for rearing common carp. **Aquaculture Research**, v. 34, p. 93-95, 1990.
- MUTAYOBA, S. K. MUTAYOBA, B. M.; OKOT, P. The performance of growing pullets fed diets with varying energy and leucaena leaf meal levels. **Livestock Research for Rural Development**, v. 15, p. 139-148, 2003.
- NATT, M. P.; HERRICH, C. A. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science**, v. 31, p. 735-738, 1952.
- OLIVEIRA, A. B. Germinação de semente de leucena (*Leucaenaleucocephala*). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, p. 166-172, 2008.
- OLIVEIRA, P. B.; MURAKAMI, A. E.; GARCIA, E. R. M. Influência de fatores antinutricionais da leucena (*Leucaenaleucocephalae Leucaenacunningans*) e do feijão guandu (*Cajanus cajan*) sobre o epitélio intestinal e o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 1759-1769, 2000.

PEREIRA-FILHO, M. **Alternativas para a alimentação de peixes em cativeiro**. In: Val L.A, Honczark A (Editors), Criando peixes na Amazônia. Manaus: INPA; 1995.p 75-82.

PIAIA, R.; RADUNZ NETO, J. Efeito de níveis crescentes de levedura de álcool em rações contendo fígado bovino sobre a performance de larvas de jundiá *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, v. 27, p. 313-317, 1997.

PRATES, H. T.; PAES, J. M. V.; PIRES, M. N.; PEREIRA-FILHO, I. A.; MAGALHÃES, P. C. Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 62-68, 2000.

ROTTA, M. A. **Use of energy and protein for fish**. Corumbá: Embrapa Pantanal; 2002.

ROUBACH, R.; CORREIA, E. S.; ZAIDEN, S.; MARTINO, R. C.; CAVALLI, R. O. Aquaculture in Brazil. **World Aquaculture**, v. 34, p. 28-34, 2003.

SANTIAGO, C. B.; ALDABA, M. B.; LARON, M. A.; REYES, O. S. Reproductive performance and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock fed diets containing *Leucaena leucocephala* leaf meal. **Aquaculture**, v. 70, p. 53-61, 1988.

SANTOS, E. L.; LUDKE, L. M.; RAMOS, A. M.; BARBOSA, J. M.; LUDKE, J. B.; RABELO, C. B. Digestibilidade de subprodutos da mandioca pela tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Ciência Rural**, v. 4, p. 358-362, 2009.

SEGUNDO, L. F. L.; ARARIPE, M. N. B. A.; LOPES, J. B. Substituição do farelo de soja pelo feno de leucena na alimentação de alevinos de tilápia. **Revista Científica Produção Animal**, v. 8, p. 28-34, 2006.

SILVA, L. X.; FIGUEIREDO, M. V. B.; SILVA, G. A.; GOTO, B. T.; OLIVEIRA, J. P.; BURITY, H. A. Fungos micorrízicosarbusculares em áreas de plantio de leucena e sabiá no estado de Pernambuco. **Revista Árvore**, v. 31, p. 76-82, 2007.

SILVA, J. A. M.; PEREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M. I. Frutos e sementes consumidos pelo tambaqui, *Collossoma macropomum* (Cuvier, 1818) incorporados em rações. Digestibilidade e velocidade de trânsito pelo trato gastrointestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 1815-1824, 2003.

TANGENDAJA, B.; LOWRY, J. B.; WILLS, R. B. H. Optimisation of conditions for the degradation of mimosine in *Leucaena leucocephala* leaf. **Science Food Agricola**, v. 35, p. 613-616, 1994.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. Características hematológicas da *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em "Pesque-Pague" de Franca, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**, v.19, p. 103-110, 2003.

TAVARES-DIAS, M.; MATAQUEIRO, M. I.; PERECIN, D. Total leukocyte counts in fishes by direct or indirect methods. **Boletim Instituto de Pesca**, v. 28, p. 155-161, 2002.

VAL, A. L.; HONCZARYK, A. **Creating fish in the Amazon**. Manaus: Amazonas; 1995.

WEE, K. L.; WANG, S. S. Nutritive value of Leucaena leaf meal in pelleted feed for Nile tilapia. *Aquaculture*, v. 62, p. 97-108, 1987.