

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Veterinária

Programa de Pós-graduação em Zootecnia

Camila Gomes de Oliveira

**USO DE FARINHA DE LARVAS DE INSETO PARA TILÁPIA-DO-NILO**  
***(Oreochromis niloticus)***

Belo Horizonte

2022

Camila Gomes de Oliveira

**USO DE FARINHA DE LARVAS DE INSETO PARA TILÁPIA-DO-NILO**  
**(*Oreochromis niloticus*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Zootecnia. Área de concentração: Produção e Nutrição Animal.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Paula Adriane Perez Ribeiro

Coorientador: Prof. Leandro Santos Costa

Belo Horizonte

2022

O48u Oliveira, Camila Gomes de ,1991 -  
Uso de farinha de larvas de inseto para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) / Camila Gomes de Oliveira. – 2022.  
108f.

Orientadora: Paula Adriane Perez Ribeiro

Coorientador: Leandro Santos Costa.

Tese (Doutorado) apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do título de Doutora em Zootecnia.

Área de concentração: Produção e Nutrição animal.

Bibliografia: f. 27 a 38.

1. Peixe – Alimentação e rações - Teses - 2. Aquicultura - Teses - 3. Tilápia – Peixes - Teses  
I. Ribeiro, Paula Adriane Perez – II. Costa, Leandro Santos - III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – IV. Título.

**CDD – 636.085**

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569  
Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA  
**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**USO DE FARINHA DE LARVAS DE INSETO PARA TILÁPIA-DO-NILO**  
*(Oreochromis niloticus)*

**CAMILA GOMES DE OLIVEIRA**

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia **onze de abril de dois mil e vinte dois**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais, constituída pelos seguintes professores:

**Dr. Rodrigo Fortes da Silva**

Universidade Federal de Viçosa (UFV)

**Dr. Renan Rosa Paulino**

Universidade Federal de Lavras (UFLA)

**Dra. Welliene Moreira dos Santos**

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Mato Grosso (IFMT)

**Dr. Galileu Crovatto Veras**

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

**Paula Adriane Perez Ribeiro - Orientadora**

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Belo Horizonte, 11 de abril de 2022.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico a conclusão dessa etapa  
aos meus pais Maria Aparecida e José  
Ao meu irmão Renato

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço minha mãe, Maria Aparecida, por ser um exemplo de persistência e dedicação. Devido aos seus esforços consegui concluir meus estudos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo projeto aprovado pela chamada universal 2018 número 422284/2018-1.

À Bioclin pelos kits doados para análises bioquímicas.

À minha orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dra. Paula Adriane Perez Ribeiro e ao meu coorientador Prof. Dr. Leandro Santos Costa pelos ensinamentos, amizade e contribuições para minha formação profissional. Agradeço também por toda dedicação para desenvolver pesquisas científicas em tempos tão difíceis.

Aos membros da banca de defesa Prof. Dr. Galileu Crovatto Veras, Prof. Dr. Renan Rosa Paulino, Prof. Dr. Rodrigo Fortes da Silva e Prof.<sup>a</sup> Dra. Welliene Moreira dos Santos por terem aceitado participar da banca e contribuir com o trabalho.

Aos professores da graduação e pós-graduação pelas contribuições profissionais.

A todos funcionários da UFMG que nos auxiliam durante toda trajetória acadêmica.

À equipe de nutrição do Laboratório de Aquacultura, em especial ao Pedro Gamarano, Verônica Prado e Débora Freiras pelo suporte durante a execução do experimento durante toda pandemia.

Aos colegas do Laboratório de Aquacultura da UFMG (Laqua) por toda troca de conhecimento e disponibilidade em ajudar.

Aos amigos que fiz durante toda minha trajetória acadêmica André Lima, Amanda Hastenreiter, Angélica Ferreira, Camila Paranhos, Deliane Costa, Gabriela Pires, Gabriel Teixeira, Isabela Torres, João Paulo Lorenzini, Luanna Neves, Raphael Bahiense e Walisson Silva pelos momentos de apoio, alegrias e troca de conhecimento

Aos amigos que fiz durante a vida Arthur Calais, Anna Luisa Melo, Gabriela Goes e Nathan Augusto por todo o carinho e momentos inesquecíveis de risadas que foram um alívio nessa caminhada.

À Gabriela Souza e família por ter me presenteado com um curso preparatório para ingressar na universidade. Vocês foram essenciais para que eu chegasse até aqui.

A todos que de alguma forma me ajudaram durante minha caminhada.

Muito Obrigada!

*“A educação é o nosso passaporte para  
o futuro, pois, o amanhã só pertence  
ao povo que prepara o hoje.”*

Malcom X

## RESUMO

Nos últimos anos, ocorreu aumento na demanda por fontes de proteína alternativas à farinha de peixe em dietas para animais aquáticos. Nesse sentido, a farinha de inseto tem se mostrado uma potencial fonte proteica. Portanto, objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de dietas contendo farinhas de mosca soldado-negro (*Hermetia illucens*), mosca doméstica (*Musca domestica*) e a combinação de ambas, sobre o desempenho, bioquímica sanguínea, composição corporal e morfometria intestinal de juvenis de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*). O trabalho foi subdividido em três experimentos independentes. Em cada ensaio foram utilizados 240 juvenis de tilápia, alojados em 16 aquários (40 L), mantidos em sistema de recirculação água. Foram fornecidas quatro dietas aos animais, contendo 0, 33, 66 e 100% de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de inseto (mosca soldado-negro, mosca doméstica e uma combinação das duas farinhas). No primeiro experimento, o peso final e ganho de peso diário apresentou menores valores quando os animais foram alimentados com 100% de substituição de farinha de peixe por farinha de mosca soldado-negro ( $P < 0,05$ ). A taxa de crescimento específico, sobrevivência, IHS, a morfometria intestinal, glicose, creatinina, proteína total, HDL, LDL, AST e ALT não foram afetados ( $P > 0,05$ ). Os peixes que receberam o tratamento controle demonstraram menores valores de índice viscerossomáticos em relação aos demais tratamentos ( $P < 0,05$ ). A proteína total e a umidade apresentaram maiores valores nos animais do tratamento sem farinha de mosca soldado negro ( $P < 0,05$ ). O extrato etéreo aumentou de acordo com o aumento da substituição ( $P < 0,05$ ). O colesterol total, triglicerídeos e albumina apresentaram menores valores quando ocorreu a substituição total da farinha de peixe por farinha de mosca soldado-negro ( $P < 0,05$ ). No segundo experimento utilizando farinha de mosca doméstica, o peso final, ganho de peso diário e taxa de crescimento específico foram reduzidos quando os animais foram alimentados com 100% de substituição de farinha de peixe por farinha de inseto ( $P < 0,05$ ). O extrato etéreo foi mais elevado quando os animais foram alimentados com 100% de substituição ( $P < 0,05$ ). A largura da vilosidade aumento no tratamento com 66% de substituição ( $P < 0,05$ ). A sobrevivência, índices somáticos, glicose, creatinina, proteína bruta, umidade, altura das vilosidades, proteína total, albumina, HDL, LDL, AST e ALT não foram diferentes significativamente ( $P > 0,05$ ). Os parâmetros de colesterol total e triglicerídeos foram menores quando os animais receberam 100% de substituição da farinha de peixe por farinha de mosca doméstica ( $P < 0,05$ ). No terceiro experimento utilizando o *blend* de inseto,

o peso final, ganho de peso diário e taxa de crescimento específico foram reduzidos quando os animais foram alimentados níveis acima de 66% de substituição de farinha de peixe por *blend* de inseto ( $P < 0,05$ ). Os índices viscerossomáticos foi alto no tratamento com a substituição total ( $P < 0,05$ ). O extrato etéreo foi mais aumentou de acordo com os níveis de substituição ( $P < 0,05$ ). A proteína total e a umidade foram mais elevadas apenas quando ocorreu 100% de substituição da proteína da farinha de peixe pelo *blend* de inseto ( $P > 0,05$ ). A sobrevivência, IHS, largura e altura das vilosidades, glicose, creatinina, proteína total, HDL, AST e ALT não foram diferentes significativamente ( $P > 0,05$ ). Os parâmetros de colesterol total e triglicérides foram menores quando os animais receberam 66% de substituição da farinha de peixe por farinha de mosca doméstica ( $P < 0,05$ ). A albumina e LDL séricos foram menores para os tratamentos com 66 e 100% de substituição. Concluímos que, as três farinhas de inseto (MSN, MD e *Blend*) podem ser utilizadas para juvenis de tilápia-do-Nilo.

Palavras-chaves: farinha de inseto, nutrição, proteína, peixe.

## ABSTRACT

In recent years, there has been an increased demand for alternative protein sources to fishmeal in diets for aquatic animals. In this sense, insect meal has shown to be a potential protein source. Therefore, the objective of this study was to evaluate the influence of diets containing black soldier fly (*Hermetia illucens*), housefly (*Musca domestica*) meal and a combination of both, on the performance, blood biochemistry, body composition and intestinal morphometry of juvenile nilotic tilapia (*Oreochromis niloticus*). The work was subdivided into three independent experiments. In each trial, 240 tilapia juveniles were used, housed in 16 tanks (40 L), maintained in a water recirculation system. The animals were fed four diets, containing 0, 33, 66 and 100% protein replacement of fishmeal with protein from insect larvae meal (black soldier fly, housefly and a combination of the two meals). In the first experiment, the final weight and daily weight gain showed lower values when the animals were fed with 100% replacement of fishmeal by black soldier fly meal ( $P < 0.05$ ). The specific growth rate, survival, IHS, intestinal morphometry, glucose, creatinine, total protein, HDL, LDL, AST and ALT were not affected ( $P > 0.05$ ). Fish receiving the control treatment showed lower viscerosomatous index values compared to the other treatments ( $P < 0.05$ ). Total protein and moisture showed higher values in the animals of the treatment without black soldier fly meal ( $P < 0.05$ ). The etheral extract increased according to the increase of substitution ( $P < 0.05$ ). Total cholesterol, triglycerides and albumin showed lower values when total replacement of fish meal by black soldier fly meal occurred ( $P < 0.05$ ). In the second experiment using house fly meal, final weight, daily weight gain and specific growth rate were reduced when animals were fed with 100% replacement of fish meal by insect meal ( $P < 0.05$ ). Etheral extract was higher when animals were fed 100% replacement ( $P < 0.05$ ). The villus width increased in the treatment with 66% replacement ( $P < 0.05$ ). Survival, somatic indices, glucose, creatinine, crude protein, moisture, villus height, total protein, albumin, HDL, LDL, AST and ALT were not significantly different ( $P > 0.05$ ). The total cholesterol and triglyceride parameters were lower when the animals received 100% replacement of fish meal with house fly meal ( $P < 0.05$ ). In the third experiment using insect blend, the final weight, daily weight gain and specific growth rate were reduced when the animals were fed levels above 66% replacement of fishmeal by insect blend ( $P < 0.05$ ). The viscerosomatic indices was high in the treatment with total replacement ( $P < 0.05$ ). Ether extract was higher according to the replacement levels ( $P < 0.05$ ) Total protein and moisture were higher only when there was 100% replacement of fishmeal protein by insect blend ( $P > 0.05$ ). Survival,

IHS, villus width and height, glucose, creatinine, total protein, HDL, AST and ALT were not significantly different ( $P > 0.05$ ). Total cholesterol and triglyceride parameters were lower when animals received 66% fish meal replacement with housefly meal ( $P < 0.05$ ). Serum albumin and LDL were lower for the treatments with 66 and 100% replacement. It is concluded that, the three insect meal (BSF, MD and Blend) can be used for juvenile tilapia do-Nilo.

Keywords: insect meal, nutrition, protein, fish.

---

LISTA DE TABELAS

---

**1º ARTIGO**

Tabela 1. Dietas experimentais e do <i>blend</i> de inseto.....	43
Tabela 2. Valores médios ( $\pm$ desvio padrão) de desempenho e índices somáticos de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca soldado-negro ( <i>Hermetia illucens</i> ), durante 61 dias.....	47
Tabela 3. Valores médios ( $\pm$ desvio padrão) de composição da carcaça de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca soldado-negro ( <i>Hermetia illucens</i> ), durante 61 dias. Valores expressos com base na matéria seca.....	47
Tabela 4. Valores médios ( $\pm$ desvio padrão) das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca soldado-negro ( <i>Hermetia illucens</i> ), durante 61 dias.....	48
Tabela 5. Valores médios ( $\pm$ desvio padrão) das variáveis sérica de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca soldado-negro ( <i>Hermetia illucens</i> ), durante 61 dias.....	49

**2º ARTIGO**

Tabela 1. Composição das dietas experimentais da farinha de inseto.....	66
Tabela 2. Valores médios ( $\pm$ desvio padrão) de desempenho de juvenis tilápia alimentados com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca doméstica na dieta.....	69

Tabela 3. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) da composição centesimal na carcaça de juvenis tilápia, alimentados com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca doméstica na dieta. Valores expressos com base na matéria seca..... 69

Tabela 4. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) das vilosidades intestinais de juvenis tilápia alimentados com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca doméstica na dieta..... 70

Tabela 5. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) variáveis séricas de juvenis tilápia alimentados com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca doméstica na dieta..... 71

### 3º ARTIGO

Tabela 1. Dietas experimentais e do *blend* de inseto..... 89

Tabela 2. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) desempenho e índices somáticos de tilápias alimentadas com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína de um *blend* de farinhas de inseto na dieta..... 92

Tabela 3. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) da composição corporal de tilápias alimentadas com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína de um *blend* de farinhas de inseto na dieta..... 92

Tabela 4. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) das vilosidades intestinais de tilápias alimentadas com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína de um *blend* de farinhas de inseto na dieta..... 93

Tabela 5. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) das variáveis séricas de tilápias alimentadas com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína de um *blend* de farinhas de inseto na dieta..... 94

---

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\mu\text{m}$	Micrómetro
ALT	Alanina Aminotransferase
ANOVA	Análise de variância
AOAC	Association of Official Analytical
AST	Aspartato Aminotransferase
BHT	Hidroxitolueno butilado
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEUAP-UFV	Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
FAO	Food and agriculture organization
FP	Farinha de Peixe
$\text{g Kg}^{-1}$	Grama por Quilo
GPD	Ganho de Peso Diário
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IHS	Índice Hepatosomático
IVS	Índice Viscerosomático
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
MD	Mosca Doméstica
$\text{mg L}^{-1}$	Miligrama por Litro
$\text{mg dL}^{-1}$	Miligrama por Decilitro
$\text{MJ kg}^{-1}$	Microjoules por Quilo
MSN	Mosca soldado-negro
PF	Peso Final
pH	Potencial Hidrogeniônico
TCE	Taxa de Crescimento Específico
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFLA	Universidade Federal de Lavras
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFV	Universidade Federal de Viçosa
ALT	Alanina Aminotransferase

---

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	18
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1. Tilápia-do-Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) .....	19
2.2. Desafios no uso de fontes proteicas em dietas para peixes .....	19
2.3. Farinha de inseto .....	21
2.3.1. <i>Desempenho e composição corporal</i> .....	22
2.3.2. <i>Vilosidades intestinais</i> .....	24
2.3.3. <i>Parâmetros sanguíneos</i> .....	25
3. OBJETIVOS .....	26
3.1. Objetivo geral.....	26
3.2. Objetivos específicos.....	27
4. REFERÊNCIAS.....	27
5. 1º ARTIGO .....	39
5.1. Resumo.....	40
5.2. Introdução.....	41
5.3. Material e métodos .....	42
5.3.1. <i>Dietas</i> .....	42
5.3.2. <i>Ensaio experimental</i> .....	43
5.3.3. <i>Desempenho zootécnico</i> .....	44
5.3.4. <i>Coleta de amostras</i> .....	44
5.3.5. <i>Composição de carcaça</i> .....	45
5.3.6. <i>Morfometria intestinal</i> .....	45
5.3.7. <i>Análises sanguíneas</i> .....	45
5.3.8. <i>Estatística</i> .....	46
5.4. Resultados .....	46
5.4.1. <i>Desempenho</i> .....	46
5.4.2. <i>Composição corporal</i> .....	47
5.4.3. <i>Morfometria intestinal</i> .....	48
5.4.4. <i>Parâmetros sanguíneos</i> .....	48
5.5. Discussão.....	49
5.6. Conclusão.....	52
5.7. Agradecimentos.....	53
5.8. Referências .....	53

6.	2º ARTIGO .....	62
6.1.	Resumo.....	63
6.2.	Introdução.....	64
6.3.	Material e métodos .....	65
6.3.1.	<i>Dietas experimentais</i> .....	65
6.3.2.	<i>Coleta de amostras</i> .....	66
6.3.3.	<i>Parâmetros zootécnicos</i> .....	67
6.3.4.	<i>Bioquímica sanguínea</i> .....	67
6.3.5.	<i>Composição de carcaça</i> .....	67
6.3.6.	<i>Morfometria intestinal</i> .....	67
6.3.7.	<i>Estatística</i> .....	68
6.4.	Resultados .....	68
6.4.1.	<i>Desempenho</i> .....	68
6.4.2.	<i>Composição de carcaça</i> .....	69
6.4.3.	<i>Morfometria intestinal</i> .....	70
6.4.4.	<i>Bioquímica sanguínea</i> .....	70
6.5.	Discussão.....	71
6.6.	Conclusão .....	74
6.7.	Agradecimentos.....	74
6.8.	Referências .....	74
7.	3º ARTIGO .....	85
7.1.	Resumo.....	86
7.2.	Introdução.....	87
7.3.	Material e métodos .....	88
7.3.1.	<i>Ensaio experimental</i> .....	88
7.3.2.	<i>Dietas experimentais</i> .....	89
7.3.3.	<i>Coleta de amostras</i> .....	90
7.3.4.	<i>Composição de carcaça</i> .....	90
7.3.5.	<i>Bioquímica sanguínea</i> .....	90
7.3.6.	<i>Histologia intestinal</i> .....	91
7.3.7.	<i>Análise estatística</i> .....	91
7.4.	Resultados .....	91
7.4.1.	<i>Desempenho</i> .....	91
7.4.2.	<i>Composição de carcaça</i> .....	92
7.4.3.	<i>Vilosidades intestinais</i> .....	92

7.4.4. <i>Bioquímica sanguínea</i> .....	93
7.5. Discussão.....	94
7.6. Conclusão .....	97
7.7. Agradecimentos.....	98
7.8. Referências .....	98
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	108

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A produção aquícola em escala comercial no Brasil é uma atividade relativamente recente, obtendo status profissional apenas a partir de 1970, devido ao desenvolvimento das técnicas de manejo (FAO, 2009). Os pequenos produtores representam a maior parcela da produção, sendo as fazendas caracterizadas por lagoas com menos de 2 ha. A produção de peixes em 2021, no Brasil, atingiu o patamar de 841.005 toneladas, representando o crescimento de 4,7%, em relação a 2020 (802.930 t) (Peixe BR, 2022). Atualmente, a tilápia-do-Nilo é uma espécie de alto interesse no mercado nacional e mundial. É a terceira espécie mais cultivada no mundo (FAO, 2020) e a principal do Brasil (Peixe BR, 2022). Devido a sua alta produção, pesquisas relacionadas à nutrição são de extrema importância, sendo esse setor é responsável pela maior parte dos custos de produção, além de impactar diretamente no desenvolvimento do animal.

Para que os animais aproveitem as dietas de forma eficiente é importante que haja uma correlação entre as características fisiológicas, hábito alimentar e exigência nutricional de cada espécie, juntamente com a composição química e disponibilidade de nutrientes dos ingredientes (Meurer et al., 2003). Nesse contexto, as rações para peixes requerem altos níveis proteicos para que os animais consigam formar tecido muscular e ganhar peso. A farinha de peixe é um ingrediente proteico amplamente utilizado nas formulações de dietas para peixes, em função de seu elevado valor nutricional. No entanto, devido às variações na produção desse ingrediente, associado ao aumento de preço no mercado, substituintes vêm sendo pesquisados para a formulação das rações (Barroso et al., 2014).

A farinha de inseto se mostrou uma alternativa à farinha de peixe na dieta de animais terrestres e aquáticos (Quang Tran et al., 2022). Isso acontece devido ao seu perfil nutricional adequado (Makkar et al., 2014; Nogales-Mérica et al., 2018), com elevados valores de proteína e lipídios (Arru et al., 2019) e potencial viabilidade de produção em escala comercial (Veldkamp e Bosch, 2015; Hua et al., 2019; Quang Tran et al., 2022). Além disso, a produção de insetos gera baixo impacto ecológico, sendo possível serem criados em locais pequenos e com pouca necessidade de água (van Huis, 2013; Henry et al., 2015).

Desta forma, embora nos últimos anos tenha despertado o interesse pela utilização das farinhas de inseto na alimentação animal, ainda são necessários mais estudos para melhor compreensão de como esse ingrediente pode impactar no desenvolvimento dos peixes em cativeiro.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

Existem indícios da produção de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) em cativeiro há mais de 4 mil anos, nos tempos do antigo Egito. Ao longo dos anos houve uma intensa distribuição dessa espécie pelo mundo, porém, apenas em 1971 ocorreu a introdução da espécie no Brasil. A partir do desenvolvimento de técnicas que permitiram a masculinização dos animais utilizando hormônio, tornou-se possível a produção de populações monossexo, melhorando a uniformidade dos lotes (FAO, 2009). Essa técnica de cultivo evita que os animais em cativeiro utilizem a energia obtida para reprodução, disponibilizando-a para o crescimento (Sayed e Moneeb, 2015). Tais fatores, associados ao desenvolvimento de pesquisas relacionadas à nutrição, condições de cultivo, desenvolvimento de mercado e avanços no processamento, resultaram no aumento da produção a partir de 1980 (FAO, 2009).

Devido ao alto grau de avanços nas pesquisas com nutrição e meios de produção de tilápia-do-Nilo, essa espécie apresenta grande potencial econômico (Fujimura e Okada, 2007). Atualmente, a tilápia é uma espécie onívora de grande interesse, sendo que, sua produção em 2018 foi de 4,5 milhões de toneladas, representando 8,3% da produção total mundial (FAO, 2020). Em 2021 a produção brasileira de tilápia foi de 534.005, representando 63,5% do total produzido no país (Peixe BR, 2022). Esse fato acontece devido às características dessa espécie, como tolerância às condições adversas de cultivo, sobrevivência em baixo nível de oxigenação, além de apresentar crescimento rápido em sistemas intensivos (6 a 8 meses de cultivo), excelente conversão alimentar e apresentam carne de boa qualidade (Coward e Bromage, 2000; Asad et al., 2010; Vicente et al., 2014; Sayed e Moneeb, 2015).

Neste cenário, o desenvolvimento da produção de uma espécie impacta diretamente na demanda por ingredientes que possam ser utilizados nas formulações das dietas. No caso de animais aquáticos, as fontes de proteína representam um grande percentual nas dietas. Portanto, pesquisas sobre esses ingredientes são de grande interesse na aquicultura.

### **2.2. Desafios no uso de fontes proteicas em dietas para peixes**

As rações são responsáveis por fornecer nutrientes aos peixes para crescimento rápido, sobrevivência e manutenção da saúde dos animais saudáveis. São responsáveis por cerca de 30 a 70% do custo operacional de um sistema aquícola (Moraes e Almeida, 2014; Hodar et al., 2020). As dietas fornecidas para animais aquáticos podem apresentar na composição

farinha e óleo de peixe, pois consiste em fonte de alto valor nutricional. Em 2018, cerca de 88% (158 milhões de toneladas) da produção mundial de peixes foi destinado ao consumo humano. Das 22 milhões de toneladas restantes, cerca de 18 milhões foram destinadas à produção de farinha e óleo de peixe (FAO, 2020). No entanto, esse ingrediente é limitante para produção, uma vez que a redução progressiva na sua oferta, associada à alta demanda para manter a expansão constante da indústria aquícola, gera aumento no preço de mercado (Bossier e Ekasari, 2017; Gasco et al., 2018; Arru et al., 2019; FAO, 2020). Conseqüentemente, a farinha de peixe teve sua qualidade reduzida ao longo dos anos, o que resultou na confecção desse ingrediente utilizando subprodutos, sendo estimado que 25 a 35% do volume total da farinha de peixe e óleo de peixe sejam obtidos a partir de subprodutos (FAO, 2020). Por esses motivos, nas últimas décadas estudos estão focados na diminuição das proporções de farinha de peixe nas dietas (Tacon et al., 2011; Turchini et al., 2018; Quang Tran et al., 2022).

A utilização de outras fontes de proteína de origem animal na alimentação de peixes é restringida pela composição das diferentes farinhas, em virtude da deficiência de alguns aminoácidos, possibilidade de contaminação microbiana que resulta na transferência de doenças, sazonalidade na produção e potencial poluente (Musyoka et al., 2019). Por essas razões, o uso de fontes vegetais na substituição parcial ou total, com ênfase no farelo de soja, tem sido uma alternativa mais econômica para as rações, apresentando teor proteico adequado (Li e Luo, 2011). Contudo, esses ingredientes podem apresentar limitações à inclusão nas rações, como alto teor de fibras e polissacarídeos não amiláceos, deficiência de aminoácidos sulfurosos (metionina e cisteína), baixa palatabilidade, além da presença de fatores antinutricionais (inibidores de tripsina, hemaglutina e antivitaminas), que podem comprometer a integridade intestinal dos animais (Gai et al., 2012; Henry et al., 2015; Oliva-Teles et al., 2015; Gasco et al., 2018; Arru et al., 2019).

Portanto, tem se intensificado as pesquisas com foco em ingredientes alternativos, que possibilitem o aumento das opções de fontes proteicas para que possam ser utilizadas nas formulações de rações como substitutos da farinha de peixe, de forma sustentável, e que estejam disponíveis no mercado, gerando pouco impacto ao meio ambiente.

### 2.3.Farinha de inseto

Atualmente, os insetos são considerados uma das fontes de proteína animal promissoras para a produção de rações (Premalatha et al., 2011; Sánchez-Muros et al., 2014; Gasco et al., 2020). A utilização de insetos como insumo proteico para dietas de organismos aquáticos tem como vantagem não competição com as fontes de alimentos para humanos (Hua et al., 2019). A farinha de inseto se mostra potencial por esses animais fazerem parte da dieta natural de peixes de água doce e marinhos e, portanto, podem apresentar composição nutricional adequada (Howe et al., 2014; Whitley e Bollens, 2014; Henry et al., 2015). A composição do inseto varia de acordo com o estágio de vida, condições de criação e substratos utilizados (Henry et al., 2015). Por esse motivo, pode se utilizar como estratégia a modulação do perfil nutricional do inseto, permitindo que possíveis deficiências como, por exemplo, de aminoácidos essenciais ou minerais, sejam compensadas por meio da suplementação na dieta desses animais (Gasco et al., 2020).

Devido a sua composição e técnicas de produção, a maioria dos insetos estudados para utilização nas formulações de dietas para peixes estão presentes em três ordens: Coleópteros (*Tenébrio molitor* e *Zophoba morio*, por exemplo); Diptera (*Hermetia illucens* e *Musca doméstica*, por exemplo) e Ortópteros, como o *Gryllus assimilis*. De forma geral, as farinhas de inseto têm alto teor proteína bruta (entre 35 e 70%) (Barroso et al., 2014). O perfil de aminoácidos essenciais é adequado às exigências dos peixes, o teor lipídico pode variar de 8 a 35%, a depender do processo de extração (Arru et al., 2019) que deve ser utilizado em farinhas com alto teor de lipídios, além disso tem presença de vitaminas e minerais (van Huis, 2013; Henry et al., 2015). Os insetos da ordem Orthoptera são os que apresentam maiores concentrações de proteína (60 a 70%), no entanto, deve-se considerar que esses animais, quando adultos, apresentam altos teores de quitina em sua composição. Já os da ordem Diptera apresentam níveis proteicos em torno de 35 a 50% e perfil de aminoácidos semelhantes ao da farinha de peixe (Barroso et al., 2014).

Além da composição favorável, os insetos crescem e se reproduzem com alta taxa de eficiência alimentar, podem ser criados em bioresíduos (Collavo et al., 2005), além de apresentar ciclo de vida curto (Hua et al., 2019). As larvas de inseto conseguem transformar dejetos orgânicos de baixa qualidade em fertilizantes de melhor qualidade (van Huis et al., 2013). O resultado final desse eficiente sistema de bioconversão é uma quantidade abundante de larvas ou pré-pupas (Sheppard et al., 1994; Newton et al., 2005). No entanto, para que os

insetos sejam utilizados na alimentação animal é necessário que ocorra uma produção significativa e estável, de forma a tornar seus preços competitivo no mercado (Sánchez-Muros et al., 2014; Arru et al., 2019; Hua et al., 2019). A produção da farinha de inseto encontra-se em desenvolvimento, sendo que há relatos de utilização principalmente para frangos. Por tanto, ainda existe se faz necessário o desenvolvimento da indústria para gerar preços competitivos e que esse ingrediente seja adicionado nas dietas. Além disso, ocorre grande variação no preço do quilo. Deve-se também investir em estratégias de *marketing* que mostrem que os insetos podem ser uma opção ambientalmente correta (Arru et al., 2019; Hua et al., 2019). Pode-se ressaltar, ainda, que a combinação de fontes múltiplas de proteína em dietas para peixes pode ser uma abordagem estratégica para manutenção da sustentabilidade ambiental das dietas na aquicultura (Quang Tran et al., 2022).

### 2.3.1. *Desempenho e composição corporal*

As pesquisas relacionadas à utilização dos insetos em dietas para peixes têm se concentrado, sobretudo, em três espécies de inseto mosca soldado-negro (*Hermetia illucens*), mosca doméstica (*Musca domestica*) e tenébrio (*Tenebrio molitor*) (Veldkamp e Bosch, 2015; Hua et al. 2019), com ênfase na sua substituição total ou parcial por ingredientes na dieta. Mastoraki et al. (2020) realizaram um comparativo sobre os efeitos da substituição de 30% farinha de peixe por farinha de larva de *Tenebrio molitor*, *Hermetia illucens* ou *Musca domestica* (19,5% de inseto e 45,5% de farinha de peixe), para robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*). O consumo diário foi igual para todos os tratamentos, indicando boa palatabilidade das dietas. Além disso, não foram verificados efeitos negativos das farinhas de inseto no crescimento. Belghit et al. (2019) avaliaram 0%, 4,91%, 9,84% e 14,75% de mosca soldado-negro (10%, 6,67%, 3,33% e sem farinha de peixe) para salmão do atlântico (*Salmo salar*) e verificaram que o desempenho dos animais não foi influenciado pelo aumento do nível de farinha de inseto na dieta. A farinha de larvas de mosca soldado-negro nos níveis 0%, 10%, 20% e 30% (decrecendo a farinha de peixe de 60%, 54%, 48% e 42,0%) também foi estudada para truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, sem prejuízos para o crescimento dessa espécie (Terova et al., 2019). Renna et al. (2017) avaliaram os efeitos da farinha de mosca soldado-negro parcialmente desengordurada, para truta arco-íris, concluindo que a farinha de peixe pode ser substituída por farinha de larvas do inseto em até 50% (40% de farinha de inseto e 30% de farinha de peixe), sem efeitos negativos sobre o desempenho, índices somáticos e morfologia intestinal.

A farinha de larvas de *Hermetia illucens* também foi estudada para tilápia-do-Nilo, em quatro níveis 0%, 9,25%, 18,50% e 37,90 (37%, 27,75%, 18,5% e sem concentrado proteico de soja) (Dietz e Liebert, 2018). Nesta situação, foi verificado que o crescimento das tilápias foi semelhante em todos os tratamentos, no entanto, a conversão alimentar e a taxa de eficiência proteica foram afetadas negativamente para animais alimentados com altos teores da farinha de inseto na dieta. Tippayadara et al. (2021) avaliaram, para a mesma espécie, a substituição da farinha de mosca soldado-negro na farinha de peixe e observaram que nenhum dos níveis testados (0%, 1,0%, 2,0%, 4,0%, 6,0%, 8,0% e 10,0% e a farinha de peixe decrescendo nos mesmos níveis) causaram problemas de crescimento dos peixes. Além disso, os níveis de 4,0 e 6,0% de farinha de inseto na dieta promoveram aumento na atividade da lisozima no muco dos animais, sendo que essa enzima pode atuar na proteção contra doenças infecciosas. Já Wang et al. (2017) utilizaram 0, 11, 22, 33 e 43% de farinha de mosca doméstica (36%, 27%, 18%, 9,0% e sem farinha de peixe) em dietas para tilápias, e reportaram que a utilização de até 33% foi palatável e digestível para tilápia. Porém, o maior nível causou redução no desempenho dos animais.

A utilização da farinha de inseto pode causar alterações na composição corporal dos animais. As diferenças nos teores de proteína bruta e lipídios na composição corporal de peixes estão relacionadas às modificações nas rotas metabólicas de síntese, que podem alterar a deposição da proteína e lipídios teciduais, com conseqüente reflexo no crescimento (Abdel-Tawwab et al., 2006; Abdel-Tawwab et al., 2020). Belforti et al. (2015) avaliaram o uso de larvas de tenébrio em 0, 25 e 50% (decrescendo a farinha de peixe de 75 a 25%) para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), observando que a composição centesimal do músculo desses animais foi afetada pelos níveis de inseto na dieta. A inclusão da farinha de inseto na dieta diminuiu os teores de extrato etéreo e matéria seca, enquanto o teor de proteína bruta aumentou. Já para juvenis de robalo (*Dicentrarchus labrax*) foram testados níveis semelhantes, sem que houvesse influência sobre a proteína, extrato etéreo e matéria seca corporal dos animais (Gasco et al. 2016). Esse fato também foi confirmado para a mesma espécie, segundo Abdel-Tawwab et al. (2020).

Alves et al. (2021) estudaram a utilização na dieta de níveis crescentes de 0, 15 e 30% de farinha de *Zophobas morio* (farelo de soja decrescendo de 19,5%, 9,75% e 0%) e relacionaram o aumento na concentração de lipídios na composição corporal aos níveis de ácidos graxos saturados, presentes na farinha de inseto, que podem induzir a lipogênese. O aumento de ácidos graxos saturados no corpo inteiro, músculo e hepatopâncreas foi relatado para juvenis de carpa (*Cyprinus carpio var*), quando alimentados com níveis de farinha de

larvas de mosca soldado-negro variando de 3,5 a 14% (farinha de peixe decrescendo de 7,5 até 0%) (Zhou et al., 2018).

Alguns estudos atribuem as alterações no desempenho e composição corporal dos peixes à presença de quitina nas farinhas de inseto. A quitina é derivada do exoesqueleto desses animais que, quando em altas porcentagens, pode ser prejudicial, pois muitas espécies não conseguem digerir esse componente, com reflexo negativo no seu desempenho (Henry et al., 2015). Outro fator, é que a quitina apresenta alta capacidade de ligação com as proteínas, prejudicando a digestão desse nutriente. Sendo assim, a digestibilidade das proteínas e aminoácidos desse ingrediente pode variar, dependendo do quanto estão ligados à quitina ou escleroproteínas (Finke, 2007; Nogales-Mérida et al., 2019). Além disso, a quitina pode interferir na ação de enzimas na borda em escova, que decompõem os peptídeos em aminoácidos livres no intestino anterior e médio (Belghit et al., 2018; Quang Tran et al., 2022). Estudos mostram que algumas espécies de peixes podem apresentar atividade de quitinase no estômago e quitobiase no intestino, o que tornaria as proteínas e aminoácidos disponíveis para absorção (Lindsay, 1984; Nogales-Mérida et al., 2019). A quantidade de quitina na dieta pode ser reduzida através de processamentos químicos e enzimáticos (Henry et al., 2015). No entanto, foi relatado na literatura possíveis efeitos benéficos da quitina, devido ao estímulo de células da imunidade inata dos animais (Lee et al., 2008; Gasco et al., 2018).

### 2.3.2. *Vilosidades intestinais*

A morfologia do trato digestivo é dependente da espécie e do hábito alimentar (Al-Hussaini, 1949; Hoffmann et al., 2021). A estrutura intestinal dos peixes está relacionada, ainda, à dieta do peixe (Karachle e Stergiou, 2010; Hoffmann et al., 2021). As vilosidades intestinais são as principais áreas de absorção de nutrientes, sendo que o aumento da área está associado ao aumento da capacidade de absorção e utilização dos nutrientes (Dimitroglou et al., 2009; Zhou et al., 2010; Guerreiro et al., 2016; Xu et al., 2020), devido à ação enzimática digestiva mais eficiente e maior transporte de nutrientes (Tufarelli et al., 2010; Renna et al., 2017). Além disso, existe uma relação entre o aumento do comprimento das vilosidades e o aumento da população bacteriana benéfica no intestino (Renna et al., 2017). Rawski et al. (2021) observaram o aumento da altura das vilosidades intestinais em esturjão (*Acipenser baerii*), quando alimentaram os animais com 30% de mosca soldado-negro (10,1% de farinha de peixe) na dieta, associado a melhorias no desempenho. No entanto, para juvenis

de truta marinha (*Salmo trutta m. trutta*) o uso de mosca soldado-negro na dieta não causou nenhuma alteração na altura das vilosidades (Hoffmann et al., 2021).

Já Xu et al. (2020) verificaram que quando juvenis de carpa (*Cyprinus carpio var*) foram alimentados com a substituição total da farinha de peixe pela farinha de mosca soldado-negro (nível de 17,47%) na dieta ocorreu uma redução da altura e área das vilosidades intestinais quando comparado a aqueles animais que não receberam a farinha de inseto na dieta. A redução da altura e da área das vilosidades pode ocasionar na redução da absorção de nutrientes, diminuindo a resistência a doenças (Xu et al., 2003; Xu et al., 2020).

### 2.3.3. Parâmetros sanguíneos

A análise de metabólitos séricos é uma ferramenta útil para estimar o estado nutricional e bem-estar dos peixes cultivados (Mastoraki et al., 2020). A proteína total sérica é considerada um importante indicador nutricional para peixes, por participar de diversas reações no organismo (McCarthy et al., 1973). As variações nas concentrações de proteína total no soro sanguíneo podem representar uma série de alterações fisiológicas, por exemplo, lesão tecidual e resposta do organismo a condições de estresse (Panettieri et al., 2020; Hossain et al., 2021). Por exemplo, vários elementos humorais do sistema imunológico são representados pelas proteínas totais, albuminas e globulinas (Prabu, 2016). Além disso, uma diminuição da proteína circulante pode estar associada a alterações no metabolismo proteico e aminoácidos livres e sua síntese no fígado (Amin e Hashem, 2012).

A glicose é um substrato importante para produção de energia nos tecidos, como por exemplo no cérebro. A percepção de alterações nos níveis de glicose circulante é importante para o bom funcionamento dos tecidos (Levin et al., 2004; Polakof, 2011; Polakof et al., 2012). Aumentos na glicemia sanguínea são consequência de diversos fatores, como alterações osmorregulatória sazonais, presença de agentes estressores e mudanças na composição da dieta. Já a diminuição da glicose circulante pode ser resultado de jejum e atuação de hormônios como a insulina, por exemplo (Polakof et al., 2012).

A creatinina é um produto do metabolismo de proteínas, que pode ser excretada pelos rins (Narra et al., 2017; Hong et al., 2019). Quando ocorre comprometimento no tecido renal, a creatinina tende a acumular no organismo, sendo assim, o aumento desse metabólito pode indicar dano à função renal (Sano, 1962; Garba et al., 2007; Narra et al., 2017; Hong et al., 2019).

O transporte de componentes lipossolúveis do intestino para os tecidos periféricos é feito por meio de lipoproteínas. A LDL (lipoproteína de baixa densidade) faz o transporte do colesterol do fígado para células extra-hepáticas, enquanto a HDL (lipoproteína de alta densidade) retira o excesso de colesterol e o transporta para o tecido hepático, em geral (Nelson e Cox, 2002). Portanto, mudanças nos valores séricos desses componentes e dos triglicerídeos estão associadas ao metabolismo lipídico. Alguns trabalhos que avaliaram a farinha de inseto em dietas para peixes têm relatado que pode ocorrer uma diminuição nas concentrações de colesterol total e triglicerídeos circulantes (Magalhães et al., 2017; Li et al., 2017; Khosravi et al., 2018; Wang et al., 2019; Mikołajczak et al., 2020). Esse fato pode ser ocasionado pela presença de quitina na dieta, que se liga aos ácidos biliares e ácidos graxos livres (Hossain e Blair, 2007; Gasco et al., 2018; Marono et al., 2017; Mikołajczak et al., 2020).

As aminotransferases estão envolvidas na síntese de proteínas. Além disso, são consideradas biomarcadores de saúde hepática, quando mensuradas no sangue, sendo que quando AST (aspartato aminotransferase) ou ALT (alanina aminotransferase) estão elevadas, podem indicar danos às células do fígado (Belghit et al., 2019). Para o salmão do Atlântico (*Salmo salar*), a atividade de AST diminuiu com a inclusão de farinha de mosca soldado-negro na dieta, indicando que a substituição parcial ou completa não gera efeitos negativos, sugerindo que a farinha de inseto pode contribuir para um efeito protetor no fígado no salmão (Belghit et al., 2019).

Diante do exposto, as variáveis bioquímicas sanguíneas se tornam uma ferramenta importante para auxiliar no entendimento dos possíveis impactos das alterações na proteína das dietas dos peixes, sobre o seu desenvolvimento e manutenção de sua integridade, em especial do uso de farinhas de inseto em substituição às fontes proteicas tradicionais.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Avaliar a influência da inclusão de farinhas de mosca soldado-negro (*Hermetia illucens*), mosca doméstica (*Musca domestica*) e a combinação de ambas, em substituição à farinha de peixe, em dietas para juvenis de tilápia (*Oreochromis niloticus*), sobre o desempenho, bioquímica sanguínea, composição corporal e morfometria intestinal dos animais.

### 3.2. Objetivos específicos

Avariando os efeitos da farinha de mosca soldado-negro, mosca doméstica e a mistura dessas farinhas sobre:

- O desempenho zootécnico, por meio da determinação do peso final, ganho de peso, sobrevivência e taxa de crescimento específico dos juvenis de tilápia;
- Os índices hepatossomático e vicerossomático dos peixes;
- A bioquímica sanguínea, por meio da determinação dos teores de glicose, creatinina, colesterol total, HDL, LDL, triglicerídeos, proteína total, AST, ALT e albumina no soro de juvenis de tilápia;
- A composição corporal dos animais, mensurando-se teores de proteína bruta, extrato etéreo, matéria seca e umidade;
- A morfometria intestinal, pela da altura e largura das vilosidades dos peixes.

## 4. REFERÊNCIAS

- Abdel-Tawwab, M., Khalil, R.H., Metwally, A.A., Shakweer, M.S., Khallaf, M.A., Abdel-Latif, H.M.R., 2020. Effects of mosca soldado-negro (*Hermetia illucens* L.) larvae meal on growth performance, organs-somatic indices, body composition, and hemato-biochemical variables of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 522, 735136. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735136>
- Abdel-Tawwab, M., Khattab, Y.A.E., Ahmad, M.H., Shalaby, A.M.E., 2006. Compensatory growth, feed utilization, whole-body composition, and hematological changes in starved Juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *J. Appl. Aquac.* 18, 17–36. [https://doi.org/10.1300/J028v18n03\\_02](https://doi.org/10.1300/J028v18n03_02)
- AL-Hussaini, A.H., 1949. On the Functional Morphology of the Alimentary Tract of Some Fish in Relation to Differences in their Feeding Habits: Anatomy and Histology. *J. Cell Sci.* s3-90, 109–139. <https://doi.org/10.1242/jcs.s3-90.10.109>

- Alves, A.P. D.C., Paulino, R.R., Pereira, R.T., da Costa, D.V., Rosa, P.V., 2021. Nile tilapia fed insect meal: Growth and innate immune response in different times under lipopolysaccharide challenge. *Aquac. Res.* 52, 529–540. <https://doi.org/10.1111/are.14911>
- Amin, K. A., Hashem, K. S., 2012. Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol. *BMC Vet. Res.* 8(1), 1-8.
- Arru, B., Furesi, R., Gasco, L., Madau, F.A., 2019. The Introduction of Insect Meal into Fish Diet: The First Economic Analysis on European Sea Bass Farming. *Sustainability* 11, 1–16. <https://doi.org/10.3390/su11061697>
- Asad, F., Ahmed, I., Saleem, M., Iqbal, T., 2010. Hormonal masculinization and growth performance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by androgen administration at different dietary protein levels. *Int. J. Agric. Biol.* 12, 939–943.
- Barroso, F.G., de Haro, C., Sánchez-Muros, M.J., Venegas, E., Martínez-Sánchez, A., Pérez-Bañón, C., 2014. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422–423, 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.024>
- Belforti, M., Gai, F., Lussiana, C., Renna, M., Malfatto, V., Rotolo, L., De Marco, M., Dabbou, S., Schiavone, A., Zoccarato, I., Gasco, L., 2015. *Tenebrio molitor* meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: Effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets. *Ital. J. Anim. Sci.* 14, 670–676. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4170>
- Belghit, I., Liland, N.S., Gjesdal, P., Biancarosa, I., Menchetti, E., Li, Y., Waagbø, R., Krogdahl, Å., Lock, E.J., 2019. Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea-water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 503, 609– 619. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2018.12.032>

- Belghit, I., Liland, N.S., Waagbø, R., Biancarosa, I., Pelusio, N., Li, Y., Krogdahl, Å., Lock, E.J., 2018. Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 491, 72–81. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2018.03.016>
- Bossier, P., Ekasari, J., 2017. Biofloc technology application in aquaculture to support sustainable development goals. *Microb. Biotechnol.* 10, 1012–1016. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12836>
- Collavo, A., Glew, R. H., Huang, Y. S., Chuang, L. T., Bosse, R. (2005). House cricket small-scale farming. In MG Paoletti (ed.), *Ecological implications of minilivestock. Potential of insects, rodents, frogs and snails*. *J. Insect Conserv.*, 11, 213.
- Coward, k., Bromage, N.R., 2000. Reproductive physiology of female tilapia broodstock.
- Dietz, C., Liebert, F., 2018. Does graded substitution of soy protein concentrate by an insect meal respond on growth and N-utilization in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)? *Aquac. Reports* 12, 43–48. <https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2018.09.001>
- Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Moate, R., Davies, S.J., Spring, P., Sweetman, J., Bradley, G., 2009. Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Anim. Sci.* 87, 3226–3234. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1428>
- FAO, Food and Aquaculture Organization of the United Nations, 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in Action*. FAO, Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.
- FAO., 2009. *Oreochromis niloticus*. In *Cultured aquatic species fact sheets*. Text by Rakocy, J. E. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New.
- Finke, M.D., 2007. Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biol.* 26, 105–115. <https://doi.org/10.1002/zoo.20123>

- Fujimura, K., Okada, N., 2007. Development of the embryo, larva and early juvenile of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). Developmental staging system. *Develop. Growth Differ.* 49, 301–324. <https://doi:10.1111/j.1440-169x.2007.00926.x>
- Gai, F., Gasco, L., Sicuro, B., 2012. Enzymatic and Histological Evaluations of Gut and Liver in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fed with Rice Protein Concentrate- based Diets. *J. World Aquac. Soc.* 43, 218–229. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2012.00557.x>
- Garba, S., Adelaiye, A., Mshelia, L., 2007. Histopathological and biochemical changes in the rats kidney following exposure to a pyrethroid based mosquito coil. *J Appl Sci Res* 3, 1788–93.
- Gasco, L., Acuti, G., Bani, P., Dalle Zotte, A., Danieli, P.P., De Angelis, A., Fortina, R., Marino, R., Parisi, G., Piccolo, G., Pinotti, L., Prandini, A., Schiavone, A., Terova, G., Tulli, F., Roncarati, A., 2020. Insect and fish by-products as sustainable alternatives to conventional animal proteins in animal nutrition. *Ital. J. Anim. Sci.* 19, 360–372. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1743209>
- Gasco, L., Gai, F., Maricchiolo, G., Genovese, L., Ragonese, S., Bottari, T., Caruso, G., 2018. Fishmeal alternative protein sources for aquaculture feeds. In *Feeds for the aquaculture sector*, pp. 1-28. Springer, Cham.
- Gasco, L., Henry, M., Piccolo, G., Marono, S., Gai, F., Renna, M., Lussiana, C., Antonopoulou, E., Mola, P., Chatzifotis, S., 2016. *Tenebrio molitor* meal in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles: Growth performance, whole body composition and in vivo apparent digestibility. *Anim. Feed Sci. Technol.* 220, 34–45. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2016.07.003>
- Guerreiro, I., Enes, P., Rodiles, A., Merrifield, D., Oliva-Teles, A., 2016. Effects of rearing temperature and dietary short-chain fructooligosaccharides supplementation on allochthonous gut microbiota, digestive enzymes activities and intestine health of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) juveniles. *Aquac. Nutr.* 22, 631–642. <https://doi.org/10.1111/anu.12277>

- Hardy, R.W., Barrows, F.T., 2003. Diet Formulation and Manufacture. *Fish Nutr.* 505– 600.  
<https://doi.org/10.1016/B978-012319652-1/50010-0>
- Henry, M., Gasco, L., Piccolo, G., Fountoulaki, E., 2015. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 203, 1–22.  
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001>
- Hodar, A.R., Vasava, R., Joshi, N.H., Mahavadiya, D.R., 2020. Fish meal and fish oil replacement for alternative sources: a review. *J. Exp. Zool. India* 23, 13–21.
- Hoffmann, L., Rawski, M., Nogales-Mérida, S., Kołodziejcki, P., Pruszyńska-Oszmałek, E., Mazurkiewicz, J., 2021. Mealworm meal use in sea trout (*Salmo trutta m. trutta*, L.) fingerling diets: effects on growth performance, histomorphology of the gastrointestinal tract and blood parameters. *Aquac. Nutr.* 27, 1512–1528.  
<https://doi.org/10.1111/anu.13293>
- Hong, J., Chen, X., Liu, S., Fu, Z., Han, M., Wang, Y., Gu, Z., Ma, Z., 2019. Impact of fish density on water quality and physiological response of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) flingerlings during transportation. *Aquaculture* 507, 260–265.  
<https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2019.04.040>
- Hossain, M. S., Fawole, F. J., Labh, S. N., Small, B. C., Overturf, K., Kumar, V., 2021. Insect meal inclusion as a novel feed ingredient in soy-based diets improves performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 544, 737096.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737096>
- Hossain, S.M., Blair, R., 2007. British Poultry Science Chitin utilisation by broilers and its effect on body composition and blood metabolites. *Br. Poult. Sci.* 48, 33–38.  
<https://doi.org/10.1080/00071660601156529>

- Howe, E.R., Simenstad, C.A., Toft, J.D., Cordell, J.R., Bollens, S.M., 2014. Macroinvertebrate prey availability and fish diet selectivity in relation to environmental variables in natural and restoring north San Francisco bay tidal marsh channels. *San Franc. Estuary Waters. Sci.* 12, 1–46. <https://doi.org/10.15447/sfews.2014v12iss1art5>
- Hua, K., Cobcroft, J.M., Cole, A., Condon, K., Jerry, D.R., Mangott, A., Praeger, C., Vucko, M.J., Zeng, C., Zenger, K., Strugnell, J.M., 2019. The Future of Aquatic Protein: Implications for Protein Sources in Aquaculture Diets. *One Earth* 1, 316– 329. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2019.10.018>
- Karachle, P.K., Stergiou, K.I., 2010. Gut length for several marine fish: relationships with body length and trophic implications. *Mar. Biodivers. Rec.* 3, 1–10. <https://doi.org/10.1017/s1755267210000904>
- Khosravi, S., Kim, E., Lee, Y.-S., Lee, S.-M., 2018. Dietary inclusion of mealworm (*Tenebrio molitor*) meal as an alternative protein source in practical diets for juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Entomol. Res.* 48, 214 - 221. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12306>
- Lee, C.G., Da Silva, C.A., Lee, J.Y., Hartl, D., Elias, J.A., 2008. Chitin regulation of immune responses: an old molecule with new roles. *Curr. Opin. Immunol.* 20, 684– 689. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2008.10.002>
- Levin, B. E., Routh, V. H., Kang, L., Sanders, N. M., Dunn-Meynell, A. A. 2004. Neuronal glucosensing: what do we know after 50 years? *Diabetes*, 53(10), 2521- 2528. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.10.2521>
- Lin, S., Luo, L., 2011. Effects of different levels of soybean meal inclusion in replacement for fish meal on growth, digestive enzymes and transaminase activities in practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 168, 80– 87. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.03.012>

- Lindsay, G.J.H., Walton, M.J., Adron, J.W., Fletcher, T.C., Cho, C.Y., Cowey, C.B., 1984. The growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing chitin and its relationship to chitinolytic enzymes and chitin digestibility. *Aquaculture* 37, 315e334. <https://doi.org/10.1093/ps/86.6.1070>
- Magalhães, R., Sánchez-lópez, A., Silva, R., Martínez-Ilorens, S., Oliva-teles, A., Peres, H., 2017. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 476, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.021>
- Makkar, H.P.S., Tran, G., Heuzé, V., Ankers, P., 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* 197, 1–33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>
- Marono, S., Loponte, R., Lombardi, P., Vassalotti, G., Pero, M.E., Russo, F., Gasco, L., Parisi, G., Piccolo, G., Nizza, S., Di Meo, C., Attia, Y.A., Bovera, F., 2017. Productive performance and blood profiles of laying hens fed *Hermetia illucens* larvae meal as total replacement of soybean meal from 24 to 45 weeks of age. *Poult. Sci.* 96, 1783–1790. <https://doi.org/10.3382/ps/pew461>
- Mastoraki, M., Mollá Ferrándiz, P., Vardali, S.C., Kontodimas, D.C., Kotzamanis, Y.P., Gasco, L., Chatzifotis, S., Antonopoulou, E., 2020. A comparative study on the effect of fish meal substitution with three different insect meals on growth, body composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 528. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735511>
- McCarthy, D.H., Stevenson, J.P., Roberts, M.S., 1973. Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson): I. The Kamloops variety. *J. Fish Biol.* 1973, 5, 1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1973.tb04425.x>
- Meurer, F., Hayashi, C. Boscolo, W.R., 2003. Fibra Bruta para Alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L). *R. Bras. Zootec.* 32, 256-261.

- Mikołajczak, Z., Rawski, M., Mazurkiewicz, J., Kieró Nczyk, B., Józefiak, D., 2020. The Effect of Hydrolyzed Insect Meals in Sea Trout Fingerling (*Salmo trutta m. trutta*) Diets on Growth Performance, Microbiota and Biochemical Blood Parameters. *Animals* 10, 2031. <https://doi.org/10.3390/ani10061031>
- Moraes, G., Almeida, L.C., 2014. Nutrição e aspectos funcionais da digestão de peixes. In: Baldisserotto, B., Cyrino, J.E.P., Urbinati, E.C. *Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce*. FUNEP, Jaboticabal, pp.233-250.
- Musyoka, S.N., Liti, D.M., Ogello, E., Waidbacher, H., 2019. Utilization of the earthworm, *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) as an alternative protein source in fish feeds processing: A review. *Aquac. Res.* 50, 2301–2315. <https://doi.org/10.1111/are.14091>
- Narra, M.R., Rajender, K., Reddy, R.R., Murty, U.S., Begum, G., 2017. Insecticides induced stress response and recuperation in fish: Biomarkers in blood and tissues related to oxidative damage. *Chemosphere* 168, 350–357. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2016.10.066>
- Nelson, D.L., Cox, M., 2002. *Lehninger-Princípios de bioquímica*, 3ed. Sarvier, São Paulo.
- Newton, G. L., Sheppard, D. C., Watson, D. W., Burtle, G. J., Dove, C. R., Tomberlin, J. K., Thelen, E. E., 2005. The black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a manure management/resource recovery tool. In *Symposium on the state of the science of Animal Manure and Waste Management* 1, 57.
- Nogales-Mérida, S., Gobbi, P., Józefiak, D., Mazurkiewicz, J., Dudek, K., Rawski, M., Kierończyk, B., Józefiak, A., 2019. Insect meals in fish nutrition. *Rev. Aquac.* 11, 1080–1103. <https://doi.org/10.1111/raq.12281>
- Oliva-Teles, A.; Enes, P.; Peres, H. Replacing fishmeal and fish oil in industrial aquafeeds for carnivorous fish. In *Feed and Feeding Practices in Aquaculture*; Davis, A.D., Ed.; Elsevier: Cambridge, UK, 2015; pp. 203–233. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100506-4.00008-8>

- Panettieri, V., Chatzifotis, S., Messina, C.M., Olivotto, I., Manuguerra, S., Randazzo, B., Ariano, A., Bovera, F., Santulli, A., Severino, L., Piccolo, G., 2020. Honey Bee Pollen in Meagre (*Argyrosomus regius*) Juvenile Diets: Effects on Growth, Diet Digestibility, Intestinal Traits, and Biochemical Markers Related to Health and Stress. *Animals* 10, 231. <https://doi.org/10.3390/ani10020231>
- Peixe BR, 2022. Anuário peixe BR da piscicultura 2022. São Paulo: Associação Brasileira da Piscicultura, p. 12.
- Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J.L., Moon, T.W., 2012. Glucose metabolism in fish: a review. *J. Comp. Physiol. B* 182, 1015 -1045. <https://doi.org/10.1007/s00360-012->
- Prabu, D. L., Sahu, N. P., Pal, A. K., Dasgupta, S., Narendra, A., 2016. Immunomodulation and interferon gamma gene expression in sutchi cat fish, *Pangasianodon hypophthalmus*: effect of dietary fucoidan rich seaweed extract (FRSE) on pre and post challenge period. *Aquac. Res.* 47(1), 199- 218. <https://doi.org/10.1111/are.12482>
- Premalatha, M., Abbasi, Tasneem, Abbasi, Tabassum, Abbasi, S.A., 2011. Energy- efficient food production to reduce global warming and ecodegradation: The use of edible insects. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 15, 4357–4360. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2011.07.115>
- Quang Tran, H., Van Doan, H., Stejskal, V., 2022. Environmental consequences of using insect meal as an ingredient in aquafeeds: A systematic view. *Rev. Aquac.* 14, 237–251. <https://doi.org/10.1111/raq.12595>
- Rawski, M., Mazurkiewicz, J., Kierończyk, B., Józefiak, D., 2021. Black soldier fly full- fat larvae meal is more profitable than fish meal and fish oil in Siberian sturgeon farming: The effects on aquaculture sustainability, economy and fish GIT development. *Animals*, 11(3), 604. <https://doi.org/10.3390/ani11030604>

- Renna, M., Schiavone, A., Gai, F., Dabbou, S., Lussiana, C., Malfatto, V., Prearo, M., Capucchio, M.T., Biasato, I., 2017. Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) diets. J. Anim. Sci. Biotechnol. 8:57, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0191-3>
- Sánchez-Muros, M.J., Barroso, F.G., Manzano-Agugliaro, F., 2014. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. J. Clean. Prod. 65, 16–27. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2013.11.068>
- Sayed, A. E-D. H, Moneeb, R.H., 2015. Hematological and biochemical characters of monosex tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) cultivated using methyltestosterone. J. Basic Appl. Zool. 72, 36–42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jobaz.2015.03.002>
- Sheppard, D. C., G. L. Newton, S. A. Thompson, S. E. Savage. 1994. A value added manure management system using the Black Soldier Fly. Bioresour. Technol. 50, 275- 279. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(94\)90102-3](https://doi.org/10.1016/0960-8524(94)90102-3)
- Tacon, A.G.J., Hasan, M.R., Metian, M., 2011. Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans: Trends and prospects, FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper.
- Terova, G., Rimoldi, S., Ascione, C., Gini, E., Ceccotti, C., Gasco, L., 2019. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gut microbiota is modulated by insect meal from *Hermetia illucens* prepupae in the diet. Rev. Fish Biol. Fish. <https://doi.org/10.1007/s11160-019-09558-y>
- Tippayadara, N., Dawood, M.A.O., Krutmuang, P., Hoseinifar, S.H., Doan, H. Van, Paolucci, M., 2021. Replacement of fish meal by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal: Effects on growth, haematology, and skin mucus immunity of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Animals 11, 1-19. <https://doi.org/10.3390/ani11010193>

- Tufarelli, V., Desantis, S., Zizza, S., Laudadio, V., 2010. Nutrition Performance, gut morphology and carcass characteristics of fattening rabbits as affected by particle size of pelleted diets. *Arch. Anim. Nutr.* 64, 373-382. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2010.496945>
- Turchini, G.M., Trushenski, J.T., Glencross, B.D., 2019. Thoughts for the Future of Aquaculture Nutrition: Realigning Perspectives to Reflect Contemporary Issues Related to Judicious Use of Marine Resources in Aquafeeds. *N. Am. J. Aquac.* 81, 13–39. <https://doi.org/10.1002/naaq.10067>
- van Huis, A., 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annu. Rev. Entomol.* 58, 563–583. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811->
- Veldkamp, T., Bosch, G., 2015. Insects: A protein-rich feed ingredient in pig and poultry diets. *Anim. Front.* 5, 45–50. <https://doi.org/10.2527/af.2015-0019>
- Vicente, I.S.T., Elias, F., Fonseca-Alves, C.E., 2014. Perspectivas da produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. *Rev. Ciênc. Agrár.* 37, 392-398.
- Wang, G., Peng, K., Hu, J., Yi, C., Chen, X., Wu, H., Huang, Y., 2019. Evaluation of defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as an alternative protein ingredient for juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) diets. *Aquaculture* 507, 144–154. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.023>
- Wang, L., Li, Jin, J. N., Zhu, F., Roffeis, M., Zhang, X. Z., 2017. A comprehensive evaluation of replacing fishmeal with housefly (*Musca domestica*) maggot meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac. Nutr.* 23. <https://doi.org/10.1111/anu.12466>
- Whitley, S.N., Bollens, S.M., 2014. Fish assemblages across a vegetation gradient in a restoring tidal freshwater wetland: diets and potential for resource competition. *Eviron. Biol. Fish* 659–674. <https://doi.org/10.1007/s10641-013-0168-9>

- Xu, X., Ji, H., Yu, H., Zhou, J., 2020. Influence of dietary black soldier fly (*Hermetia illucens* Linnaeus) pulp on growth performance, antioxidant capacity and intestinal health of juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio var. specularis*). *Aquac. Nutr.* 26, 432–443. <https://doi.org/10.1111/anu.13005>
- Xu, Z.R., Hu, C.H., Xia, M.S., Zhan, X.A., Wang, M.Q., 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poult. Sci.* 82, 1030–1036. <https://doi.org/10.1093/ps/82.6.1030>
- Zhou, J.S., Liu, S.S., Ji, H., Yu, H.B., 2018. Effect of replacing dietary fish meal with black soldier fly larvae meal on growth and fatty acid composition of Jian carp (*Cyprinus carpio var. Jian*). *Aquac. Nutr.* 24, 424–433. <https://doi.org/10.1111/anu.12574>
- Zhou, Q.C., Buentello, J.A., Gatlin, D.M., 2010. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* 309, 253–257. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.003>

## 5. 1º ARTIGO

### **Inclusão de farinha de larvas de mosca soldado-negro (*Hermetia illucens*) em dietas para juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

Camila Gomes de Oliveira<sup>a\*</sup>, Paula Adriane Perez Ribeiro<sup>a</sup>, Pedro Gomes Gamarano<sup>a</sup>,  
Verônica Guimarães Landa Prado<sup>a</sup>, Débora de Almeida Freitas<sup>a</sup>, Helder de Oliveira  
Guilherme<sup>a</sup>, Renan Rosa Paulino<sup>b</sup>, Leandro Santos Costa<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Laboratório de Aquacultura, Avenida Antônio Carlos, nº 6627, CEP 31270-901 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Zootecnia, Avenida Sul UFLA, Campus Universitário, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil.

<sup>c</sup> Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Zootecnia, Av. Peter Henry Rolfs, s/n - Campus Universitário, Viçosa - MG, CEP 36570-900, Minas Gerais, Brasil.

\*Autor correspondente: Laboratório de Aquacultura, Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av. Antônio Carlos, 6627, Belo Horizonte-MG, Brasil. CEP 31270-901, e-mail: [camilaoliveira080@gmail.com](mailto:camilaoliveira080@gmail.com)

## 5.1. Resumo

As farinhas de inseto têm se mostrado alternativas promissoras para uso em dietas de animais aquáticos. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inclusão de farinha de larvas de mosca soldado-negro (*Hermetia illucens*) em dietas para juvenis de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Foram utilizados 240 juvenis de tilápia (peso médio inicial de  $2,80 \pm 0,25$  g), alojados em 16 aquários (40 L), mantidos em recirculação de água. Foram confeccionadas quatro dietas experimentais, com 0, 33, 66 e 100% de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína de larvas de mosca soldado-negro. O período experimental foi de 61 dias, com animais alimentados três vezes dia, numa taxa de arroçoamento de 5% do peso vivo. Ao final do experimento, os animais foram anestesiados para coleta de sangue e, em seguida, abatidos para coleta de tecidos. O peso final e ganho de peso diário apresentou menores valores quando os animais foram alimentados com 100% de substituição de farinha de peixe por farinha de inseto ( $P < 0,05$ ). No entanto a taxa de crescimento específico e sobrevivência não foram afetados ( $P > 0,05$ ). Observou-se que os peixes que receberam o tratamento controle demonstraram menores valores de índice viscerossomáticos em relação aos demais tratamentos ( $P < 0,05$ ). A proteína total e a umidade apresentaram maiores valores nos animais do tratamento sem farinha de mosca soldado negro ( $P < 0,05$ ). O extrato etéreo aumentou de acordo com o aumento da substituição ( $P < 0,05$ ). Enquanto não foram verificadas diferenças significativas para IHS, a morfometria intestinal, glicose, creatinina, proteína total, HDL, LDL, AST e ALT ( $P > 0,05$ ). O colesterol total, triglicerídeos e albumina apresentaram menores valores quando ocorreu a substituição total da farinha de peixe por farinha de mosca soldado-negro ( $P < 0,05$ ). Concluímos que não reduz o crescimento de tilápias quando substituída até 66%. Os níveis de colesterol total e triglicerídeos foram influenciados reduzindo com substituição total, no entanto, não foi suficiente para que refletisse na deposição lipídica na carcaça.

Palavras-chaves: farinha de inseto, nutrição, proteína, peixe.

## 5.2.Introdução

Os peixes representam uma fonte de proteína importante para alimentação humana (Barroso et al., 2014). Conseqüentemente, devido ao crescimento constante da população mundial, a indústria da aquacultura também se expande, gerando o aumento da demanda por fontes de proteína e lipídios que possam ser utilizadas nas rações (Kumar et al., 2021). A farinha de peixe atendia às demandas de mercado, no entanto, devido à redução da disponibilidade e aumento de custo, novas alternativas foram necessárias para as formulações (Bossier e Ekasari, 2017; Gasco et al., 2018; Arru et al., 2019; Kumar et al., 2021). Portanto, pesquisas têm sido desenvolvidas para encontrar fontes alternativas que consigam atender a demanda de mercado sendo, assim, mais uma opção para as formulações de rações (Arru et al., 2019).

A farinha de inseto vêm sendo estudada como fonte de proteína e alimento funcional em dietas animais, por ser um ingrediente produzido de forma sustentável, uma vez que sua obtenção demanda pequenas parcelas de terra e água para o crescimento, além do inseto bioconverter resíduos orgânicos em proteína com alta eficiência alimentar, baixo risco de transmissão de infecções zoonóticas, baixo impacto ambiental pela baixa emissão de gases de efeito estufa e amônia (van Huis et al., 2013; van Huis e Oonincx, 2017; Magalhães et al., 2017; Sogari et al., 2019; Mastoraki et al., 2020).

Do ponto de vista nutricional, os insetos são ricos em proteínas e lipídios, no entanto essas concentrações podem variar de acordo com a espécie, estágio de vida (Barroso et al., 2014), substrato de criação e processo de produção (Magalhães et al., 2017). De maneira geral, as farinhas de inseto apresentam teor de proteína entre 35 e 70%, perfil de aminoácidos essenciais adequado, teor lipídico entre 8 e 35%, a depender do processo de extração (Barroso et al., 2014) e vitaminas e minerais (van Huis, 2013; Henry et al., 2015). O teor de lipídios pode ser alterado em função de tratamentos tecnológicos, como aqueles que desengorduram o ingrediente evitando, assim, alterações nos perfis de ácido graxos (Barroso et al., 2014; Henry et al., 2015; Magalhães et al., 2017).

A farinha de *Hermetia illucens*, conhecida como mosca soldado-negro, apresenta características favoráveis para utilização em rações animal, por já existir técnicas de produção industrial de qualidade (van Huis et al., 2013; Henry et al., 2015; Magalhães et al., 2017). Além disso, o perfil de aminoácidos das larvas de mosca soldado-negro é semelhante ao da farinha de peixe (Barroso et al., 2014; Li et al., 2020). Sendo assim, diversos estudos já foram realizados para diferentes espécies como *Psetta maxima* (Kroeckel et al., 2012),

*Dicentrarchus labrax* (Magalhães et al., 2017), *Oncorhynchus mykiss* (Terova et al., 2019), *Salmo salar* (Li et al., 2020) e *Perca fluviatilis* (Stejskal et al., 2020).

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) possui diversas características favoráveis para produção, como adaptação a diversos meios de produção, tolerância a baixos níveis de oxigênio dissolvido, crescimento rápido e boa qualidade de carne (Sayed e Moneeb, 2015). Devido a esses motivos a tilápia é a terceira espécie mais produzida no mundo (FAO, 2020). Tippayadara, et al. (2021) verificaram que dietas para tilápia nilótica com inclusão de até 10% de farinha de mosca soldado-negro em substituição completa à farinha de peixe, interfere nos índices somáticos, parâmetros hematológicos e no desempenho dos animais. No entanto, ainda são necessários mais estudos sobre a inclusão de farinha de mosca soldado-negro em dietas.

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inclusão de farinha de larvas de *H. illucens* em dietas para juvenis de tilápia (*O. niloticus*), sobre os parâmetros de desempenho, bioquímica sanguínea, composição de carcaça e morfometria intestinal.

### **5.3. Material e métodos**

O ensaio experimental com juvenis masculinizados de tilápia foi realizado no Laboratório de Aquicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, seguindo as normas de ética aprovadas pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Instituição protocolo CEUAP-UFV 0133/2019).

#### *5.3.1. Dietas*

Foram formuladas quatro dietas experimentais. Uma dieta base, sem inclusão de farinha de larvas de mosca soldado-negro (MSN), foi usada como controle e outras três substituindo a proteína da farinha de peixe (FP) em 33, 66 e 100% de proteína da MSN. Todas as dietas foram extrusadas (Inbramaq®, modelo Labor PQ30), com peletes de 3 mm e armazenadas a -20°C até o uso. As dietas experimentais estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Composição das dietas e da farinha de mosca soldado-negro.

Ingredientes (g Kg <sup>-1</sup> )	Proteína da mosca soldado-negro (%)				
	Farinha de inseto	0	33	66	100
Milho	-	257,50	211,30	165,00	118,70
Farinha de peixe	-	150,00	100,00	50,00	0,00
Farelo de soja	-	531,30	539,10	547,00	554,80
Farelo de trigo	-	10,00	10,00	10,00	10,00
Mosca soldado-negro	-	0,00	93,20	186,50	279,70
Óleo de soja	-	35,00	30,20	25,40	20,60
Sal	-	5,00	5,00	5,00	5,00
Fosfato bicálcico	-	5,00	5,00	5,00	5,00
Suplemento vitamínico mineral <sup>a</sup>	-	5,00	5,00	5,00	5,00
Óxido crômico	-	10,00	10,00	10,00	10,00
Antioxidante (BHT) <sup>b</sup>	-	0,20	0,20	0,20	0,20
Composição analisada (% na matéria seca) <sup>c</sup>					
Proteína bruta	38,00	37,77	36,64	36,41	37,56
Energia bruta (MJ kg <sup>-1</sup> )	18,00	20,27	20,71	20,98	21,92
Extrato etéreo	25,50	9,04	9,34	11,02	10,88

<sup>a</sup> Composição do suplemento vitamínico e mineral: Ácido fólico (Min) 2500 mg kg<sup>-1</sup>, Ácido pantotênico (Min) 3750 mg kg<sup>-1</sup>, Biotina (Min) 125 mg kg<sup>-1</sup>, Zinco (Min) 20 g kg<sup>-1</sup>, Cobre (Min) 2000 mg kg<sup>-1</sup>, Colina (Min) 125 g kg<sup>-1</sup>, Ferro (Min) 15 g kg<sup>-1</sup>, Iodo (Min) 125 mg kg<sup>-1</sup>, Vit K (Min) 1000 mg kg<sup>-1</sup>, Manganês (Min) 3700 mg kg<sup>-1</sup>, Niacina (Min) 7800 mg kg<sup>-1</sup>, Selênio (Min) 75 mg kg<sup>-1</sup>, Vit A (Min) 2.000.000 UI kg<sup>-1</sup>, Vit E (Min) 15000 UI kg<sup>-1</sup>, Vit B<sub>1</sub> (Min) 2500 mg kg<sup>-1</sup>, Vit B<sub>12</sub> (Min) 5000 mg kg<sup>-1</sup>, Vit B<sub>2</sub> (Min) 2500 mg kg<sup>-1</sup>, Vit B<sub>6</sub> (Min) 2000 mg kg<sup>-1</sup>, Vit D<sub>3</sub> (Min) 500.000 UI kg<sup>-1</sup>;

<sup>b</sup> BHT – Butil-hidroxi-tolueno.

<sup>c</sup> Determinações segundo A.O.A.C. (2016)

### 5.3.2. Ensaio experimental

Os juvenis de tilápia-do-Nilo foram aclimatados durante quinze dias no laboratório e alimentados com dieta comercial contendo 36% de proteína bruta. Foram utilizados 240 juvenis, com peso médio inicial de  $2,80 \pm 0,25$  g, distribuídos em 16 aquários de 40 L cada,

mantido em sistema de recirculação, com aeração e aquecedores. O delineamento foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (dietas) e quatro repetições (aquários). Durante o período experimental a temperatura média foi de  $27 \pm 0,28^{\circ}\text{C}$ , pH  $6,96 \pm 0,13$  e amônia total  $0,2 \pm 0,16 \text{ mg L}^{-1}$ . O fotoperíodo utilizado foi de 12:12 h (claro:escuro).

Os animais foram alimentados durante 61 dias, em três períodos (8:30, 12:00 e 15:00), com uma taxa de arraçoamento fixada em 5% do peso vivo. Após a alimentação, os tanques foram limpos para retirada do excesso de fezes. Os peixes foram pesados a cada 15 dias para ajuste da alimentação.

### 5.3.3. Desempenho zootécnico

Ao final do período experimental foram calculados: ganho de peso diário (GPD), no qual  $GPD = (\text{Peso final} - \text{Peso inicial}) / \text{período experimental}$ ; taxa de crescimento específico (TCE), sendo  $TCE = 100 \times [(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{período experimental}]$  e sobrevivência (em %), sendo a sobrevivência =  $100 \times (n^{\circ} \text{ final de peixes} / n^{\circ} \text{ inicial de peixes})$ .

### 5.3.4. Coleta de amostras

Após um período de jejum de 16 horas, seis animais de cada repetição foram anestesiados com eugenol ( $90 \text{ mg L}^{-1}$ ) (Ribeiro et al., 2015; Ferreira et al., 2021), pesados e, posteriormente, realizada a coleta de sangue por punção da veia caudal com agulhas heparinizadas.

As alíquotas de sangue foram centrifugadas a 3.000 rpm, por 15 min (centrifuga Spinlab SL-5a.m.) e o soro coletado foi armazenado em freezer  $-20^{\circ}\text{C}$  para futuras análises.

Os juvenis foram eutanasiados com overdose de eugenol ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) (Vidal et al., 2008), sendo coletados três animais por repetição ( $n=12$ ) para retirada de vísceras e obtenção de carcaça. As vísceras foram utilizadas para cálculo do índice viscerossomático (IVS) =  $100 \times (\text{peso das vísceras} / \text{peso total do corpo})$  e o hepatopâncreas foi utilizado para cálculo do índice hepatossomático (IHS) =  $100 \times (\text{peso do fígado} / \text{peso corporal total})$ . Em seguida, uma amostra de intestino inicial de 2cm foi coletada e sequencialmente fixada em formol tamponado (10%). As carcaças evisceradas foram secas em estufa a  $55^{\circ}\text{C}$ , por 48 horas, para posterior análise.

### 5.3.5. *Composição de carcaça*

Após a pré-secagem, as amostras foram moídas para determinação dos teores de matéria seca (estufa a 105°C), extrato etéreo (Sohxlet) e proteína bruta (método de Kjeldahl), conforme metodologia descrita pela A.O.A.C (2016).

### 5.3.6. *Morfometria intestinal*

Para esta análise foi adaptada a metodologia de Mello et al. (2013), com fragmentos de intestino retirados do formol e lavados em solução de álcool 70%. Em seguida, foram desidratados em série ascendente de álcool e, posteriormente, direcionados para diafanização (mantidos durante 15 minutos em xilol). Os tecidos foram emblocados em parafina e o corte histológico (5 µm de espessura) foi realizado em micrótomo (Microm HM 325, San Diego CA, EUA), para confecção das lâminas. Para a coloração, utilizou-se a técnica de hematoxilina-eosina. Foram selecionadas e medidas 10 vilosidades do intestino por amostra (Renna et al., 2017), cujas alturas e larguras (comprimentos em linha reta, em µm) foram medidas com auxílio de microscópio (Nikon Eclipse 50i), com câmera acoplada (Moticam 2300), utilizando o programa Motic Imagens Plus 3.0.

### 5.3.7. *Análises sanguíneas*

Para as determinações bioquímicas séricas foi utilizado um pool sanguíneo em cada repetição, composto por dois animais, totalizando 12 amostras por tratamento. As amostras de soro foram analisadas em equipamento automático (Mindray BS-200E; Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., Shenzhen, China), utilizando kits comerciais Bioclin / Quibasa (Minas Gerais, Brasil) para determinação de glicose (K082-3), albumina (K040-1), triglicerídeos (K117-3), colesterol total (K083-3), lipoproteína de alta densidade (HDL, K071-23), lipoproteína de baixa densidade (LDL, K088-27), creatinina (K067), proteína total (K031) aspartato transaminase (AST, K048-6) e alanina transaminase (ALT, K049-6) (Guilherme et al., 2021).

### 5.3.8. Estatística

Os dados foram submetidos a testes de homoscedasticidade de variância (Levene) e de normalidade (Shapiro Wilk). Os resultados foram submetidos à ANOVA. Os valores de altura de vilosidades, triglicérides, glicose, LDL, AST e ALT foram transformados (log10) para atenderem os requisitos da ANOVA. Quando significativos, realizou-se a comparação das médias pelo teste de Tukey. Todos os valores foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. As análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico InfoStat® (Infostat, 2008).

## 5.4.Resultados

### 5.4.1. Desempenho

O peso final e GPD (tabela 2) apresentaram redução quando os animais foram alimentados com a substituição total da proteína da farinha de peixe por farinha de larvas de mosca soldado negro ( $P < 0,05$ ). A TCE e a sobrevivência não diferiram significativamente entre os tratamentos propostos ( $P > 0,05$ ).

Para o IVS (tabela 2), os animais alimentados sem a substituição da farinha de peixe, apresentaram menores valores desse índice em relação aos demais tratamentos ( $P < 0,05$ ). Já os valores relacionados ao IHS não foram diferentes significativamente entre os grupos ( $P > 0,05$ ).

Tabela 2. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de desempenho e índices somáticos de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca soldado-negro (*Hermetia illucens*), durante 61 dias.

Variáveis	Níveis de substituição (%)				P-valor
	0	33	66	100	
Peso final (g)	53,32 $\pm$ 0,90 <sup>a</sup>	51,72 $\pm$ 4,13 <sup>a</sup>	47,83 $\pm$ 7,45 <sup>ab</sup>	37,08 $\pm$ 3,38 <sup>b</sup>	0,0076
GPD (g)	0,80 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,78 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,71 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	0,52 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	0,0016
TCE (g)	4,05 $\pm$ 0,79 <sup>a</sup>	4,36 $\pm$ 0,64 <sup>a</sup>	4,40 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	3,39 $\pm$ 0,75 <sup>a</sup>	0,3734
Sobrevivência (%)	84,44 $\pm$ 6,29 <sup>a</sup>	88,33 $\pm$ 5,53 <sup>a</sup>	93,33 $\pm$ 6,67 <sup>a</sup>	93,33 $\pm$ 4,71 <sup>a</sup>	0,1144
IVS (%)	7,25 $\pm$ 0,91 <sup>b</sup>	8,61 $\pm$ 1,17 <sup>a</sup>	8,60 $\pm$ 0,67 <sup>a</sup>	8,34 $\pm$ 1,20 <sup>ab</sup>	0,0081
IHS (%)	1,07 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	1,16 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>	1,20 $\pm$ 0,44 <sup>a</sup>	1,07 $\pm$ 0,39 <sup>a</sup>	0,7629

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 5.4.2. Composição corporal

A proteína bruta (tabela 3) apresentou valores reduzidos nos animais que receberam os tratamentos com 66% e 100% de substituição da farinha de peixe pela farinha de inseto ( $P < 0,05$ ). Enquanto o extrato etéreo apresentou valores mais elevados no tratamento com 100% de substituição ( $P < 0,05$ ). A umidade apresentou resultados mais altos no tratamento controle em comparação aos demais tratamentos ( $P < 0,05$ ).

Tabela 3. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de composição da carcaça de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca soldado-negro (*Hermetia illucens*), durante 61 dias. Valores expressos com base na matéria seca.

Variáveis	Níveis de substituição (%)				P-valor
	0	33	66	100	
Proteína Bruta (%)	65,48 $\pm$ 3,32 <sup>a</sup>	62,42 $\pm$ 4,56 <sup>ab</sup>	58,54 $\pm$ 4,43 <sup>b</sup>	58,02 $\pm$ 4,69 <sup>b</sup>	0,0005
Extrato Etéreo (%)	23,69 $\pm$ 2,18 <sup>c</sup>	29,85 $\pm$ 1,96 <sup>b</sup>	32,08 $\pm$ 2,10 <sup>b</sup>	35,81 $\pm$ 3,14 <sup>a</sup>	<0,0001
Umidade (%)	76,48 $\pm$ 0,84 <sup>a</sup>	75,20 $\pm$ 0,64 <sup>b</sup>	75,26 $\pm$ 1,02 <sup>b</sup>	74,36 $\pm$ 1,36 <sup>b</sup>	0,0002

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

### 5.4.3. Morfometria intestinal

A altura e largura das vilosidades intestinais (tabela 4) não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ).

Tabela 4. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) das vilosidades intestinais de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca soldado-negro (*Hermetia illucens*), durante 61 dias

Variáveis ( $\mu\text{m}$ )	Níveis de substituição (%)				P-valor
	0	33	66	100	
Altura	189 $\pm$ 53,32 <sup>a</sup>	171,80 $\pm$ 19,90 <sup>a</sup>	251,876 $\pm$ 33,66 <sup>a</sup>	211,86 $\pm$ 65,78 <sup>a</sup>	0,1237
Largura	59,17 $\pm$ 9,94 <sup>a</sup>	69,10 $\pm$ 17,64 <sup>a</sup>	60,99 $\pm$ 8,35 <sup>a</sup>	61,44 $\pm$ 9,74 <sup>a</sup>	0,2926

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

### 5.4.4. Parâmetros sanguíneos

Os valores relacionados a glicose, creatinina, proteína total, HDL, LDL, AST e ALT (tabela 5) não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos propostos ( $P > 0,05$ ). No entanto, o colesterol total reduziu quando houve a substituição total da farinha de peixe por proteína de larvas de mosca soldado negro em relação aos tratamentos controle e com 33% ( $P < 0,05$ ). Para os triglicerídeos, ocorreu uma diminuição no tratamento com 100% de substituição em relação ao controle e 33% ( $P < 0,05$ ). A albumina foi maior no tratamento controle em relação ao tratamento com 100% de substituição ( $P > 0,05$ ).

Tabela 5. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) das variáveis sérica de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca soldado-negro (*Hermetia illucens*), durante 61 dias

Variáveis (mg dL <sup>-1</sup> )	Níveis de substituição (%)				P-valor
	0	33	66	100	
Glicose	57,57 $\pm$ 8,66 <sup>a</sup>	49,75 $\pm$ 5,72 <sup>a</sup>	54,17 $\pm$ 10,82 <sup>a</sup>	59,01 $\pm$ 15,66 <sup>a</sup>	0,1865
Creatinina	0,29 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,34 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	0,29 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,31 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,2124
Colesterol total	110,13 $\pm$ 12,99 <sup>a</sup>	110,90 $\pm$ 7,14 <sup>a</sup>	101,69 $\pm$ 13,81 <sup>ab</sup>	96,96 $\pm$ 9,94 <sup>b</sup>	0,0142
Triglicerídeos	126,60 $\pm$ 14,04 <sup>a</sup>	178,03 $\pm$ 59,04 <sup>ab</sup>	101,62 $\pm$ 37,86 <sup>bc</sup>	78,57 $\pm$ 22,42 <sup>c</sup>	<0,0001
Proteína total	3,23 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup>	3,24 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>	2,95 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	3,13 $\pm$ 0,44 <sup>a</sup>	0,1683
Albumina	1,35 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>	1,30 $\pm$ 0,17 <sup>ab</sup>	1,17 $\pm$ 0,18 <sup>ab</sup>	1,07 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	0,0135
HDL	30,17 $\pm$ 3,36 <sup>a</sup>	29,05 $\pm$ 4,99 <sup>a</sup>	27,32 $\pm$ 4,69 <sup>a</sup>	32,67 $\pm$ 5,23 <sup>a</sup>	0,0653
LDL	9,05 $\pm$ 2,33 <sup>a</sup>	8,09 $\pm$ 2,19 <sup>a</sup>	9,39 $\pm$ 4,05 <sup>a</sup>	8,92 $\pm$ 2,16 <sup>a</sup>	0,6886
AST	68,91 $\pm$ 26,32 <sup>a</sup>	81,73 $\pm$ 31,52 <sup>a</sup>	97,10 $\pm$ 41,91 <sup>a</sup>	114,75 $\pm$ 72,01 <sup>a</sup>	0,2608
ALT	2,79 $\pm$ 1,92 <sup>a</sup>	2,48 $\pm$ 1,50 <sup>a</sup>	2,12 $\pm$ 0,57 <sup>a</sup>	3,45 $\pm$ 2,25 <sup>a</sup>	0,6395

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05).

## 5.5. Discussão

No presente estudo, embora tenha ocorrido diferenças entre os tratamentos, todos os grupos apresentaram crescimento satisfatório para a fase independente do tratamento. O desempenho animal não foi afetado pela substituição da proteína farinha de peixe por larvas de mosca soldado-negro até o nível de 66%, no entanto o peso final, GPD reduziram quando ocorreu 100% de substituição. O salmão do Atlântico (*Salmo salar*) apresentou valores mais baixos de GPD e TCE após ser alimentado com 30% de MSN em substituição ao concentrado proteico de milho (7,4%) (Fisher et al., 2020). Em contraste, Alves et al. (2021) não encontraram efeitos negativos do uso de *Zophobas morio* em dietas com inclusão de até 30% em substituição ao farelo e óleo de soja para tilápia. Enquanto Jabir et al. (2012) observaram o crescimento reduzido em tilápias alimentadas com teores da mesma farinha de 15 a 30% (redução da farinha de peixe de 15 até 0%).

Devido ao pequeno aumento no teor de lipídio na dieta com alto teor de mosca soldado-negro pode ajudar a explicar os dados encontrados no presente estudo, uma vez que a gordura pode ser a responsável pela redução da ingestão voluntária (Belforti et al., 2015).

Como resultado da redução da alimentação ocorre menor ingestão de proteína e energia necessária para o desenvolvimento do animal (Kroeckel et al., 2012). Outro fator, seria a presença de quitina que pode afetar a digestibilidade dos nutrientes, refletindo na diminuição do crescimento (Finke, 2007; Fisher et al., 2020). O exoesqueleto dos insetos é composto por quitina (polímero linear de b-(1-4) N-acetil-D-glucosamina) com estrutura semelhante à da celulose (Finke, 2007). Além disso, a quitina apresenta capacidade de se ligar às proteínas do inseto e, por esse motivo, esses nutrientes ficam menos disponíveis para ser completamente aproveitados pelos animais (Ng et al., 2001; Finke, 2007; Nogales-Mérida et al., 2019).

A composição da carcaça dos animais no presente estudo foi alterada nos diferentes tratamentos, sendo que as porcentagens de proteína bruta e umidade reduziram de acordo com o aumento da farinha de inseto. Ng et al. (2001) obtiveram resultados semelhantes ao presente estudo, ao observarem o bagre africano (*Clarias gariepinus*) apresentou menor porcentagem de proteína corporal quando alimentado com altos teores de *Tenebrio molitor*. Em contraste, Belforti et al. (2015) verificaram efeito contrário, visto que os teores de proteína aumentam de acordo com a inclusão de larvas de *Tenebrio molitor*, para juvenis truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Já para salmão do Atlântico, a composição corporal não foi afetada pelos níveis de MSN (Lock et al., 2016).

A possível presença de quitina na dieta pode justificar os resultados encontrados no presente estudo, pois além de se ligar às proteínas da dieta, pode interferir nas enzimas presentes na borda em escova no intestino, que decompõem os peptídeos em aminoácidos na porção do intestino proximal e médio, no qual ocorre a maior parte da digestão e absorção de proteínas (Belghit et al., 2018). A presença de quitina na farinha de mosca soldado-negro foi observada por Kroeckel et al. (2012), que relataram a presença de 9,6% de quitina na farinha utilizada, sendo que em dietas com variações de 17 a 76% de MSN, foram observados teores de quitina entre 1,6 a 7,3%. Belghit et al. (2018) verificaram que o salmão do Atlântico alimentado com 85% de mosca soldado-negro, em substituição a toda proteína da dieta (5% de concentrado proteico e 6% de farinha de peixe), apresentou redução na atividade de leucina aminopeptidase. Além disso, Amer et al. (2021) relataram a redução de proteases intestinais para tilápias-do-Nilo alimentadas com 20% de *Spodoptera littoralis*, em substituição ao farelo de soja. Portanto, a redução na deposição de proteínas na carcaça a partir de 66% de substituição pode ter sido causada pela interação da quitina com as proteínas da dieta e interferência nas enzimas intestinais.

No presente estudo foi observado aumento no teor de extrato etéreo na carcaça dos animais. Alves et al. (2021), verificaram que tilápias-do-Nilo alimentadas com 30% de

*Zophobas morio* ocorreu aumento no teor de lipídios corporais dos animais. Esses autores atribuem esses resultados aos níveis de ácidos graxos saturados presentes na farinha de inseto, que, possivelmente, induziram à lipogênese. A composição de ácidos graxos da dieta se reflete na composição corporal dos peixes (Alves et al., 2021). Esse fato foi verificado para carpa (*Cyprinus carpio var*), em que houve aumento dos níveis de ácido graxos saturados na composição corporal dos animais, quando alimentados com MSN (Zhou et al., 2018). No entanto, Sealey et al. (2011) relataram a diminuição do extrato etéreo em filés de truta arco-íris alimentadas com pré-pupas de MSN.

O teor de lipídios na dieta está associado à deposição de gordura na cavidade peritoneal, fígado e outros tecidos (NRC, 2011; Sagada et al., 2017). Sendo assim, o IHS e IVS são importantes para observar a deposição de lipídios corporais (Sagada et al., 2017). O aumento do extrato etéreo na carcaça das tilápias se refletiu numa maior deposição de gordura visceral. Entretanto, esse comportamento não foi observado para o IHS, cujas dietas não influenciaram a deposição de lipídios no tecido hepático. Belghit et al. (2018) verificaram aumento no IHS e IVS quando o salmão do Atlântico foi alimentado com 85% de MSN na dieta em substituição a toda proteína da dieta. Tippayadara et al. (2021), entretanto, não observaram efeito significativo da inclusão de farinha de *H. Illucens* na dieta sobre os índices somáticos da tilápia nilótica.

Quando são testadas mudanças na composição das dietas, pode-se medir a capacidade digestiva do animal (Renna et al., 2017). Nesse sentido, a estrutura do intestino de um peixe está diretamente relacionada ao aproveitamento dos nutrientes pelos animais (Karachle e Stergiou, 2010; Hoffmann et al., 2021). A inclusão da MSN neste estudo não causou alterações na morfometria intestinal dos juvenis tilápia. De acordo com Renna et al. (2017), larvas de MSN não causaram alterações morfológicas no intestino de truta arco-íris. Como resultado, os animais foram capazes de digerir os nutrientes obtidos, sem interferência da farinha de inseto.

A análise de metabólitos séricos é uma ferramenta útil para estimar o estado nutricional e de saúde dos peixes cultivados, especialmente quando ocorrem mudanças na dieta (Mastoraki et al., 2020). Por exemplo, a proteína total é considerada indicador nutricional (McCarthy et al, 1973), a glicose está relacionada a agentes estressores (Polakof et al., 2012), a creatinina a danos nos rins (Sano, 1962; Garba et al., 2007; Narra et al., 2017; Hong et al., 2019), enquanto as aminotransferases à saúde hepática (Belghit et al., 2019). A ausência de alterações nestes parâmetros, no presente estudo, poderia indicar que os níveis testados não foram capazes de gerar prejuízos no estado nutricional e nos órgãos desses

animais. No entanto, o tratamento com a substituição total da farinha de peixe por mosca soldado negro resultou em uma redução dos níveis de albumina sérica. Os valores de albumina foram reduzidos também para *Micropterus salmoides* alimentadas com *Tenebrio molitor*, acima de 20,4% (22% de farinha de peixe) (Gu et al., 2022). As albuminas representam uma parcela significativa das proteínas séricas (Mikolajczak et al., 2020) e desempenham um papel importante no transporte de lipídios (Francis, 2010), essa redução pode está associada ao menor nível de colesterol e triglicerídeos circulantes.

O colesterol total e os triglicerídeos circulantes foram reduzidos no presente estudo, à no maior nível de substituição. Esses achados são consistentes com os encontrados para carpa Jian (*Cyprinus carpio* var. Jian), que apresentou redução nos níveis de colesterol, quando alimentadas com dietas contendo de 2,6 a 10,6% de MSN (Farinha de peixe reduzindo de 7,5 até 0%) (Li et al., 2017). Khosravi et al. (2018) observaram diminuição dos triglicerídeos plasmáticos em *Sebastes schlegeli* alimentados com 32% de *Tenebrio molitor* (39% de farinha de peixe), embora sem aumento no colesterol. Esses autores atribuíram tais alterações à presença de quitina na dieta, que pode interferir na utilização de lipídios. Isso ocorre porque a quitina contém altos níveis de quitosana, que tem sido associada à capacidade de diminuir os níveis de colesterol circulante (Sugano et al., 1980; Chen et al., 2014; Magalhães et al., 2017; Li et al., 2017; Khosravi et al., 2018; Wang et al., 2019; Mikolajczak et al., 2020). Esse processo acontece pela capacidade da quitosana de se ligar às micelas lipídicas e, assim, inibir sua absorção (Khoushab e Yamabhai, 2010; Magalhães et al., 2017). Essa hipótese poderia ajudar a justificar os resultados do presente estudo, que apesar da quitosana aparentemente ter demonstrado efeito sobre o uso de lipídios, sem alterações nas lipoproteínas, possivelmente os níveis de quitosana na dieta não foram suficientes para reduzir a deposição de gordura na carcaça das tilápias.

## 5.6. Conclusão

Em resumo, o presente estudo constatou que a substituição de até 66% da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas da mosca soldado-negro não reduziu crescimento dos juvenis de tilápia-do-Nilo. No entanto, níveis acima de 33% de substituição reduziram a deposição de proteínas na carcaça. Embora tenha ocorrido redução nos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos nos peixes, essas alterações não foram suficientes para proporcionar menor deposição lipídica na carcaça.

## 5.7.Agradecimentos

Agradecemos a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudo. O presente estudo foi financiado pelo CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) com projeto aprovado pela chamada universal 2018 número 422284/2018-1.

## 5.8.Referências

- A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists), 2016. Official methods of analysis. 20<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA.
- Alves, A.P. D.C., Paulino, R.R., Pereira, R.T., da Costa, D.V., e Rosa, P.V., 2021. Nile tilapia fed insect meal: Growth and innate immune response in different times under lipopolysaccharide challenge. *Aquac. Res.* 52, 529–540. <https://doi.org/10.1111/are.14911>
- Amer, A. A., El-Nabawy, E. S. M., Gouda, A. H., Dawood, M. A., 2021. The addition of insect meal from *Spodoptera littoralis* in the diets of Nile tilapia and its effect on growth rates, digestive enzyme activity and health status. *Aquacult. Res.*, 52(11), 5585-5594. <https://doi.org/10.1111/are.15434>
- Arru, B., Furesi, R., Gasco, L., Madau, F.A., 2019. The Introduction of Insect Meal into Fish Diet: The First Economic Analysis on European Sea Bass Farming 1–16. <https://doi.org/10.3390/su11061697>
- Barroso, F.G., de Haro, C., Sánchez-Muros, M.J., Venegas, E., Martínez-Sánchez, A., Pérez-Bañón, C., 2014. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422–423, 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.024>

- Belforti, M., Gai, F., Lussiana, C., Renna, M., Malfatto, V., Rotolo, L., De Marco, M., Dabbou, S., Schiavone, A., Zoccarato, I., Gasco, L., 2015. *Tenebrio molitor* meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: Effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets. *Ital. J. Anim. Sci.* 14, 670–676. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4170>
- Belghit, I., Liland, N.S., Gjesdal, P., Biancarosa, I., Menchetti, E., Li, Y., Waagbø, R., Krogdahl, Å., Lock, E.J., 2019. Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea-water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 503, 609– 619. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2018.12.032>
- Belghit, I., Liland, N.S., Waagbø, R., Biancarosa, I., Pelusio, N., Li, Y., Krogdahl, Å., Lock, E.J., 2018. Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 491, 72–81. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2018.03.016>
- Bossier, P., Ekasari, J., 2017. Biofloc technology application in aquaculture to support sustainable development goals. *Microb. Biotechnol.* 10, 1012–1016. <https://doi.org/10.1111/1751->
- Chen, Y., Zhu, X., Yang, Y., Han, D., Jin, J., Xie, S., 2014. Effect of dietary chitosan on growth performance, haematology, immune response, intestine morphology, intestine microbiota and disease resistance in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquac. Nutr.* 20(5), 532-546. <https://doi.org/10.1111/anu.12106>
- FAO, Food and Aquaculture Organization of the United Nations, 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in Action. FAO, Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.
- Ferreira, A. L., Bonifácio, C. T., e Silva, W. D. S., Takata, R., Favero, G. C., Luz, R. K., 2021. Anesthesia with eugenol and menthol for *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): Induction and recovery times, ventilation frequency and hematological and biochemical responses. *Aquaculture*, 544, 737076. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737076>

- Finke, M.D., 2007. Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biol.* 26, 105–115. <https://doi.org/10.1002/zoo.20123>
- Fisher, H.J., Collins, S.A., Hanson, C., Mason, B., Colombo, S.M., Anderson, D.M., 2020. Black soldier fly larvae meal as a protein source in low fish meal diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 521, 734978. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2020.734978>
- Francis, G.L., 2010. Albumin and mammalian cell culture: implications for biotechnology applications. *Cytotechnology* 62, 1–16. <https://doi.org/10.1007/s10616-010-9263-3>
- Garba, S., Adelaiye, A., Mshelia, L., 2007. Histopathological and biochemical changes in the rats kidney following exposure to a pyrethroid based mosquito coil. *J Appl Sci Res* 3, 1788–93.
- Gasco, L., Gai, F., Maricchiolo, G., Genovese, L., Ragonese, S., Bottari, T., Caruso, G., 2018. Fishmeal Alternative Protein Sources for Aquaculture Feeds. In *Feeds for the aquaculture sector* 1-28. Springer, Cham.
- Gu, J., Liang, H., Ge, X., Xia, D., Pan, L., Mi, H., Ren, M., 2022. A study of the potential effect of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) substitution for fish meal on growth, immune and antioxidant capacity in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Fish Shellfish Immunol.* 120, 214–221. <https://doi.org/10.1016/J.FSI.2021.11.024>
- Guilherme, H.O., Santos, F. A.C., Costa, L.S., Prado, V.G.L., Palheta, G.D.A., Melo, N.F.A.C., Luz, R.K., Ribeiro, P.A.P., 2021. Feeding, growth, and blood chemistry of the tambaqui (*Colossoma macropomum*) held under self-feeding and time- restricted automatic feeding conditions. *Aquacult. Int.* 30(1), 323-339. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00801-7>
- Henry, M., Gasco, L., Piccolo, G., Fountoulaki, E., 2015. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 203, 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001>

- Hoffmann, L., Rawski, M., Nogales-Mérida, S., Kołodziejcki, P., Pruszyńska-Oszmałek, E., Mazurkiewicz, J., 2021. Mealworm meal use in sea trout (*Salmo trutta m. trutta*, L.) fingerling diets: effects on growth performance, histomorphology of the gastrointestinal tract and blood parameters. *Aquac. Nutr.* 27, 1512–1528. <https://doi.org/10.1111/anu.13293>
- Hong, J., Chen, X., Liu, S., Fu, Z., Han, M., Wang, Y., Gu, Z., Ma, Z., 2019. Impact of fish density on water quality and physiological response of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) flingerlings during transportation. *Aquaculture* 507, 260–265. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.040>
- Jabir, M.D.A.R., Razak, S.A., Vikineswary, S., 2012. Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *African J. Biotechnol.* 11, 6592–6598. <https://doi.org/10.5897/ajb11.1084>
- Karachle, P.K., Stergiou, K.I., 2010. Gut length for several marine fish: relationships with body length and trophic implications. *Mar. Biodivers. Rec.* 3, 1–10. <https://doi.org/10.1017/s1755267210000904>
- Khosravi, S., Kim, E., Lee, Y.-S., Lee, S.-M., 2018. Dietary inclusion of mealworm (*Tenebrio molitor*) meal as an alternative protein source in practical diets for juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Entomol. Res.* 48, 214 - 221. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12306>
- Khoushab, F., Yamabhai, M., 2010. Chitin research revisited. *Mar. Drugs* 8, 1988–2012.
- Kroeckel, S., Harjes, A. G., Roth, I., Katz, H., Wuertz, S., Susenbeth, A., Schulz, C., 2012. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute—Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 364, 345-352. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.08.041>

- Kumar, V., Fawole, F.J., Romano, N., Hossain, S., Labh, S.N., Overturf, K., Small, B.C., 2021. Fish and Shellfish Immunology Insect (black soldier fly, *Hermetia illucens*) meal supplementation prevents the soybean meal-induced intestinal enteritis in rainbow trout and health benefits of using insect oil. *Fish Shellfish Immunol.* 109, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.12.008>
- Li, S., Ji, H., Zhang, B., Zhou, J., Yu, H., 2017. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian): Growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure. *Aquaculture* 477, 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.015>
- Li, Y., Kortner, T. M., Chikwati, E. M., Belghit, I., Lock, E. J., Krogdahl, Å., 2020. Total replacement of fish meal with black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal does not compromise the gut health of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 520, 734967. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734967>
- Lock, E.R., Arsiwalla, T., Waagbø, R., 2016. Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolt. *Aquac. Nutr.* 22, 1202–1213. <https://doi.org/10.1111/anu.12343>
- Magalhães, R., Sánchez-lópez, A., Silva, R., Martínez-llorens, S., Oliva-teles, A., Peres, H., 2017. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 476, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.021>
- Mastoraki, M., Mollá Ferrándiz, P., Vardali, S.C., Kontodimas, D.C., Kotzamanis, Y.P., Gasco, L., Chatzifotis, S., Antonopoulou, E., 2020. A comparative study on the effect of fish meal substitution with three different insect meals on growth, body composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 528, 735511. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735511>

- McCarthy, D.H., Stevenson, J.P., Roberts, M.S., 1973. Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson): I. The Kamloops variety. J. Fish Biol. 5, 1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1973.tb04425.x>
- Mello, H.D., J.R.E. Moraes, I.G. Niza, F.R.D. Moraes, R.O.A. Ozório, M.T. Shimada, J.R. Engracia Filho e G.S. Claudiano. 2013. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. Pesq. Vet. Brasil. 33, 724-730. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2013000600006>
- Mikołajczak, Z., Rawski, M., Mazurkiewicz, J., Kieró Nczyk, B., Józefiak, D., 2020. The Effect of Hydrolyzed Insect Meals in Sea Trout Fingerling (*Salmo trutta m. trutta*) Diets on Growth Performance, Microbiota and Biochemical Blood Parameters. Animals 10, 2031. <https://doi.org/10.3390/ani10061031>
- Narra, M.R., Rajender, K., Reddy, R.R., Murty, U.S., Begum, G., 2017. Insecticides induced stress response and recuperation in fish: Biomarkers in blood and tissues related to oxidative damage. Chemosphere 168, 350–357. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2016.10.066>
- National Research Council - NRC., 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy Press, Washington.
- Ng, W.-K., Liew, F.-L., Ang, L.-P., Wong, & K.-W., 2001. Potential of mealworm (*Tenebrio molitor*) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. Aquac. Res. 32, 273-280. <https://doi.org/10.1046/j.1355-557x.2001.00024.x>
- Nogales-Mérida, S., Gobbi, P., Józefiak, D., Mazurkiewicz, J., Dudek, K., Rawski, M., Kierończyk, B., Józefiak, A., 2019. Insect meals in fish nutrition. Rev. Aquac. 11, 1080–1103. <https://doi.org/10.1111/raq.12281>
- Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J.L., Moon, T.W., 2012. Glucose metabolism in fish: a review. J. Comp. Physiol. B 182, 1015 -1045. <https://doi.org/10.1007/s00360-012->

- Renna, M., Schiavone, A., Gai, F., Dabbou, S., Lussiana, C., Malfatto, V., Prearo, M., Capucchio, M.T., Biasato, I., 2017. Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) diets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8:57, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0191-3>
- Ribeiro, P. A., Miranda-Filho, K. C., Melo, D. C. D., Luz, R. K., 2015. Efficiency of eugenol as anesthetic for the early life stages of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *An. Acad. Bras. Ciênc.*, 87, 529-535.
- Sagada, G., Chen, J., Shen, B., Huang, A., Sun, L., Jiang, J., Jin, C., 2017. Optimizing protein and lipid levels in practical diet for juvenile northern snakehead fish (*Channa argus*). *Anim. Nutr.* 3, 156–163. <https://doi.org/10.1016/J.ANINU.2017.03.003>
- Sano, T., 1962. Haematological studies of the culture fishes in Japan. *J. Tokyo Uni. Fish.*
- Sayed, A. E-D. H, Moneeb, R.H., 2015. Hematological and biochemical characters of monosex tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) cultivated using methyltestosterone. *J. Basic Appl. Zool.* 72, 36–42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jobaz.2015.03.002>
- Sealey, W.M., Gaylord, T. G., Barrows, F.T., Tomberlin, J.K., McGuire, M.A., Ross, C., St-Hilaire, S., 2011. Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia illucens*, *J. World Aquacult. Soc.* 42, 34-45. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00441.x>
- Shiau, S.Y., Yu, Y.P., 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture* 179, 439–446. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00177-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00177-5)
- Sogari, G., Amato, M., Biasato, I., Chiesa, S., Gasco, L., 2019. The potential role of insects as feed: a multi-perspective review. *Animals* 9 (4), 119. <https://doi.org/10.3390/ani9040119>

- Stejskal, V., Tran, H. Q., Prokesova, M., Gebauer, T., Giang, P. T., Gai, F., Gasco, L., 2020. Partially defatted *Hermetia illucens* larva meal in diet of eurasian perch (*Perca fluviatilis*) juveniles. *Animals* 10(10), 1876. <https://doi.org/10.3390/ani10101876>
- Sugano, M., Fujikawa, T., Hiratsuji, Y., Nakashima, K., Fukuda, N., Hasegawa, Y., 1980. A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 33(4), 787-793. <https://doi.org/10.1093/ajcn/33.4.787>
- Taufek, N. M., Simarani, K., Muin, H., Aspani, F., Raji, A. A., Alias, Z., Razak, S. A., 2018. Inclusion of cricket (*Gryllus bimaculatus*) meal in African catfish (*Clarias gariepinus*) feed influences disease resistance. *J. Fish.* 6(2), 623-631. <http://orcid.org/0000-0001-5445-0830>
- Terova, G., Rimoldi, S., Ascione, C., Gini, E., Ceccotti, C., Gasco, L., 2019. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gut microbiota is modulated by insect meal from *Hermetia illucens* prepupae in the diet. *Rev. Fish Biol. Fish.* <https://doi.org/10.1007/s11160-019-09558-y>
- Tilami, S. K., Turek, J., Červený, D., Lepič, P., Kozák, P., Burkina, V., Mráz, J. 2020. Insect meal as a partial replacement for fish meal in a formulated diet for perch *Perca fluviatilis*. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 20(12), 867-878.
- Tippayadara, N., Dawood, M.A.O., Krutmuang, P., Hoseinifar, S.H., Doan, H. Van, Paolucci, M., 2021. Replacement of fish meal by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal: Effects on growth, haematology, and skin mucus immunity of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Animals* 11, 1-19. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0452-8>
- van Huis, A., 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annu. Rev. Entomol.* 58, 563–583.
- van Huis, A., Oonincx, D. G., 2017. The environmental sustainability of insects as food and feed. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 37(5), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0452-8>

- Vidal, L.V.O., Albinati, R.C.B., Albinati, A.C. L., Lira, A.D., Almeida, T.R., Santos, G.B., 2008. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília 43, 1069–1074.
- Wang, G.; Peng, K.; Hu, J.; Yi, C.; Chen, X.; Wu, H.; Huang, Y., 2019. Evaluation of defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as an alternative protein ingredient for juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) diets. *Aquaculture*, 507, 114–154. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.023>
- Zhou, J.S., Liu, S.S., Ji, H., Yu, H.B., 2018. Effect of replacing dietary fish meal with black soldier fly larvae meal on growth and fatty acid composition of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquac. Nutr.* 24, 424–433. <https://doi.org/10.1111/anu.12574>

## 6. 2º ARTIGO

### **Farinha de larvas de mosca doméstica (*Musca domestica*) em dietas para tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*): desempenho, composição de carcaça, morfometria intestinal e bioquímica sanguínea**

Camila Gomes de Oliveira<sup>a\*</sup>, Paula Adriane Perez Ribeiro<sup>a</sup>, Pedro Gomes Gamarano<sup>a</sup>,  
Verônica Guimarães Landa Prado<sup>a</sup>, Débora de Almeida Freitas<sup>a</sup>, Helder de Oliveira  
Guilherme<sup>a</sup>, Cherlle Kally Lima de Almeida<sup>b</sup>, Rodrigo Fortes da Silva<sup>c</sup>, Leandro Santos  
Costa<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Laboratório de Aquacultura, Avenida Antônio Carlos, nº 6627, CEP 31270-901 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

<sup>b</sup>Universidade Federal da Bahia (UFBA), Departamento de Zootecnia, Avenida Adhemar de Barros, nº500, CEP 40170-110, Salvador, Bahia, Brasil.

<sup>c</sup>Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Zootecnia, Av. Peter Henry Rolfs, s/n - Campus Universitário, Viçosa - MG, CEP 36570-900, Minas Gerais, Brasil.

\*Autor correspondente: Laboratório de Aquacultura, Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av. Antônio Carlos, 6627, Belo Horizonte-MG, Brasil. CEP 31270-901. E-mail: [camilaoliveira080@gmail.com](mailto:camilaoliveira080@gmail.com)

## 6.1. Resumo

Nos últimos anos, houve aumento na demanda de mercado por fontes de proteína alternativas à farinha de peixe. Devido à sua composição, a farinha de larvas de mosca doméstica (*Musca doméstica*) tem demonstrado grande potencial em dietas para organismos aquáticos. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca doméstica, em dietas para juvenis de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Foram utilizados 240 peixes (peso médio inicial de  $2,70 \pm 0,14$  g), distribuídos em 16 aquários (40 L), mantidos em sistema de recirculação de água. Os animais foram alimentados três vezes ao dia (5% da biomassa), com quatro dietas experimentais 0% (controle), 33%, 66% e 100% de substituição da proteína da farinha de peixe por farinha de larvas de mosca doméstica. Ao final de 64 dias os animais foram anestesiados para coleta de sangue e, posteriormente, abatidos para coleta de tecidos. O peso final, ganho de peso diário e taxa de crescimento específico foram reduzidos quando os animais foram alimentados com 100% de substituição de farinha de peixe por farinha de inseto ( $P < 0,05$ ). No entanto a sobrevivência não foi afetada pelos tratamentos ( $P > 0,05$ ). Os índices viscerossomáticos também não foram ( $P < 0,05$ ). O extrato etéreo foi mais elevado quando os animais foram alimentados com 100% de substituição ( $P < 0,05$ ). A proteína total e a umidade não apresentaram diferenças significativas ( $P > 0,05$ ). A largura da vilosidade aumentou no tratamento com 66% de substituição ( $P < 0,05$ ), enquanto não houve diferença para a altura ( $P > 0,05$ ). A glicose, creatinina, proteína total, albumina, HDL, LDL, AST e ALT não foram diferentes significativamente ( $P > 0,05$ ). Os parâmetros de colesterol total e triglicérides foram menores quando os animais receberam 100% de substituição da farinha de peixe por farinha de mosca doméstica ( $P < 0,05$ ). Como conclusão a farinha de mosca doméstica não alterou o crescimento quando os juvenis de tilápia foram alimentados com até 66% de substituição. Além disso, a proteína bruta não foi influenciada pela farinha de inseto na dieta.

Palavras-chaves: farinha de inseto, nutrição, proteína, peixe.

## 6.2.Introdução

Os insetos são uma alternativa sustentável, com potencial de utilização como fonte de proteína na aquicultura (van Huis et al., 2013; Zhao et al., 2017). Larvas e juvenis de peixes onívoros e carnívoros, em ambiente natural, têm os insetos como fonte de alimento (Henry et al., 2015; Nogales-Mérida et al., 2019). Os insetos são considerados uma boa fonte de proteínas, lipídios, vitaminas e minerais, porém, a concentração desses nutrientes varia de acordo com a fase de vida do animal (larva, pré-pupa, pupa ou adulto), o tipo de dieta e condições de criação (Nogales-Mérida et al., 2019). Apesar de evidentes as qualidades das farinhas de inseto, esses ingredientes ainda são pouco utilizados na formulação de rações para peixes, embora atualmente tenham ganhado destaque nas pesquisas em nutrição animal.

A qualidade da proteína de um ingrediente é determinada pelo balanço entre seus aminoácidos (Conconi et al., 1984; Li et al., 2019). Nesse sentido, a farinha de inseto apresenta perfil adequado de aminoácidos essenciais (Hall, 1992; Li et al., 2019). As proteínas dos insetos possuem forte ligação com a quitina, presente no exoesqueleto dos artrópodes. Sendo assim, a digestibilidade das proteínas e aminoácidos desse ingrediente pode variar dependendo do quanto estão ligados à quitina ou escleroproteínas (Finke, 2007; Nogales-Mérida et al., 2019).

As larvas de mosca doméstica (*Musca doméstica*) pertencem à família Muscidae, ordem Diptera e se desenvolvem predominantemente em ambientes tropicais (van Huis et al., 2013). Devido ao desenvolvimento de técnicas de cultivo a farinha de larvas apresenta facilidade de produção e armazenamento (Saleh, 2020). As larvas de inseto crescem em uma vasta variedade de substratos e podem transformar os resíduos em biomassa rica em proteínas e gorduras (Makkar et al., 2014). Além disso, é um alimento seguro para os peixes (Mustapha e Kolawole, 2019). Podem ser oferecidas frescas, mas em sistemas intensivos de produção animal utiliza-se o produto seco, pela facilidade de armazenamento e transporte (van Huis et al., 2013). A porcentagem de proteína pode variar de 42 a 60%, lipídios entre 9 e 26% e fibra bruta inferior a 9% (Makkar et al., 2014). A mosca doméstica já foi estudada para algumas espécies como truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Hilaire et al., 2007), catfish americano (*Clarias gariepinus*) (Emeka e Oscar, 2016), enguia (*Monopterus albus*) (Xiang et al., 2020) e robalo (*Dicentrarchus labrax*) (Mastoraki et al., 2020). Saleh (2020) verificou que a utilização de larvas de mosca doméstica frescas em dieta comercial de juvenis de catfish americano (*Clarias gariepinus*) teve efeitos positivos no crescimento dos animais. A substituição de até 27% da farinha de peixe por farinha de mosca doméstica também não gerou impactos

negativos no crescimento de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), no entanto, a substituição crescente afetou a imunidade inata dos peixes (Wang et al., 2017). Os resultados obtidos nesses estudos indicam o potencial da mosca doméstica na aquicultura. Além disso, quando ocorre a avaliação de fontes proteicas pode haver impactos nos parâmetros sanguíneos e na composição da carcaça dos animais.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca doméstica (*Musca doméstica*) para juvenis de tilápia (*O. niloticus*), sobre o crescimento, composição de carcaça, morfometria intestinal e bioquímica sanguínea.

### **6.3. Material e métodos**

Todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV 17/2021). Os juvenis de tilápia-do-Nilo masculinizados foram aclimatados no sistema experimental de recirculação durante duas semanas, antes do experimento. Neste período, os animais foram alimentados com ração comercial contendo 360 g Kg<sup>-1</sup> de proteína. Após esse período, 240 peixes (peso médio inicial de 2,70 ± 0,14 g) foram divididos aleatoriamente em 16 aquários de 40 L cada, resultando em 15 animais por unidade experimental. Durante 64 dias, os peixes foram alimentados três vezes ao dia (8:30; 12:00 e 15:00), numa taxa de 5% da biomassa, com ajuste a cada 15 dias. A mortalidade foi monitorada diariamente. Após 20 minutos da alimentação os aquários foram limpos. Durante todo período experimental a aeração foi suplementada em todos os aquários. O fotoperíodo foi de 12:12 h (claro:escuro), com início do período de luz às 6:00 h e término às 18:00 h. A temperatura da água foi mantida em 28,19 ± 0,40, o pH em 6,68 ± 0,26 e a amônia total em 0,33 ± 0,11 mg L<sup>-1</sup>.

#### *6.3.1. Dietas experimentais*

Foram formuladas quatro dietas experimentais, cujos ingredientes e composição aproximada estão descritos na Tabela 1. Foram propostos níveis crescentes de substituição de 0%, 33%, 66% e 100% da proteína da farinha de peixe (FP) pela proteína da farinha de larvas de mosca doméstica (MD). As dietas foram extrusadas (extrusora mono rosca Inbramaq®, modelo Labor PQ30), com péletes de 3 mm e adição de óleo manual para obtenção uma mistura homogênea.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais da farinha de inseto.

Ingredientes (g kg <sup>-1</sup> )	Farinha de inseto	Proteína da farinha de larva de mosca doméstica (%)			
		0	33	66	100
Milho	-	257,5	246,6	235,7	224,8
Farinha de peixe	-	150,0	100,0	50,0	0,00
Farelo de soja	-	531,3	533,2	535,0	536,8
Farelo de trigo	-	10,0	10,0	10,0	10,0
Farinha de mosca doméstica	-	0,00	62,0	124,1	186,1
Óleo de soja	-	35,0	32,0	29,0	26,0
Sal	-	5,0	5,0	5,0	5,0
Fosfato bicálcico	-	5,0	5,0	5,0	5,0
Suplemento vitamínico-mineral <sup>a</sup>	-	5,0	5,0	5,0	5,0
Óxido crômico	-	1,0	1,0	1,0	1,0
Antioxidante (BHT) <sup>b</sup>	-	0,2	0,2	0,2	0,2
Composição analisada (% na matéria seca)					
Proteína bruta	57,16	37,77	37,80	37,24	37,84
Energia bruta (MJ kg <sup>-1</sup> )	18,42	20,27	21,60	21,07	21,93
Extrato etéreo	18,16	9,04	9,77	10,86	10,61

<sup>a</sup> Composição do suplemento vitamínico e mineral: Ácido fólico (Min) 2500 mg kg<sup>-1</sup>, Ácido pantotênico (Min) 3750 mg kg<sup>-1</sup>, Biotina (Min) 125 mg kg<sup>-1</sup>, Zinco (Min) 20 g kg<sup>-1</sup>, Cobre (Min) 2000 mg kg<sup>-1</sup>, Colina (Min) 125 g kg<sup>-1</sup>, Ferro (Min) 15 g kg<sup>-1</sup>, Iodo (Min) 125 mg kg<sup>-1</sup>, Vit K (Min) 1000 mg kg<sup>-1</sup>, Manganês (Min) 3700 mg kg<sup>-1</sup>, Niacina (Min) 7800 mg kg<sup>-1</sup>, Selênio (Min) 75 mg kg<sup>-1</sup>, Vit A (Min) 2.000.000 UI kg<sup>-1</sup>, Vit E (Min) 15000 UI kg<sup>-1</sup>, Vit B<sub>1</sub> (Min) 2500 mg kg<sup>-1</sup>, Vit B<sub>12</sub> (Min) 5000 mg kg<sup>-1</sup>, Vit B<sub>2</sub> (Min) 2500 mg kg<sup>-1</sup>, Vit B<sub>6</sub> (Min) 2000 mg kg<sup>-1</sup>, Vit D<sub>3</sub> (Min) 500.000 UI kg<sup>-1</sup>;

<sup>b</sup> BHT - Butil Hidroxi Tolueno.

### 6.3.2. Coleta de amostras

Ao final do período experimental todos os peixes foram pesados. Os animais foram anestesiados com eugenol (90 mg L<sup>-1</sup>) (Ribeiro et al., 2015; Ferreira et al., 2021) e seis animais de cada repetição foram amostrados para coleta de sangue, por punção da veia caudal, utilizando seringas heparinizadas. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3.000 rpm, por 15 min (centrifuga Spinlab SL-5a.m.), para obtenção do soro, armazenado em freezer - 20°C para análises posteriores.

Ao final da coleta de sangue, três animais por repetição (n=12) foram eutanasiados com overdose de eugenol (200 mg L<sup>-1</sup>) (Vidal et al., 2008), para retirada das vísceras e separação do hepatopâncreas para determinação dos índices viscerossomático e hepatossomático. O intestino inicial de três peixes de cada aquário foi fixado em solução de formol tamponado (10%) para análise histológica. As carcaças evisceradas foram pré-secas

em estufa de ventilação forçada (55°C, durante 48 horas) e em seguida moídas para análises futuras.

### 6.3.3. Parâmetros zootécnicos

Foram determinadas as seguintes variáveis de desempenho:

- Ganho de peso diário ( $GPD$  g) =  $(Peso\ final - Peso\ inicial) / período\ experimental$ ;
- Taxa de crescimento específico (TCE) =  $100 \times [(ln\ peso\ final - ln\ peso\ inicial) / período\ experimental]$ ;
- Sobrevivência (%) =  $100 \times (n^\circ\ final\ de\ peixes / n^\circ\ inicial\ de\ peixes)$ ;
- Índice viscerossomático (IVS) =  $100 \times (peso\ das\ vísceras / peso\ corporal\ total)$ ;
- Índice hepatossomático (IHS) =  $100 \times (peso\ do\ fígado / peso\ corporal\ total)$ .

### 6.3.4. Bioquímica sanguínea

As amostras de soro sanguíneo foram analisadas em equipamento automático (Mindray BS-200E; Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., Shenzhen, China), utilizando kits comerciais (Bioclin / Quibasa, Brasil). Foram determinados os teores circulantes de glicose (K082-3), albumina (K040-1), triglicerídeos (K117-3), colesterol total (K083-3), lipoproteína de alta densidade (HDL, K071-23), lipoproteína de baixa densidade (LDL, K088-27), creatinina (K067), proteína total (K031), aspartato transaminase (AST, K048-6) e alanina transaminase (ALT, K049-6) (Guilherme et al., 2021). Para as determinações bioquímicas foi utilizado um pool sanguíneo em cada repetição, composto por dois animais, totalizando 12 amostras por tratamento.

### 6.3.5. Composição de carcaça

Foram determinados na carcaça os teores de umidade, proteína bruta, extrato etéreo e matéria seca, seguindo a metodologia descrita pelo A.O.A.C. (2016).

### 6.3.6. Morfometria intestinal

Após fixação em solução de formol tamponado (10%), todas as amostras foram desidratadas com protocolo padrão e imersas em parafina, para que o tecido pudesse então ser

seccionado (5  $\mu\text{m}$  de espessura) e colocado em lâminas de vidro e, posteriormente, foram confeccionadas lâminas (5  $\mu\text{m}$  de espessura) em micrótomo (Microm HM 325, San Diego CA, EUA). Para coloração dos tecidos foi seguido o protocolo de hematoxilina-eosina (H&E). Com auxílio de um microscópio de luz (Nikon Eclipse 50i) com câmera acoplada (Moticam 2300), dez vilosidades intestinais foram medidas (Renna et al., 2017), para determinação de altura e largura, com auxílio do software Motic Plus 3.0.

#### 6.3.7. Estatística

Os dados passaram por testes de homoscedasticidade de variâncias (Levene) e normalidade (Shapiro Wilk). Os dados de AST e ALT foram transformados em  $\log_{10}$ . Posteriormente, os resultados foram submetidos à ANOVA. Quando significativos, realizou-se a comparação das médias pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Todos os valores foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. As análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico InfoStat® (Infostat, 2008).

### 6.4. Resultados

#### 6.4.1. Desempenho

O peso final, GPD e TCE (tabela 2) foram reduzidos quando os animais foram alimentados com 100% de substituição da farinha de peixe por farinha de mosca doméstica ( $P < 0,05$ ). Já a sobrevivência não foi afetada pela farinha de inseto na dieta ( $P > 0,05$ ). O IVS e IHS também não diferiram significativamente entre os tratamentos estudados ( $P > 0,05$ ).

Tabela 2. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de desempenho de juvenis tilápia alimentados com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca doméstica na dieta.

Variáveis	Níveis de substituição (%)				P-valor
	0	33	66	100	
Peso final (g)	51,73 $\pm$ 6,96 <sup>a</sup>	45,30 $\pm$ 1,17 <sup>ab</sup>	47,13 $\pm$ 5,21 <sup>ab</sup>	38,1 $\pm$ 3,60 <sup>b</sup>	0,0284
GPD (g)	0,77 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	0,67 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup>	0,69 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	0,55 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	0,0286
TCE (g)	4,59 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	4,42 $\pm$ 0,03 <sup>ab</sup>	4,47 $\pm$ 0,17 <sup>ab</sup>	4,12 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>	0,0212
Sobrevivência (%)	76,67 $\pm$ 14,53 <sup>a</sup>	86,67 $\pm$ 8,16 <sup>a</sup>	88,33 $\pm$ 7,26 <sup>a</sup>	83,33 $\pm$ 3,33 <sup>a</sup>	0,4539
IVS (%)	6,68 $\pm$ 0,98 <sup>a</sup>	6,40 $\pm$ 0,92 <sup>a</sup>	6,55 $\pm$ 0,73 <sup>a</sup>	7,05 $\pm$ 0,80 <sup>a</sup>	0,3235
IHS (%)	1,20 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>	1,37 $\pm$ 0,40 <sup>a</sup>	1,21 $\pm$ 0,32 <sup>a</sup>	1,36 $\pm$ 0,43 <sup>a</sup>	0,5565

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 6.4.2. Composição de carcaça

A proteína bruta e umidade (tabela 3) não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos propostos ( $P > 0,05$ ). Os dados de extrato etéreo apresentaram mais elevados quando os juvenis foram alimentados com 100% de substituição da farinha de peixe pela farinha de mosca doméstica em relação ao grupo controle ( $P < 0,05$ ).

Tabela 3. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) da composição centesimal na carcaça de juvenis tilápia, alimentados com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca doméstica na dieta. Valores expressos com base na matéria seca.

Variáveis (%)	Níveis de substituição (%)				P-valor
	0	33	66	100	
Proteína Bruta	64,78 $\pm$ 2,25 <sup>a</sup>	60,84 $\pm$ 3,80 <sup>a</sup>	61,68 $\pm$ 7,02 <sup>a</sup>	63,00 $\pm$ 1,91 <sup>a</sup>	0,2077
Extrato Etéreo	25,84 $\pm$ 2,12 <sup>b</sup>	28,99 $\pm$ 4,57 <sup>ab</sup>	28,62 $\pm$ 1,89 <sup>ab</sup>	31,78 $\pm$ 2,27 <sup>a</sup>	0,0003
Umidade	76,56 $\pm$ 1,06 <sup>a</sup>	76,43 $\pm$ 1,31 <sup>a</sup>	77,15 $\pm$ 1,09 <sup>a</sup>	76,08 $\pm$ 0,96 <sup>a</sup>	0,186

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 6.4.3. Morfometria intestinal

A altura das vilosidades intestinais (tabela 4) não foram influenciadas pelos tratamentos ( $P > 0,05$ ). No entanto, a largura aumentou quando os animais foram alimentados com 66% de substituição em relação ao grupo controle ( $P < 0,05$ ).

Tabela 4. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) das vilosidades intestinais de juvenis tilápia alimentados com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca doméstica na dieta.

Variáveis ( $\mu\text{m}$ )	Níveis de substituição (%)				P-valor
	0	33	66	100	
Altura	194,10 $\pm$ 55,31 <sup>a</sup>	170,31 $\pm$ 58,00 <sup>a</sup>	163,98 $\pm$ 23,02 <sup>a</sup>	213,63 $\pm$ 59,55 <sup>a</sup>	0,3911
Largura	56,80 $\pm$ 10,84 <sup>b</sup>	61,35 $\pm$ 12,08 <sup>ab</sup>	70,76 $\pm$ 9,82 <sup>a</sup>	62,43 $\pm$ 7,95 <sup>ab</sup>	0,0304

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 6.4.4. Bioquímica sanguínea

A glicose, creatinina, proteína total, albumina, HDL, LDL, AST e ALT (tabela 5) não foram diferentes significativamente ( $P > 0,05$ ). O colesterol total e triglicerídeos séricos foram reduzidos quando os animais receberam a dieta com 100% de substituição da proteína da farinha de peixe por proteína de larvas de mosca doméstica em relação aqueles que não receberam a farinha de inseto na dieta ( $P < 0,05$ ).

Tabela 5. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) variáveis séricas de juvenis tilápia alimentados com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca doméstica na dieta.

Variáveis (mg dL <sup>-1</sup> )	Níveis de substituição (%)				P- valor
	0	33	66	100	
Glicose	67,46 $\pm$ 18,68 <sup>a</sup>	66,59 $\pm$ 15,36 <sup>a</sup>	63,33 $\pm$ 7,75 <sup>a</sup>	62,94 $\pm$ 10,51 <sup>a</sup>	0,8234
Creatinina	0,34 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,34 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,34 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,30 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,2856
Colesterol total	102,99 $\pm$ 11,83 <sup>a</sup>	92,11 $\pm$ 13,75 <sup>ab</sup>	97,76 $\pm$ 7,50 <sup>ab</sup>	89,70 $\pm$ 6,68 <sup>b</sup>	0,0209
Triglicérides	89,24 $\pm$ 26,60 <sup>a</sup>	68,95 $\pm$ 23,23 <sup>ab</sup>	73,37 $\pm$ 20,45 <sup>ab</sup>	64,77 $\pm$ 12,22 <sup>b</sup>	0,0413
Proteína total	3,02 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>	3,78 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	2,86 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>	2,89 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>	0,2482
Albumina	1,18 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>	0,99 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	1,11 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	1,04 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	0,1172
HDL	29,99 $\pm$ 4,46 <sup>a</sup>	28,85 $\pm$ 4,41 <sup>a</sup>	33,22 $\pm$ 5,43 <sup>a</sup>	28,42 $\pm$ 4,04 <sup>a</sup>	0,0778
LDL	9,19 $\pm$ 2,12 <sup>a</sup>	10,97 $\pm$ 2,35 <sup>a</sup>	11,16 $\pm$ 2,18 <sup>a</sup>	11,86 $\pm$ 3,61 <sup>a</sup>	0,1215
AST	92,29 $\pm$ 48,44 <sup>a</sup>	108,99 $\pm$ 53,82 <sup>a</sup>	67,83 $\pm$ 48,02 <sup>a</sup>	81,91 $\pm$ 38,99 <sup>a</sup>	0,1790
ALT	3,23 $\pm$ 1,92 <sup>a</sup>	3,70 $\pm$ 2,35 <sup>a</sup>	3,16 $\pm$ 1,93 <sup>a</sup>	3,34 $\pm$ 2,13 <sup>a</sup>	0,9116

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05).

## 6.5. Discussão

No presente estudo, o desempenho dos juvenis de tilápia-do-Nilo reduziu apenas quando ocorreu a substituição total da proteína da farinha de peixe por larvas de mosca doméstica. Efeito semelhante foi verificado para juvenis de barramundi (*Lates calcarifer*), com animais alimentados com 46,2 e 61,6% de larvas de mosca soldado-negro (*Hermetia illucen*) (10% e sem farinha de peixe, respectivamente), no qual foi observada redução no ganho de peso e TCE dos peixes, em relação àqueles que não receberam farinha de larvas na dieta (Katya et al., 2017). Esses resultados contrastam com os encontrados por Lin e Mui (2016), que não verificaram diferenças no desempenho dessa mesma espécie, entre os tratamentos avaliados. Wang et al. (2017) utilizaram a farinha de mosca doméstica para tilápia, verificando que o uso de até 33% da farinha de inseto (9% de farinha de peixe na dieta) não diminuiu o crescimento dos animais. Porém, quando ocorreu a substituição completa da farinha de peixe (43,0% de mosca doméstica) o desempenho foi reduzido.

Diversos autores têm relatado que a presença de quitina na dieta pode reduzir a disponibilidade das proteínas, resultando na redução do crescimento dos peixes (Finke, 2007;

Sanchez-Muros et al., 2015; Katya et al. 2017; Fisher et al., 2020). Kroeckel et al. (2012) verificaram que a farinha de mosca soldado-negro apresentava 9,6% de quitina em sua composição. Sanchez-Muros et al. (2015), observaram que os tratamentos com *Tenebrio molitor* apresentaram fibra em detergente ácido avaliada como quitina, variando entre 1,37% e 2,82%. Essas proporções foram suficientes para reduzir o crescimento de tilápias alimentadas com farinha de inseto. A quitina é um polímero de cadeia longa (b-(1-4) N-acetil-D-glucosamina), encontrada no exoesqueleto e endoesqueleto dos insetos (Finke, 2007; Fisher et al., 2020). Uma parte da proteína presente na farinha de inseto está ligada à quitina, o que torna esse nutriente menos disponível para digestão e absorção (Ng et al., 2001; Finke, 2007; Nogales-Mérida et al., 2019).

No presente estudo, os teores de proteína bruta e umidade da carcaça dos juvenis de tilápia-do-Nilo não sofreram alterações pelas adições de farinha de inseto. De fato, esses resultados condizem com os relatados na literatura para robalo, salmão do Atlântico, barramundi e tilápia, na qual não foram observadas alterações nessas variáveis (Gasco et al., 2016; Lock et al., 2016; Katya et al. 2017; Amer et al., 2021). Esses resultados sugerem que esses animais foram capazes de depositar na carcaça o conteúdo de proteínas absorvidos da dieta, independente da adição da farinha de inseto. No entanto, o conteúdo de extrato etéreo foi aumentado com a substituição total pela farinha de inseto. Segundo Alves et al. (2021), tilápias-do-Nilo alimentadas com 30% de *Zophobas morio* (substituição total do farelo de soja), ocorreu aumento do teor de lipídios no corpo dos animais. Esses autores atribuem esses resultados aos níveis de ácidos graxos saturados presentes na farinha que, possivelmente, induziram à lipogênese. A composição de ácidos graxos na dieta se reflete na composição corporal dos peixes (Alves et al., 2021). As farinhas de inseto são ricas em gordura (Barroso et al., 2014; Mancuso et al., 2016). Porém, o processamento da farinha, em especial o desengorduramento, pode ser uma alternativa para reduzir esses efeitos apresentados no presente estudo, uma vez que, permitiria a redução dos lipídios da farinha, melhorando o teor de proteínas (Manzano-Agugliaro et al., 2012; Mancuso et al., 2016). Embora tenha ocorrido aumento no conteúdo de extrato etéreo na carcaça quando alimentados com 100% de substituição, não houve reflexo nos índices somáticos. Esses parâmetros estão associados à deposição de gordura no fígado e na cavidade peritoneal (NRC, 2011; Sagada et al., 2017). Os resultados da presente pesquisa estão de acordo com os encontrados para tilápias alimentadas com farinha de mosca doméstica (Wang et al., 2017).

No presente trabalho, a farinha de mosca doméstica causou efeitos nas vilosidades intestinais dos juvenis, sendo que 66% substituição da proteína da farinha de peixe pela

proteína da farinha de larvas na dieta aumentou a largura dessas vilosidades. Rawski et al. (2021) observaram o aumento da altura e largura das vilosidades intestinais em esturjão (*Acipenser baerii*), quando alimentado com níveis crescentes de mosca soldado-negro na dieta, associado a melhorias no desempenho. Chaklader et al. (2019) observaram efeito semelhante para barramundi alimentado com suplementação de 10% em dietas com variações nos níveis, de 45 a 90% de farinha de subprodutos de aves. As vilosidades intestinais são as principais áreas de absorção de nutrientes, sendo que o aumento da área está associado a maior capacidade de absorção e, como consequência, ação enzimática adequada (Dimitroglou et al., 2009 ; Zhou et al., 2010; Guerreiro et al., 2016; Renna et al., 2017; Xu et al., 2020).

Neste estudo, não foi encontrada influência da farinha de larvas de mosca doméstica na maioria dos parâmetros sanguíneos. Quando juvenis de truta marinha (*Salmo trutta m. trutta*) foram alimentados com *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio*, não foram observadas alterações na glicose e na proteína sérica total (Mikolajczak et al., 2020). O aumento da glicose no sangue é resultado de uma variedade de fatores, incluindo a presença de hormônios do estresse e mudanças na composição da dieta (Polakof et al., 2012). O teor de proteína total, por outro lado, é considerado um indicador nutricional (McCarthy et al., 1973; Mastoraki et al., 2020). Variações nesse parâmetro podem indicar dano tecidual, alterações no volume sanguíneo e resposta ao estresse (Panettieri et al., 2020; Mikołajczak et al., 2020). As albuminas constituem uma porção significativa das proteínas (Mikolajczak et al., 2020) e desempenham um papel importante no transporte de lipídios (Francis, 2010). Quando ocorre comprometimento no tecido renal, a creatinina tende a acumular no organismo, sendo assim, o aumento desse metabólito pode indicar dano na função dos rins (Sano, 1962; Garba et al., 2007; Narra et al., 2017; Hong et al., 2019). A ausência de alterações nesses parâmetros pode indicar que a farinha de mosca doméstica não causou alterações no estado nutricional dos animais ou danos aos rins. A farinha de inseto não teve efeito sobre os níveis de AST e ALT para a tilápia. Resultados semelhantes foram obtidos com robalo japonês (*Lateolabrax japonicus*) alimentado com dietas contendo mosca soldado-negro. Esses achados sugerem que os tratamentos com larvas de mosca doméstica não tiveram efeito sobre a saúde hepática desses animais, pois o aumento da atividade enzimática está ligado ao dano ou necrose do hepatopâncreas (Belghit et al., 2019).

O colesterol total e triglicerídeos das tilápias foram reduzidos quando substituiu 100% da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas de mosca doméstica. Diversos estudos com efeitos semelhantes, em que os níveis lipídicos sanguíneos foram reduzidos, foram relatados para de diferentes espécies como carpa Jian (*Cyprinus carpio* var.

Jian) (Li et al., 2017), robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) (Magalhães et al., 2017), *Sebastes schlegeli* (Khosravi et al., 2018), robalo japonês (*Lateolabrax japonicus*) (Wang et al., 2019) e truta marinha (*Salmo trutta m. trutta*) (Mikolajczak et al., 2020). Tais efeitos foram atribuídos à quitosana, presente na quitina das farinhas de inseto (Sugano et al., 1980; Chen et al., 2014; Magalhães et al., 2017; Li et al., 2017; Khosravi et al., 2018; Wang et al., 2019; Mikolajczak et al., 2020). Ela apresenta alta capacidade de se ligar às micelas lipídicas, diminuindo sua absorção (Sugano et al., 1980; Chen et al., 2014; Magalhães et al., 2017; Li et al., 2017; Khosravi et al., 2018; Wang et al., 2019; Mikolajczak et al., 2020). Além disso, Wang et al. (2019), atribuem a redução do colesterol circulante nos peixes à menor concentração na farinha de inseto (mosca soldado-negro), gerando reflexos nos teores sanguíneos. No entanto, é importante ressaltar que a farinha de mosca doméstica estimulou o depósito de lipídios na carcaça dos animais, portanto, mais estudos são necessários para entender os efeitos da farinha de mosca doméstica sobre lipogênese desses animais.

## 6.6. Conclusão

Em resumo, o presente estudo demonstrou que a substituição de até 66% da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de larvas da mosca doméstica não produz redução do crescimento juvenis de tilápia-do-Nilo. Além disso, não gerou alterações na proteína bruta da carcaça.

## 6.7. Agradecimentos

Agradecemos a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudo. O presente estudo foi financiado pelo CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) com projeto aprovado pela chamada universal 2018 número 422284/2018-1.

## 6.8. Referências

A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists), 2016. Official methods of analysis. 20<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA.

- Alves, A.P.D.C., Paulino, R.R., Pereira, R.T., da Costa, D.V., Rosa, P.V., 2021. Nile tilapia fed insect meal: Growth and innate immune response in different times under lipopolysaccharide challenge. *Aquac. Res.* 52, 529–540. <https://doi.org/10.1111/are.14911>
- Amer, A. A., El-Nabawy, E. S. M., Gouda, A. H., Dawood, M. A., 2021. The addition of insect meal from *Spodoptera littoralis* in the diets of Nile tilapia and its effect on growth rates, digestive enzyme activity and health status. *Aquacult. Res.*, 52(11), 5585-5594. <https://doi.org/10.1111/are.15434>
- Barroso, F.G., de Haro, C., Sánchez-Muros, M.J., Venegas, E., Martínez-Sánchez, A., Pérez-Bañón, C., 2014. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422–423, 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.024>
- Belforti, M., Gai, F., Lussiana, C., Renna, M., Malfatto, V., Rotolo, L., De Marco, M., Dabbou, S., Schiavone, A., Zoccarato, I., Gasco, L., 2015. *Tenebrio molitor* meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: Effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets. *Ital. J. Anim. Sci.* 14, 670–676. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4170>
- Belghit, I., Liland, N.S., Gjesdal, P., Biancarosa, I., Menchetti, E., Li, Y., Waagbø, R., Krogdahl, Å., Lock, E.J., 2019. Mosca soldado-negro larvae meal can replace fish meal in diets of sea-water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 503, 609– 619. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2018.12.032>
- Chaklader, M. R., Siddik, M. A., Fotedar, R., Howieson, J., 2019. Insect larvae, *Hermetia illucens* in poultry by-product meal for barramundi, *Lates calcarifer* modulates histomorphology, immunity and resistance to *Vibrio harveyi*. *Sci. Rep.* 9(1), 1-15.
- Chen, Y., Zhu, X., Yang, Y., Han, D., Jin, J., Xie, S., 2014. Effect of dietary chitosan on growth performance, haematology, immune response, intestine morphology, intestine microbiota and disease resistance in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquac. Nutr.* 20(5), 532-546. <https://doi.org/10.1111/anu.12106>

- Conconi, J.R.E., Moreno, J.M.P., Mayaudon, C.M., Valdez, F.R., Perez, M.A., Prado, E.S., Rodriguez, H.B., 1984. Protein content of some edible insects in Mexico. *Ethnobiology* 4, 61-72.
- Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Moate, R., Davies, S.J., Spring, P., Sweetman, J., Bradley, G., 2009. Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Anim. Sci.* 87, 3226–3234. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1428>
- Emeka, A. I., Oscar, E. V., 2016. Comparative Study of Growth Performance, comparative study of growth performance, food utilization and survival of the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings fed live maggot (*Musca domestica*) and coppens commercial feed. *Int. J. Sci. Res. Sci. Eng. Technol.* 2, 379–386.
- Ferreira, A. L., Bonifácio, C. T., e Silva, W. D. S., Takata, R., Favero, G. C., Luz, R. K., 2021. Anesthesia with eugenol and menthol for *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): Induction and recovery times, ventilation frequency and hematological and biochemical responses. *Aquaculture*, 544, 737076. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737076>
- Finke, M.D., 2007. Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biol.* 26, 105–115. <https://doi.org/10.1002/zoo.20123>
- Fisher, H.J., Collins, S.A., Hanson, C., Mason, B., Colombo, S.M., Anderson, D.M., 2020. Black soldier fly larvae meal as a protein source in low fish meal diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 521, 734978. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734978>
- Garba, S., Adelaiye, A., Mshelia, L., 2007. Histopathological and biochemical changes in the rats kidney following exposure to a pyrethroid based mosquito coil. *J Appl Sci Res* 3, 1788–93.

- Gasco, L., Henry, M., Piccolo, G., Marono, S., Gai, F., Renna, M., Lussiana, C., Antonopoulou, E., Mola, P., Chatzifotis, S., 2016. *Tenebrio molitor* meal in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles: Growth performance, whole body composition and in vivo apparent digestibility. *Anim. Feed Sci. Technol.* 220, 34–45. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2016.07.003>
- Guerreiro, I., Enes, P., Rodiles, A., Merrifield, D., Oliva-Teles, A., 2016. Effects of rearing temperature and dietary short-chain fructooligosaccharides supplementation on allochthonous gut microbiota, digestive enzymes activities and intestine health of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) juveniles. *Aquac. Nutr.* 22, 631–642. <https://doi.org/10.1111/anu.12277>
- Guilherme, H.O., Santos, F. A.C., Costa, L.S., Prado, V.G.L., Palheta, G.D.A., Melo, N.F.A.C., Luz, R.K., Ribeiro, P.A.P., 2021. Feeding, growth, and blood chemistry of the tambaqui (*Colossoma macropomum*) held under self-feeding and time- restricted automatic feeding conditions. *Aquacult. Int.* 30(1), 323-339. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00801-7>
- Hall, G.M., 1992. Fish processing technology. In: Ockerman, H.W. (Ed.), *Fisher Byproducts*. VCH Publishers, New York, USA, pp. 155-192.
- Henry, M., Gasco, L., Piccolo, G., Fountoulaki, E., 2015. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 203, 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001>
- Hong, J., Chen, X., Liu, S., Fu, Z., Han, M., Wang, Y., Gu, Z., Ma, Z., 2019. Impact of fish density on water quality and physiological response of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) flingerlings during transportation. *Aquaculture* 507, 260–265. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.040>

- Kader, M.A., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Bulbul, M., Honda, Y., Mamauag, R.E., Laining, A., 2011. Growth, nutrient utilization, oxidative condition, and element composition of juvenile red sea bream *Pagrus major* fed with fermented soybean meal and scallop by-product blend as fishmeal replacement. *Fish. Sci.* 77, 119–128. <https://doi.org/10.1007/S12562-010-0312-9>
- Katya, K., Borsra, M.Z.S., Ganesan, D., Kuppusamy, G., Herriman, M., Salter, A., Ali, S.A., 2017. Efficacy of insect larval meal to replace fish meal in juvenile barramundi, *Lates calcarifer* reared in freshwater. *Int Aquat Res* 9, 303–312. <https://doi.org/10.1007/s40071-017-0178-x>
- Kroeckel, S., Harjes, A. G., Roth, I., Katz, H., Wuertz, S., Susenbeth, A., Schulz, C., 2012. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute—Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 364, 345-352. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.08.041>
- Li, S., Ji, H., Zhang, B., Zhou, J., Yu, H., 2017. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian): Growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure. *Aquaculture* 477, 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.015>
- Li, X., Rahimnejad, S., Wang, L., Lu, K., Song, K., Zhang, C., 2019. Substituting fish meal with housefly (*Musca domestica*) maggot meal in diets for bullfrog *Rana (Lithobates) catesbeiana*: Effects on growth, digestive enzymes activity, antioxidant capacity and gut health. *Aquaculture*, 499, 295-305. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.09.053>
- Lin, Y.-H., Mui, J.-J., 2016. Evaluation of dietary inclusion of housefly maggot (*Musca domestica*) meal on growth, fillet composition and physiological responses for barramundi, *Lates calcarifer*. *Aquac. Res.*, 48(5), 2478-2485. <https://doi.org/10.1111/are.13085>.

- Lindsay, G.J.H., Walton, M.J., Adron, J.W., Fletcher, T.C., Cho, C.Y., Cowey, C.B., 1984. The growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing chitin and its relationship to chitinolytic enzymes and chitin digestibility. *Aquaculture* 37, 315e334. <https://doi.org/10.1093/ps/86.6.1070>
- Lock, E.R., Arsiwalla, T., Waagbø, R., 2016. Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolt. *Aquac. Nutr.* 22, 1202–1213. <https://doi.org/10.1111/anu.12343>
- Magalhães, R., Sánchez-lópez, A., Silva, R., Martínez-llorens, S., Oliva-teles, A., Peres, H., 2017. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 476, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.021>
- Makkar, H.P.S., Tran, G., Heuzé, V., Ankers, P., 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* 197, 1–33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>
- Mancuso, T., Baldi, • L, Gasco, • L, 2016. An empirical study on consumer acceptance of farmed fish fed on insect meals: the Italian case Motivation and background. *Aquacult Int* 24, 1489–1507. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0007-z>
- Manzano-Agugliaro, F., Sanchez-Muros, M. J., Barroso, F. G., Martínez-Sánchez, A., Rojo, S., Pérez-Bañón, C., 2012. Insects for biodiesel production *Renew. Sust. Energ. Rev.* *Renew Sust. Energ. Rev.* 16(6), 3744-3753. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.03.017>
- Mastoraki, M., Mollá Ferrándiz, P., Vardali, S.C., Kontodimas, D.C., Kotzamanis, Y.P., Gasco, L., Chatzifotis, S., Antonopoulou, E., 2020. A comparative study on the effect of fish meal substitution with three different insect meals on growth, body composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 528. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735511>

- McCarthy, D.H., Stevenson, J.P., Roberts, M.S., 1973. Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson): I. The Kamloops variety. J. Fish Biol. 1973, 5, 1–8, <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1973.tb04425.x>
- Mikołajczak, Z., Rawski, M., Mazurkiewicz, J., Kieró Nczyk, B., Józefiak, D., 2020. The Effect of Hydrolyzed Insect Meals in Sea Trout Fingerling (*Salmo trutta m. trutta*) Diets on Growth Performance, Microbiota and Biochemical Blood Parameters. Animals 10, 2031. <https://doi.org/10.3390/ani10061031>
- Mustapha, A.K., Kolawole, A.A., 2019. Potentials of fresh housefly maggot in the diet of *Oreochromis niloticus* fingerlings. J. Appl. Sci. Environ. Manag. 23, 681. <https://doi.org/10.4314/jasem.v23i4.17>
- Narra, M.R., Rajender, K., Reddy, R.R., Murty, U.S., Begum, G., 2017. Insecticides induced stress response and recuperation in fish: Biomarkers in blood and tissues related to oxidative damage. Chemosphere 168, 350–357. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2016.10.066>
- National Research Council - NRC., 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy Press, Washington.
- Ng, W.-K., Liew, F.-L., Ang, L.-P., Wong, & K.-W., 2001. Potential of mealworm (*Tenebrio molitor*) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. Aquac. Res. 32, 273-280. <https://doi.org/10.1046/j.1355-557x.2001.00024.x>
- Nogales-Mérida, S., Gobbi, P., Józefiak, D., Mazurkiewicz, J., Dudek, K., Rawski, M., Kierończyk, B., Józefiak, A., 2019. Insect meals in fish nutrition. Rev. Aquac. 11, 1080–1103. <https://doi.org/10.1111/raq.12281>

- Panettieri, V., Chatzifotis, S., Messina, C.M., Olivotto, I., Manuguerra, S., Randazzo, B., Ariano, A., Bovera, F., Santulli, A., Severino, L., Piccolo, G., 2020. Honey Bee Pollen in Meagre (*Argyrosomus regius*) Juvenile Diets: Effects on Growth, Diet Digestibility, Intestinal Traits, and Biochemical Markers Related to Health and Stress. *Animals* 10, 231. <https://doi.org/10.3390/ani10020231>
- Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J.L., Moon, T.W., 2012. Glucose metabolism in fish: a review. *J. Comp. Physiol. B* 182, 1015 -1045. <https://doi.org/10.1007/s00360-012-0658-7>
- Pratoomyot, J., Bendiksen, E.Å., Bell, J.G., Tocher, D.R., 2010. Effects of increasing replacement of dietary fishmeal with plant protein sources on growth performance and body lipid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 305, 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.04.019>
- Rawski, M., Mazurkiewicz, J., Kierończyk, B., Józefiak, D., 2021. Black soldier fly full-fat larvae meal is more profitable than fish meal and fish oil in Siberian sturgeon farming: The effects on aquaculture sustainability, economy and fish GIT development. *Animals*, 11(3), 604. <https://doi.org/10.3390/ani11030604>
- Renna, M., Schiavone, A., Gai, F., Dabbou, S., Lussiana, C., Malfatto, V., Prearo, M., Capucchio, M.T., Biasato, I., 2017. Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) diets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8:57, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0191-3>
- Ribeiro, P. A., Miranda-Filho, K. C., Melo, D. C. D., Luz, R. K., 2015. Efficiency of eugenol as anesthetic for the early life stages of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *An. Acad. Bras. Ciênc.*, 87, 529-535.
- Sagada, G., Chen, J., Shen, B., Huang, A., Sun, L., Jiang, J., Jin, C., 2017. Optimizing protein and lipid levels in practical diet for juvenile northern snakehead fish (*Channa argus*). *Anim. Nutr.* 3, 156–163. <https://doi.org/10.1016/J.ANINU.2017.03.003>

- Saleh, H. H. (2020). Effect of feeding on fresh (wet) housefly maggots (*Musca domestica*) with or without artificial diet on water quality and growth rates of African catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) fry under laboratory conditions. Zool. Res. 2(2). <https://doi.org/10.30564/jzr.v2i2.2053>
- Sánchez-Muros, M.J., Barroso, F.G., Manzano-Agugliaro, F., 2014. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. J. Clean. Prod. 65, 16–27. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2013.11.068>
- Sano, T., 1962. Haematological studies of the culture fishes in Japan. J. Tokyo Uni. Fish.
- Shiau, S.Y., Yu, Y.P., 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. Aquaculture 179, 439–446. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00177-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00177-5)
- St-Hilaire, S., Sheppard, C., Tomberlin, J.K., Irving, S., Newton, L., McGuire, M.A., Mosley, E.E., Hardy, R.W., Sealey, W., 2007. Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. J. World Aquac. Soc. 38, 59–67. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2006.00073.x>
- Sugano, M., Fujikawa, T., Hiratsuji, Y., Nakashima, K., Fukuda, N., Hasegawa, Y., 1980. A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. Am. J. Clin. Nutr. 33(4), 787-793. <https://doi.org/10.1093/ajcn/33.4.787>
- Taufek, N. M., Simarani, K., Muin, H., Aspani, F., Raji, A. A., Alias, Z., Razak, S. A., 2018. Inclusion of cricket (*Gryllus bimaculatus*) meal in African catfish (*Clarias gariepinus*) feed influences disease resistance. J. Fish. 6(2), 623-631. <http://orcid.org/0000-0001-5445-0830>
- Tilami, S. K., Turek, J., Červený, D., Lepič, P., Kozák, P., Burkina, V., Mráz, J. 2020. Insect meal as a partial replacement for fish meal in a formulated diet for perch *Perca fluviatilis*. Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 20(12), 867-878.

- van Huis, A., 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annu. Rev. Entomol.* 58, 563–583. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704>
- Vidal, L.V.O., Albinati, R.C.B., Albinati, A.C. L., Lira, A.D., Almeida, T.R., Santos, G.B., 2008. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília 43, 1069–1074.
- Wang, G., Peng, K., Hu, J., Yi, C., Chen, X., Wu, H., Huang, Y., 2019. Evaluation of defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as an alternative protein ingredient for juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) diets. *Aquaculture* 507, 144–154. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.023>
- Wang, L., Li, J, Jin, J. N., Zhu, F., Roffeis, M., Zhang, X. Z., 2017. A comprehensive evaluation of replacing fishmeal with housefly (*Musca domestica*) maggot meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): *Aquac. Nutr.* 23. <https://doi.org/10.1111/anu.12466>
- Xiang, J., Qin, L., Zhao, D., Xiong, F., Wang, G., Zou, H., Li, W., Li, M., Song, K., Wu, S., 2020. Growth performance, immunity and intestinal microbiota of swamp eel (*Monopterus albus*) fed a diet supplemented with house fly larvae (*Musca domestica*). *Aquac. Nutr.* 26, 693–704. <https://doi.org/10.1111/anu.13029>
- Xu, X., Ji, H., Yu, H., Zhou, J., 2020. Influence of dietary black soldier fly (*Hermetia illucens* Linnaeus) pulp on growth performance, antioxidant capacity and intestinal health of juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio var. specularis*). *Aquac. Nutr.* 26, 432–443. <https://doi.org/10.1111/anu.13005>
- Zhao, Y., Wang, W., Zhu, F., Wang, Xiaoyun, Wang, Xiaoping, Lei, C., 2017. The gut microbiota in larvae of the housefly *Musca domestica* and their horizontal transfer through feeding. *AMB Express* 7(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0445-7>

Zhou, Q.C., Buentello, J.A., Gatlin, D.M., 2010. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* 309, 253–257. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.003>

## 7. 3º ARTIGO

### **Efeito da adição conjunta de farinhas de larvas de *Musca domestica* e *Hermetia illucens* em dietas para tilápia nilótica**

Camila Gomes de Oliveira<sup>a\*</sup>, Paula Adriane Perez Ribeiro<sup>a</sup>, Pedro Gomes Gamarano<sup>a</sup>,  
Verônica Guimarães Landa Prado<sup>a</sup>, Débora de Almeida Freitas<sup>a</sup>, Helder de Oliveira  
Guilherme<sup>a</sup>, Raphael Nogueira Bahiense<sup>a</sup>, Rodrigo Fortes da Silva<sup>b</sup>, Leandro Santos Costa<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Laboratório de Aquacultura, Avenida Antônio Carlos, nº 6627, CEP 31270-901 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Zootecnia, Av. Peter Henry Rolfs, s/n - Campus Universitário, Viçosa - MG, CEP 36570-900, Minas Gerais, Brasil.

\*Autor correspondente: Laboratório de Aquacultura, Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av. Antônio Carlos, 6627, Belo Horizonte-MG, Brasil. CEP 31270-901. E-mail: [camilaoliveira080@gmail.com](mailto:camilaoliveira080@gmail.com)

## 7.1. Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da inclusão de uma mistura de farinhas de larvas de *Musca domestica* e *Hermetia illucens* em dietas para juvenis de tilápia (*Oreochromis niloticus*), sobre os parâmetros de desempenho, bioquímica sanguínea, composição de carcaça e morfometria intestinal. O ensaio teve duração de 10 semanas, sendo utilizados 240 juvenis de tilápia (peso médio inicial  $3,5 \pm 0,18$  g), distribuídos em 16 aquários (40L cada). O delineamento foi inteiramente casualizado, com quatro dietas (substituição de 0, 33, 66 e 100% da proteína da farinha de peixe pelo *blend* de insetos) e quatro repetições (aquários). Os animais foram alimentados três vezes ao dia (5% da biomassa). Ao final do experimento, os animais foram anestesiados para coleta de amostras de sangue e, posteriormente, eutanasiados para coleta dos tecidos. O peso final, ganho de peso diário e taxa de crescimento específico foram reduzidos quando os animais foram alimentados níveis acima de 66% de substituição de farinha de peixe por *blend* de inseto ( $P < 0,05$ ). A sobrevivência não foi afetada pelos tratamentos ( $P > 0,05$ ). Os índices viscerossomáticos foi alto no tratamento com a substituição total ( $P < 0,05$ ). Em contraste, não foi verificada diferenças para o índice hepatossomático ( $P > 0,05$ ). O extrato etéreo foi mais aumentado de acordo com os níveis de substituição ( $P < 0,05$ ). A proteína total e a umidade foram mais elevadas apenas quando ocorreu 100% de substituição da proteína da farinha de peixe pelo *blend* de inseto ( $P > 0,05$ ). A largura e altura das vilosidades não foram afetadas ( $P < 0,05$ ). A glicose, creatinina, proteína total, HDL, AST e ALT não foram diferentes significativamente ( $P > 0,05$ ). Os parâmetros de colesterol total e triglicérides foram menores quando os animais receberam 66% de substituição da farinha de peixe por farinha de mosca doméstica ( $P < 0,05$ ). A albumina e LDL séricos foram menores para os tratamentos com 66 e 100% de substituição. Concluimos que a farinha de mosca doméstica não alterou o crescimento quando os juvenis de tilápia foram alimentados com até 33% de substituição, em que a substituição total reduziu a concentração de proteínas na carcaça.

Palavras-chaves: farinha de inseto, nutrição, proteína, peixe.

## 7.2.Introdução

O crescimento constante da população mundial gera a necessidade de aumento na produção de alimentos. Nesse sentido, a expansão da aquicultura resultou no aumento do consumo de peixes, como por exemplo a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), terceira espécie mais cultivada em todo mundo (FAO, 2020). Em cativeiro, a tilápia apresenta rápido crescimento, boa produtividade e tolerância a diversos agentes estressores, sendo considerada uma importante fonte de alimento (Mohammadi et al., 2022). Sendo assim, a aquicultura desempenha papel importante para suprir o aumento na exigência da produção de carne (Barroso et al., 2014; Arru et al., 2019). A alta produtividade de peixes em cativeiro, de forma sustentável, é desafiada pela disponibilidade de recursos naturais, bem como pelos impactos gerados ao meio ambiente (Verdegem, 2013; Bossier e Ekasari, 2017).

Para que os peixes aproveitem as dietas de forma eficiente é importante que haja uma correlação entre as características fisiológicas, hábito alimentar e exigência nutricional de cada espécie, juntamente com a composição química e disponibilidade de nutrientes dos ingredientes (Meurer et al., 2003). Nesse contexto, os insetos fazem parte da dieta natural de peixes (Howe et al., 2014; Whitley e Bollens, 2014; Henry et al., 2015). A farinha de inseto pode ser uma fonte proteica alternativa, em função do alto teor proteína bruta (entre 32 e 70%), fonte de aminoácidos essenciais, teor lipídico de 8 a 35% (Arru et al., 2019) e presença de vitaminas e minerais (van Huis, 2013; Henry et al., 2015). Além de ser um ingrediente de excelente composição, os insetos crescem e reproduzem com facilidade, com alta taxa de eficiência alimentar, podendo ser criados em bioresíduos (Collavo et al., 2005). As larvas de inseto conseguem transformar dejetos orgânicos de baixa qualidade em fertilizantes de melhor qualidade (van Huis et al., 2013). O produto final desse eficiente sistema de bioconversão é uma quantidade abundante de larvas ou pré-pupas (Sheppard et al., 1994; Newton et al., 2005).

Diversas espécies de inseto têm sido estudadas como possível substituto à farinha de peixe como, por exemplo, tenébrio (*Tenebrio molitor*) (Henry et al., 2018; Ido et al., 2019), gafanhoto (*Zonocerus variegatus*) (Alegneley et al., 2012) e tenébrio gigante (*Zophobas morio*) (Jabir et al., 2012). No entanto, a maioria dos estudos tem se concentrado nas espécies da ordem Diptera, como mosca doméstica (*Musca domestica*) e, principalmente, black soldier fly (*Hermetia illucens*). Para juvenis de robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) a farinha de peixe pode ser substituída por *H.illucens* e *M. domestica* em 30% (Mastoraki et al., 2020). Efeito parecido foi verificado para tilápia, cuja substituição de até 27% de *M. domestica* não

gerou efeitos negativos no crescimento (Wang et al., 2017). Já Tippayadara et al. (2021) sugeriram que dietas para tilápia nilótica podem ter 100% de substituição da farinha de mosca soldado-negro à farinha de peixe. Portanto, o nível de sucesso da utilização dessas farinhas ainda é variável (Hua et al., 2021). Uma possibilidade para maximização do uso seria a combinação diferentes fontes proteicas, que poderia contribuir para melhora dos resultados das pesquisas, uma vez que, isso ajudaria a evitar possíveis deficiências nas dietas (Henry et al., 2015).

Embora já existam estudos sobre a utilização separadamente das farinhas de inseto, o efeito da combinação das mesmas nas formulações ainda é pouco conhecido. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência da inclusão na dieta de uma mistura de farinha de larvas de *H. illucens* e *M. domestica*, para juvenis de tilápia, sobre os parâmetros de desempenho, bioquímica sanguínea, composição de carcaça e morfometria intestinal.

### 7.3. Material e métodos

#### 7.3.1. Ensaio experimental

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquacultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, seguindo as normas de ética aprovadas pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Instituição (protocolo CEUAP-UFV 17/2021).

Inicialmente os animais foram adquiridos de uma piscicultura comercial e alocados no laboratório durante 15 dias para adaptação. O experimento, com duração de 10 semanas, utilizou 240 juvenis masculinizados de tilápia (peso médio inicial de  $3,5 \pm 0,18$  g), distribuídos em 16 aquários (40 L cada), mantidos em recirculação de água. A temperatura da água, o pH e amônia total foram medidos três vezes por semana, com valores mantidos em  $28,11 \pm 0,25$  °C,  $6,88 \pm 0,14$  e  $0,19 \pm 0,10$  mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições (aquários). As dietas foram fornecidas manualmente, três vezes ao dia (8:30, 12:00 e 15:00) e a taxa de alimentação foi restrita em 5% da biomassa, durante todo o experimento. Os animais foram pesados quinzenalmente para ajuste da quantidade de ração ofertada. No final do ensaio experimental, todos os peixes foram pesados individualmente para cálculo do ganho de peso diário (GPD g) =  $(\text{Peso final} - \text{Peso inicial}) / \text{período experimental}$ ; taxa de crescimento específico (TCE) =  $100 \times [(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{período experimental}]$  e sobrevivência (%) =  $100 \times (n^\circ \text{ final de peixes} / n^\circ \text{ inicial de peixes})$ .

### 7.3.2. Dietas experimentais

A formulação das dietas foi realizada substituindo a proteína da farinha de peixe pela proteína da mistura, numa mesma proporção das farinhas de larvas de black soldier fly (MSN) e mosca doméstica (MD) (“blend”). Desta forma, quatro dietas foram formuladas contendo 0% (controle), 33%, 66% e 100% de substituição da proteína da farinha de peixe (FP) pela proteína do *blend*. As dietas foram extrusadas (Inbramaq®, modelo Labor PQ30), em grânulos de 3 mm de diâmetro. As formulações das dietas e composição aproximada estão descritas na tabela 1.

Tabela 1. Dietas experimentais e do *blend* de inseto.

Ingredientes (g Kg <sup>-1</sup> )	Mosca doméstica	Mosca soldado-negro	<i>Blend</i> (%)			
			0	33	66	100
Milho	-	-	257,5	232,5	207,4	182,4
Farinha de peixe	-	-	150,0	100,0	50,0	0,00
Farelo de soja	-	-	531,3	535,5	539,8	544,0
Farelo de trigo	-	-	10,0	10,0	10,0	10,0
Farinha de larvas de Mosca soldado-negro	-	-	0,00	37,3	74,5	111,8
Farinha de larvas de mosca doméstica	-	-	0,00	37,3	74,5	111,8
Óleo de soja	-	-	35,0	31,2	27,6	23,9
Sal	-	-	05,0	05,0	05,0	05,0
Fosfato bicálcico	-	-	05,0	05,0	05,0	05,0
Suplemento vitamínico e mineral <sup>a</sup>	-	-	05,0	05,0	05,0	05,0
Óxido crômico	-	-	01,0	01,0	01,0	01,0
Antioxidante (BHT) <sup>b</sup>	-	-	00,2	00,2	00,2	00,2
Composição analisada (% na matéria seca) <sup>c</sup>						
Proteína bruta	57,16	38,00	37,77	36,91	36,39	36,46
Energia bruta (MJ kg <sup>-1</sup> )	18,42	18,00	20,27	20,38	20,92	21,44
Extrato etéreo	18,16	26,50	9,04	9,32	10,99	10,54

<sup>a</sup> Composição do suplemento vitamínico e mineral: Ácido fólico (Min) 2500 mg kg<sup>-1</sup>, Ácido pantotênico (Min) 3750 mg kg<sup>-1</sup>, Biotina (Min) 125 mg kg<sup>-1</sup>, Zinco (Min) 20 g kg<sup>-1</sup>, Cobre (Min) 2000 mg kg<sup>-1</sup>, Colina (Min) 125 g kg<sup>-1</sup>, Ferro (Min) 15 g kg<sup>-1</sup>, Iodo (Min) 125 mg kg<sup>-1</sup>, Vit K (Min) 1000 mg kg<sup>-1</sup>, Manganês (Min) 3700 mg kg<sup>-1</sup>, Niacina (Min) 7800 mg kg<sup>-1</sup>, Selênio (Min) 75 mg kg<sup>-1</sup>, Vit A (Min) 2.000.000 UI kg<sup>-1</sup>, Vit E (Min) 15000 UI kg<sup>-1</sup>, Vit B<sub>1</sub> (Min) 2500 mg kg<sup>-1</sup>, Vit B<sub>12</sub> (Min) 5000 mg kg<sup>-1</sup>, Vit B<sub>2</sub> (Min) 2500 mg kg<sup>-1</sup>, Vit B<sub>6</sub> (Min) 2000 mg kg<sup>-1</sup>, Vit D<sub>3</sub> (Min) 500.000 UI kg<sup>-1</sup>;

<sup>b</sup> BHT - Butil Hidroxi Tolueno.

<sup>c</sup> Determinações realizadas pelo método descrito pelo A.O.A.C. (2016).

### 7.3.3. Coleta de amostras

Ao final do experimento, seis peixes de cada repetição, em jejum de 16 horas, foram capturados aleatoriamente e anestesiados com eugenol ( $90 \text{ mg L}^{-1}$ ) (Ribeiro et al., 2015; Ferreira et al., 2021), contados e pesados. O sangue foi coletado por punção da veia caudal, utilizando seringas de 1 mL heparinizadas. Após a coleta do sangue, as amostras foram centrifugadas (3.000 rpm, por 15 min) (centrifuga Spinlab SL-5a.m.), o soro foi separado e armazenado em freezer  $-20^{\circ}\text{C}$ , para análise dos componentes bioquímicos.

Os animais foram eutanasiados com overdose de eugenol ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) (Vidal et al., 2008) para retirada de vísceras e obtenção de carcaça. As vísceras foram utilizadas para cálculo do índice viscerossomático (IVS) =  $100 \times (\text{peso das vísceras} / \text{peso corporal total})$  e o hepatopâncreas foi utilizado para cálculo do índice hepatossomático (IHS) =  $100 \times (\text{peso do fígado} / \text{peso corporal total})$ .

Em seguida, uma amostra de intestino inicial de 2cm foi coletada e sequencialmente fixada em formol tamponado (10%). As carcaças evisceradas foram secas em estufa a  $55^{\circ}\text{C}$ , por 48 horas, para posterior análise.

### 7.3.4. Composição de carcaça

A composição bromatológica da carcaça foi realizada de acordo com o procedimento descrito pelo A.O.A.C. (2016). O teor de matéria seca foi determinado após a secagem em estufa ( $105^{\circ}\text{C}$ ), até o peso constante. O extrato etéreo foi feito pelo método de Soxhlet. O teor de proteína bruta ( $\text{N} \times 6,25$ ) foi determinado pelo método de Kjeldahl.

### 7.3.5. Bioquímica sanguínea

Os níveis séricos de glicose, albumina, triglicerídeos, colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), proteína total (K031) creatinina, aspartato transaminase (AST) e alanina transaminase (ALT) foram mensurados com auxílio de kits comerciais (Bioclin / Quibasa, Brasil), em equipamento automatizado (Mindray BS-200E; Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., Shenzhen, China). Para as determinações bioquímicas foi utilizado um pool sanguíneo em cada repetição, composto por dois animais, totalizando 12 amostras por tratamento.

### 7.3.6. *Histologia intestinal*

Após a fixação em formalina tamponada a 10%, os tecidos foram cortados e desidratados em série gradativa de etanol e clarificados em xilol para inclusão em blocos de parafina. Os tecidos emblocados foram cortados em micrótomo, com corte de 5  $\mu\text{m}$ , para montagem de lâminas. As lâminas foram coradas através de coloração hematoxilina e eosina. As amostras foram analisadas com auxílio de microscópio de luz (Nikon Eclipse 50i) com câmera acoplada (Moticam 2300), com imagens capturadas e digitalizadas (software Motic Imagens Plus 3.0), sendo utilizadas para determinar a altura e a largura das vilosidades intestinais.

### 7.3.7. *Análise estatística*

Os dados foram avaliados em testes de homoscedasticidade de variâncias (Levene) e normalidade (Shapiro Wilk). Posteriormente foram submetidos à ANOVA. Os valores de umidade, altura, glicose, colesterol, triglicérides, albumina AST e ALT foram transformados em logaritmo (log 10), para atenderem aos requisitos da ANOVA. Quando significativos, realizou-se a comparação das médias pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Todos os valores foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. As análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico InfoStat® (Infostat, 2008).

## **7.4. Resultados**

### 7.4.1. *Desempenho*

O peso final, GPD e TCE (tabela 2) foram reduzidos quando os animais foram alimentados com níveis superiores de 66% de substituição da proteína de farinha de peixe pelo *blend* de inseto ( $P < 0,05$ ). A sobrevivência não foi afetada pelos tratamentos propostos ( $P < 0,05$ ). O IVS foi mais elevado para os juvenis presentes no tratamento com 100% de inclusão em relação ao grupo controle ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença significativa para o IHS ( $P > 0,05$ ).

Tabela 2. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) desempenho e índices somáticos de tilápias alimentadas com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína de um *blend* de farinhas de inseto na dieta.

Variáveis	Níveis de substituição (%)				P-valor
	0	33	66	100	
Peso final (g)	63,14 $\pm$ 0,86 <sup>a</sup>	56,79 $\pm$ 5,83 <sup>ab</sup>	44,16 $\pm$ 6,94 <sup>bc</sup>	39,47 $\pm$ 4,92 <sup>c</sup>	0,002
GPD (g)	0,82 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,77 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	0,54 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	0,48 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	0,0009
TCE (g)	4,23 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	4,10 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	3,63 $\pm$ 0,19 <sup>b</sup>	3,48 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	0,0012
Sobrevivência (%)	91,67 $\pm$ 7,26 <sup>a</sup>	86,67 $\pm$ 9,43 <sup>a</sup>	91,67 $\pm$ 7,26 <sup>a</sup>	91,57 $\pm$ 5,53 <sup>a</sup>	0,8212
IVS (%)	5,40 $\pm$ 0,94 <sup>c</sup>	7,29 $\pm$ 1,36 <sup>bc</sup>	5,99 $\pm$ 0,98 <sup>ab</sup>	7,48 $\pm$ 1,24 <sup>a</sup>	0,0002
IHS (%)	1,09 $\pm$ 0,32 <sup>a</sup>	1,29 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>	0,98 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	1,24 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>	0,2174

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 7.4.2. Composição de carcaça

A proteína bruta e umidade da carcaça dos juvenis de tilápia (tabela 3) apenas apresentou redução quando para os animais com a substituição total da proteína da farinha de peixe pela proteína do *blend* de inseto ( $P < 0,05$ ). O extrato etéreo aumentou de acordo com a substituição, em que foi demonstrado que a substituição total apresenta maior valor de gordura na carcaça ( $P < 0,05$ ).

Tabela 3. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) da composição corporal de tilápias alimentadas com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína de um *blend* de farinhas de inseto na dieta.

Variáveis (%)	Níveis de substituição (%)				P-valor
	0	33	66	100	
Proteína Bruta	64,45 $\pm$ 3,78 <sup>a</sup>	64,73 $\pm$ 2,00 <sup>a</sup>	63,50 $\pm$ 2,15 <sup>a</sup>	59,51 $\pm$ 3,92 <sup>b</sup>	0,0011
Extrato Etéreo	24,26 $\pm$ 2,00 <sup>d</sup>	27,63 $\pm$ 2,34 <sup>c</sup>	29,94 $\pm$ 1,96 <sup>b</sup>	32,74 $\pm$ 1,73 <sup>a</sup>	<0,0001
Umidade	76,84 $\pm$ 1,35 <sup>a</sup>	76,36 $\pm$ 0,82 <sup>ab</sup>	77,15 $\pm$ 1,77 <sup>a</sup>	75,36 $\pm$ 0,87 <sup>b</sup>	0,0098

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 7.4.3. Vilosidades intestinais

Não foram encontradas diferenças significativas para a altura e largura das intestinais (tabela 4) dos juvenis de tilápia-do-Nilo alimentadas com diferentes níveis de substituição ( $P < 0,05$ ).

Tabela 4. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) das vilosidades intestinais de tilápias alimentadas com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína de um *blend* de farinhas de inseto na dieta.

Variáveis ( $\mu\text{m}$ )	Níveis de substituição (%)				P- valor
	0	33	66	100	
Altura	308,31 $\pm$ 78,99 <sup>a</sup>	404,34 $\pm$ 74,31 <sup>a</sup>	337,39 $\pm$ 58,97 <sup>a</sup>	361,54 $\pm$ 105,11 <sup>a</sup>	0,2121
Largura	128,98 $\pm$ 11,02 <sup>a</sup>	119,05 $\pm$ 21,75 <sup>a</sup>	114,22 $\pm$ 17,65 <sup>a</sup>	110,69 $\pm$ 32,97 <sup>a</sup>	0,3961

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 7.4.4. Bioquímica sanguínea

Os parâmetros bioquímicos de glicose, creatinina, proteína total, HDL, AST e ALT (tabela 5) não diferiram significativamente entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ). Já o colesterol total foi menor para o tratamento com 66% em relação ao de 100% de substituição da proteína da farinha de peixe por *blend* de larvas de farinha de inseto ( $P < 0,05$ ). Os triglicerídeos apresentaram valores menores nos juvenis alimentados com 66% de substituição em relação aos que receberam 0 e 33% de substituição ( $P < 0,05$ ). A albumina e LDL apresentara resultados reduzidos para os animais do tratamento com 66 e 100% de substituição em relação ao grupo controle ( $P < 0,05$ ).

Tabela 5. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) das variáveis séricas de tilápias alimentadas com diferentes níveis de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína de um *blend* de farinhas de inseto na dieta.

Variáveis (mg dL <sup>-1</sup> )	Níveis de substituição (%)				P-valor
	0	33	66	100	
Glicose	53,56 $\pm$ 5,12 <sup>a</sup>	53,13 $\pm$ 5,65 <sup>a</sup>	53,38 $\pm$ 10,23 <sup>a</sup>	58,05 $\pm$ 17,04 <sup>a</sup>	0,8258
Creatinina	0,30 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,30 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,32 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,35 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	0,2536
Colesterol total	91,33 $\pm$ 4,54 <sup>ab</sup>	91,06 $\pm$ 3,54 <sup>ab</sup>	83 $\pm$ 6,21 <sup>b</sup>	98,99 $\pm$ 5,15 <sup>a</sup>	0,0006
Triglicerídeos	69,86 $\pm$ 18,10 <sup>a</sup>	68,74 $\pm$ 24,71 <sup>a</sup>	46,62 $\pm$ 15,02 <sup>b</sup>	48,44 $\pm$ 9,54 <sup>ab</sup>	0,0052
Proteína total	3,33 $\pm$ 2,06 <sup>a</sup>	2,26 $\pm$ 0,85 <sup>a</sup>	2,85 $\pm$ 1,48 <sup>a</sup>	2,29 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>	0,4195
Albumina	1,21 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	1,13 $\pm$ 0,16 <sup>ab</sup>	0,99 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>	0,97 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	0,0022
HDL	29,15 $\pm$ 4,00 <sup>a</sup>	29,66 $\pm$ 2,71 <sup>a</sup>	28,82 $\pm$ 3,11 <sup>a</sup>	32,03 $\pm$ 2,26 <sup>a</sup>	0,1015
LDL	9,84 $\pm$ 2,75 <sup>a</sup>	8,76 $\pm$ 2,12 <sup>ab</sup>	7,29 $\pm$ 1,46 <sup>b</sup>	7,50 $\pm$ 1,21 <sup>b</sup>	0,0135
AST	56,09 $\pm$ 31,06 <sup>a</sup>	47,47 $\pm$ 28,17 <sup>a</sup>	50,82 $\pm$ 22,83 <sup>a</sup>	41,32 $\pm$ 17,43 <sup>a</sup>	0,6117
ALT	3,33 $\pm$ 2,06 <sup>a</sup>	2,68 $\pm$ 2,29 <sup>a</sup>	2,85 $\pm$ 1,48 <sup>a</sup>	2,13 $\pm$ 0,92 <sup>a</sup>	0,3348

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (P<0,05).

## 7.5. Discussão

O peso final dos juvenis de tilápia-do-Nilo não foi afetado quando os juvenis de tilápia foram alimentados com até 33% de substituição da combinação de farinhas de inseto na dieta. A redução do crescimento, associada a altos níveis de uso da farinha de inseto na dieta, tem sido demonstrada para diferentes espécies de peixe como barramundi (*Lates calcarifer*), alimentados 46,2% de mosca soldado-negro (em dietas com 10% de farinha de peixe) (Katya et al., 2017); tilápia (*Oreochromis niloticus*), teores acima de 43% de mosca doméstica em substituição total a farinha de peixe (Wang et al., 2017); truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), acima de 40% de mosca soldado-negro (em dietas contendo 30% de farinha de peixe) (Renna et al., 2017). Em contraste, Belghit et al. (2019) observaram que a farinha de mosca soldado-negro pode substituir a farinha de peixe totalmente para salmão do Atlântico. Portanto, as variações nos resultados dos estudos com farinha de inseto são de acordo com a espécie e fase de vida do inseto utilizado, tamanho do peixe, período experimental, além dos níveis de substituição (Abdel-Tawwab et al., 2020; Amer et al., 2021).

Para tilápias alimentadas com 20% de farinha de *Spodoptera littoralis* (2% de farinha de peixe e 24% de farelo de soja) ocorreu diminuição do crescimento, sendo esse resultado atribuído (Amer et al., 2021). A redução da ingestão voluntária poderia estar associada a elevação da gordura e/ou ao tipo de ácidos graxos encontrados em dietas com farinha de inseto (Belforti et al., 2015). Uma segunda hipótese para justificar os resultados encontrados no presente estudo estaria relacionada à possível presença de quitina na composição das farinhas de inseto. Quando encontrada em altas porcentagens, a quitina pode diminuir a digestão e absorção dos nutrientes (Finke, 2007; Sanchez-Muros et al., 2015; Katya et al. 2017; Fisher et al., 2020). Kroeckel et al. (2012) relataram que a farinha de pré-pupas de mosca soldado-negro apresenta 9,6% de quitina em sua composição. Uma parcela da proteína encontrada nas farinhas de inseto está acoplada à quitina, diminuindo a digestibilidade desse nutriente (Ng et al., 2001; Finke, 2007; Nogales-Mérida et al., 2019).

No presente estudo, a farinha de inseto quando incluída em até 66% de substituição, em relação à farinha de peixe, resultou em maior deposição de proteína e umidade na carcaça dos animais. Para Renna et al. (2017) não foram verificadas diferenças no teor de proteína dos filés de truta arco-íris, quando alimentadas com 20% e 40% de mosca soldado-negro (dietas contendo originalmente 45 e 30% de farinha de peixe). Esses resultados para truta foram verificados quando alimentadas com os mesmos níveis de *Tenebrio Molitor* (Belforti et al., 2016). Contudo, foi verificado que o extrato etéreo aumentou na carcaça, o que significa maior deposição de lipídios, quando foi utilizada a mistura de farinhas de inseto. Renna et al. (2017) observaram que o extrato etéreo aumentou quando da inclusão de 40% de mosca soldado-negro na dieta de truta arco-íris. Esses autores relataram que esses resultados podem indicar que os nutrientes da dieta estavam disponíveis para serem aproveitados e armazenados. De fato, o aumento dos valores lipídicos na composição corporal dos animais é resultado dos níveis de ácidos graxos saturados presentes na farinha de inseto, que podem induzir à lipogênese (Alves et al., 2021). Consequentemente, no presente trabalho ocorreu aumento do índice viscerossomático das tilápias, sem interferência no índice hepatossomático, conforme o aumento da inclusão do *blend* na dieta. A indução da lipogênese favoreceu a deposição de gordura na cavidade peritoneal (NRC, 2011; Sagada et al., 2017). O aumento do IVS também foi verificado para salmão do Atlântico, quando alimentado com lavas de mosca soldado-negro na dieta (Belghit et al., 2018). No entanto, esses resultados divergem dos encontrados para truta arco-íris, em que esses índices não foram modificados pela alimentação dos animais com mosca soldado-negro (Renna et al., 2017). Uma estratégia que pode ser utilizada para evitar maiores deposições de gordura na carcaça animal e nas vísceras é o

desengorduramento das farinhas de inseto antes do preparo das rações (Manzano-Agugliaro et al., 2012; Mancuso et al., 2016).

No presente trabalho, as vilosidades intestinais não foram afetadas pela presença de farinha de inseto na dieta. Esses dados estão de acordo ao encontrados para zebrafish (*Danio rerio*), no qual também não foram verificadas alterações na altura e largura das vilosidades intestinais, quando os animais foram alimentados com farinha de mosca soldado-negro (Fronte et al., 2021). O sistema gastrointestinal desempenha papel fundamental na utilização dos nutrientes provenientes da dieta, sendo esse um local primário para a digestão dos alimentos e absorção dos nutrientes (Cardinaletti et al., 2019). O aumento da altura e largura da vilosidades pode indicar aumento da população de bactérias benéficas ( Renna et al., 2017), além da melhoria na capacidade de processar e aproveitar o nutriente proveniente da dieta (Dimitroglou et al., 2009 ; Zhou et al., 2010; Guerreiro et al., 2016; Renna et al., 2017; Xu et al., 2020). A redução nas vilosidades se relaciona a uma diminuição na absorção de nutrientes, associada à menor resistência dos animais a doenças (Xu et al., 2003; Xu et al., 2020). A ausência de diferença na altura e largura das vilosidades intestinais, mediante os tratamentos propostos, pode sugerir que a farinha de inseto não causou alterações na capacidade das tilápias de aproveitar os nutrientes da dieta.

Variações bioquímicas no sangue ajudam a observar o estado nutricional dos peixes para, assim, estimar a melhor dieta em experimentos que modificam a formulação das rações (Mastoraki et al., 2020). Esses metabólitos estão relacionados a diversas variações, tais como resposta ao estresse (Polakof et al., 2012), alterações no volume sanguíneo (Panettieri et al., 2020; Mikołajczak et al., 2020), bem como danos hepáticos (Belghit et al., 2019) e nos rins (Sano, 1962; Garba et al., 2007; Narra et al., 2017; Hong et al., 2019). Neste estudo, não foram observadas influências da inclusão do *blend* de farinhas de inseto na maioria dos parâmetros sanguíneos avaliados para as tilápias. Desta forma, pode-se observar que a combinação dessas farinhas não causou efeitos adversos nos metabólitos séricos dos animais. Neste estudo, a concentração de albumina foi reduzida quando foi incluído níveis acima de 66% do *blend* na dieta. Esse resultado contrasta com os achados para truta marinha (*Salmo trutta m. trutta*), onde foi observado aumento nos níveis de albumina quando os peixes foram alimentados com *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio*, em relação aos animais que não receberam farinha de inseto na dieta (Mikołajczak et al., 2020). A albumina tem papel crucial no transporte de lipídios circulantes

(Francis, 2010).

Os níveis de colesterol total foram reduzidos nos animais deste trabalho, apresentando valores mais baixos para juvenis alimentados com 66% de substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína do *blend*. Os triglicerídeos sanguíneos também reduziram nesse mesmo tratamento. Segundo Magalhães et al. (2017), para robalo europeu também há redução do colesterol quando os animais são alimentados com 19,5% de pré-pupa de mosca soldado-negro na dieta. Para o robalo japonês (*Lateolabrax japonicus*) este comportamento também é observado para triglicerídeos e colesterol, quando os peixes são alimentados com mosca soldado-negro na dieta (Wang et al., 2019). Tais efeitos são observados devido à presença de quitina e quitosana nas farinhas de inseto, sendo essas responsáveis pela redução nos níveis de colesterol sanguíneo (Sugano et al., 1980; Chen et al., 2014; Magalhes et al., 2017; Li et al., 2017; Khosravi et al., 2018; Wang et al., 2019; Mikolajczak et al., 2020). Foi relatado que a quitosana se liga às micelas inibindo sua absorção (Khoushab e Yamabhai, 2010; Magalhães et al., 2017). No presente estudo, ocorreu redução de LDL, de acordo com a substituição da proteína da farinha de peixe pela proteína da farinha de inseto. A LDL é conhecida por fazer o transporte do colesterol na corrente sanguínea (Agellon et al., 1991; Wang et al., 2019). A redução desse transportador pode estar associada a menor concentração de lipídios a ser transportada na corrente sanguínea em animais alimentados com farinha de inseto na dieta. Embora tenha sido observado um possível efeito da quitosana sobre as concentrações séricas desses componentes, os níveis testados estimularam a deposição lipídica na carcaça dos animais.

## 7.6. Conclusão

Em resumo, o presente estudo constatou que a substituição de até 33% da proteína da farinha de peixe pela proteína do *blend* de farinhas não interfere no desenvolvimento dos juvenis de tilápia-do-Nilo, ainda que apenas a substituição total da farinha tenha proporcionado menor deposição de proteínas no corpo dos animais. Além disso, a redução encontrada no colesterol e triglicerídeos sanguíneos não impactaram na redução da deposição de gordura na carcaça. Assim, pesquisas adicionais são necessárias para uma melhor compreensão da utilização das farinhas de inseto pelo organismo dos juvenis de tilápia em cativeiro.

## 7.7.Agradecimentos

Agradecemos a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudo. O presente estudo foi financiado pelo CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) com projeto aprovado pela chamada universal 2018 número 422284/2018-1.

## 7.8.Referências

- A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists), 2016. Official methods of analysis. 20<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA.
- Abdel-Tawwab, M., Khalil, R.H., Metwally, A.A., Shakweer, M.S., Khallaf, M.A., Abdel-Latif, H.M.R., 2020. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal on growth performance, organs-somatic indices, body composition, and hemato-biochemical variables of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 522, 735136. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735136>
- Agellon, L.B., Walsh, A., Hayek, T., Moulin, P., Jiang, X.C., Shelanski, S.A., Breslow, J.L., Tall, A.R., 1991. Reduced high density lipoprotein cholesterol in human cholesteryl ester transfer protein transgenic mice. *J. Biol. Chem.* 266 (17), 10796–10801.
- Alves, A.P. D.C., Paulino, R.R., Pereira, R.T., da Costa, D.V., Rosa, P.V., 2021. Nile tilapia fed insect meal: Growth and innate immune response in different times under lipopolysaccharide challenge. *Aquac. Res.* 52, 529–540. <https://doi.org/10.1111/are.14911>
- Amer, A. A., El-Nabawy, E. S. M., Gouda, A. H., Dawood, M. A., 2021. The addition of insect meal from *Spodoptera littoralis* in the diets of Nile tilapia and its effect on growth rates, digestive enzyme activity and health status. *Aquacult. Res.*, 52(11), 5585-5594. <https://doi.org/10.1111/are.15434>

- Arru, B., Furesi, R., Gasco, L., Madau, F.A., 2019. The Introduction of Insect Meal into Fish Diet: The First Economic Analysis on European Sea Bass Farming. *Sustainability* 11, 1–16. <https://doi.org/10.3390/su11061697>
- Barroso, F.G., de Haro, C., Sánchez-Muros, M.J., Venegas, E., Martínez-Sánchez, A., Pérez-Bañón, C., 2014. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422–423, 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.024>
- Belforti, M., Gai, F., Lussiana, C., Renna, M., Malfatto, V., Rotolo, L., De Marco, M., Dabbou, S., Schiavone, A., Zoccarato, I., Gasco, L., 2015. *Tenebrio molitor* meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: Effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets. *Ital. J. Anim. Sci.* 14, 670–676. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4170>
- Belforti, M., Gai, F., Lussiana, C., Renna, M., Malfatto, V., Rotolo, L., De Marco, M., Dabbou, S., Schiavone, A., Zoccarato, I., Gasco, L., 2015. *Tenebrio molitor* meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: Effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets. *Ital. J. Anim. Sci.* 14, 670–676. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4170>
- Belghit, I., Liland, N.S., Gjesdal, P., Biancarosa, I., Menchetti, E., Li, Y., Waagbø, R., Krogdahl, Å., Lock, E.J., 2019. Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea-water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 503, 609–619. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2018.12.032>
- Belghit, I., Liland, N.S., Waagbø, R., Biancarosa, I., Pelusio, N., Li, Y., Krogdahl, Å., Lock, E.J., 2018. Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 491, 72–81. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2018.03.016>
- Bossier, P., Ekasari, J., 2017. Bio flocculation technology application in aquaculture to support sustainable development goals. *Microb. Biotechnol.* 10, 1012–1016. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12836>

- Cardinaletti, G., Randazzo, B., Messina, M., Zarantoniello, M., Giorgini, E., Zimbelli, A., Tulli, F., 2019. Effects of graded dietary inclusion level of full-fat *Hermetia illucens* prepupae meal in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animals* 9(5), 251. <https://doi.org/10.3390/ani9050251>
- Chen, Y., Zhu, X., Yang, Y., Han, D., Jin, J., Xie, S., 2014. Effect of dietary chitosan on growth performance, haematology, immune response, intestine morphology, intestine microbiota and disease resistance in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquac. Nutr.* 20(5), 532-546. <https://doi.org/10.1111/anu.12106>
- Collavo, A., Glew, R. H., Huang, Y. S., Chuang, L. T., Bosse, R., 2005. House cricket small-scale farming. In MG Paoletti (ed.), *Ecological implications of minilivestock. Potential of insects, rodents, frogs and snails.* *J. Insect Conserv.* 11, 213.
- Dimitroglou, A., Merrifield, D.L., Moate, R., Davies, S.J., Spring, P., Sweetman, J., Bradley, G., 2009. Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Anim. Sci.* 87, 3226–3234. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1428>
- FAO, Food and Aquaculture Organization of the United Nations, 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in Action.* FAO, Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.
- Ferreira, A. L., Bonifácio, C. T., e Silva, W. D. S., Takata, R., Favero, G. C., Luz, R. K., 2021. Anesthesia with eugenol and menthol for *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): Induction and recovery times, ventilation frequency and hematological and biochemical responses. *Aquaculture*, 544, 737076. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737076>
- Finke, M.D., 2007. Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biol.* 26, 105–115. <https://doi.org/10.1002/zoo.20123>

- Fisher, H.J., Collins, S.A., Hanson, C., Mason, B., Colombo, S.M., Anderson, D.M., 2020. Black soldier fly larvae meal as a protein source in low fish meal diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 521, 734978. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2020.734978>
- Francis, G.L., 2010. Albumin and mammalian cell culture: implications for biotechnology applications. *Cytotechnology* 62, 1–16. <https://doi.org/10.1007/s10616-010-9263-3>
- Garba, S., Adelaiye, A., Mshelia, L., 2007. Histopathological and biochemical changes in the rats kidney following exposure to a pyrethroid based mosquito coil. *J Appl Sci Res* 3, 1788–93.
- Guerreiro, I., Enes, P., Rodiles, A., Merrifield, D., Oliva-Teles, A., 2016. Effects of rearing temperature and dietary short-chain fructooligosaccharides supplementation on allochthonous gut microbiota, digestive enzymes activities and intestine health of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) juveniles. *Aquac. Nutr.* 22, 631–642. <https://doi.org/10.1111/anu.12277>
- Henry, M., Gasco, L., Piccolo, G., Fountoulaki, E., 2015. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Feed Sci. Technol.* 203, 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001>
- Henry, M.A., Gasco, L., Chatzifotis, S., Piccolo, G., 2018. Does dietary insect meal affect the fish immune system? The case of mealworm, *Tenebrio molitor* on European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Dev. Comp. Immunol.* 81, 204–209. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.12.002>
- Hong, J., Chen, X., Liu, S., Fu, Z., Han, M., Wang, Y., Gu, Z., Ma, Z., 2019. Impact of fish density on water quality and physiological response of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) flingerlings during transportation. *Aquaculture* 507, 260–265. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2019.04.040>

- Howe, E.R., Simenstad, C.A., Toft, J.D., Cordell, J.R., Bollens, S.M., 2014. Macroinvertebrate prey availability and fish diet selectivity in relation to environmental variables in natural and restoring north San Francisco bay tidal marsh channels. *San Franc. Estuary Waters. Sci.* 12, 1–46. <https://doi.org/10.15447/sfew.2014v12iss1art5>
- Hua, K., Cobcroft, J.M., Cole, A., Condon, K., Jerry, D.R., Mangott, A., Praeger, C., Vucko, M.J., Zeng, C., Zenger, K., Strugnell, J.M., 2019. The Future of Aquatic Protein: Implications for Protein Sources in Aquaculture Diets. *One Earth* 1, 316– 329. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2019.10.018>
- Ido, A., Hashizume, A., Ohta, T., Takahashi, T., Miura, C., Miura, T., 2019. Replacement of fish meal by defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae in diet improves growth performance and disease resistance in red seabream (*Pargus major*). *Animals* 9(3), 100. <https://doi.org/10.3390/ani9030100>
- Jabir, M.D.A.R., Razak, S.A., Vikineswary, S., 2012. Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *African J. Biotechnol.* 11, 6592–6598. <https://doi.org/10.5897/ajb11.1084>
- Katya, K., Borsra, M.Z.S., Ganesan, D., Kuppusamy, G., Herriman, M., Salter, A., Ali, S.A., 2017. Efficacy of insect larval meal to replace fish meal in juvenile barramundi, *Lates calcarifer* reared in freshwater. *Int Aquat Res* 9, 303–312. <https://doi.org/10.1007/s40071-017-0178-x>
- Khosravi, S., Kim, E., Lee, Y.-S., Lee, S.-M., 2018. Dietary inclusion of mealworm (*Tenebrio molitor*) meal as an alternative protein source in practical diets for juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Entomol. Res.* 48, 214 - 221. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12306>

- Khoushab, F., Yamabhai, M., 2010. Chitin research revisited. *Mar. Drugs* 8, 1988–2012.
- Alegbeleye, W. O., Obasa, S. O., Olude, O. O., Otubu, K., Jimoh, W., 2012. Preliminary evaluation of the nutritive value of the variegated grasshopper (*Zonocerus variegatus* L.) for African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell. 1822) fingerlings. *Aquac. Res.* 43(3), 412-420. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02844.x>
- Kroeckel, S., Harjes, A. G., Roth, I., Katz, H., Wuertz, S., Susenbeth, A., Schulz, C., 2012. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute—Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 364, 345-352. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.08.041>
- Li, S., Ji, H., Zhang, B., Zhou, J., Yu, H., 2017. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian): Growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure. *Aquaculture* 477, 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.015>
- Magalhães, R., Sánchez-lópez, A., Silva, R., Martínez-llorens, S., Oliva-teles, A., Peres, H., 2017. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 476, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.021>
- Mancuso, T., Baldi, • L, Gasco, • L, 2016. An empirical study on consumer acceptance of farmed fish fed on insect meals: the Italian case Motivation and background. *Aquacult Int* 24, 1489–1507. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0007-z>
- Manzano-Agugliaro, F., Sanchez-Muros, M. J., Barroso, F. G., Martínez-Sánchez, A., Rojo, S., Pérez-Bañón, C., 2012. Insects for biodiesel production *Renew. Sust. Energ. Rev. Renew* 16(6), 3744-3753. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.03.017>

- Mastoraki, M., Mollá Ferrándiz, P., Vardali, S.C., Kontodimas, D.C., Kotzamanis, Y.P., Gasco, L., Chatzifotis, S., Antonopoulou, E., 2020. A comparative study on the effect of fish meal substitution with three different insect meals on growth, body composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 528, 735511. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735511>
- Meurer, F., Hayashi, C. Boscolo, W.R., 2003. Fibra Bruta para Alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L). *R. Bras. Zootec.* 32, 256-261.
- Mikołajczak, Z., Rawski, M., Mazurkiewicz, J., Kieró Nczyk, B., Józefiak, D., 2020. The Effect of Hydrolyzed Insect Meals in Sea Trout Fingerling (*Salmo trutta m. trutta*) Diets on Growth Performance, Microbiota and Biochemical Blood Parameters. *Animals* 10, 2031. <https://doi.org/10.3390/ani10061031>
- Mohammadi, G., Hafezieh, M., Karimi, A.A., Azra, M.N., Van Doan, H., Tapingkae, W., Abdelrahman, H.A., Dawood, M.A.O., 2022. The synergistic effects of plant polysaccharide and *Pediococcus acidilactici* as a synbiotic additive on growth, antioxidant status, immune response, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol.* 120, 304–313. <https://doi.org/10.1016/J.FSI.2021.11.028>
- Narra, M.R., Rajender, K., Reddy, R.R., Murty, U.S., Begum, G., 2017. Insecticides induced stress response and recuperation in fish: Biomarkers in blood and tissues related to oxidative damage. *Chemosphere* 168, 350–357. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2016.10.066>
- National Research Council - NRC., 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy Press, Washington.
- Newton, G. L., Sheppard, D. C., Watson, D. W., Burtle, G. J., Dove, C. R., Tomberlin, J. K., Thelen, E. E., 2005. The black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a manure management/resource recovery tool. In *Symposium on the state of the science of Animal Manure and Waste Management* 1, 57.

- Ng, W.-K., Liew, F.-L., Ang, L.-P., Wong, & K.-W., 2001. Potential of mealworm (*Tenebrio molitor*) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquac. Res.* 2001, 32, 273-280.
- Nogales-Mérida, S., Gobbi, P., Józefiak, D., Mazurkiewicz, J., Dudek, K., Rawski, M., Kierończyk, B., Józefiak, A., 2019. Insect meals in fish nutrition. *Rev. Aquac.* 11, 1080–1103. <https://doi.org/10.1111/raq.12281>
- Panettieri, V., Chatzifotis, S., Messina, C.M., Olivotto, I., Manuguerra, S., Randazzo, B., Ariano, A., Bovera, F., Santulli, A., Severino, L., Piccolo, G., 2020. Honey Bee Pollen in Meagre (*Argyrosomus regius*) Juvenile Diets: Effects on Growth, Diet Digestibility, Intestinal Traits, and Biochemical Markers Related to Health and Stress. *Animals* 10, 231. <https://doi.org/10.3390/ani10020231>
- Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J.L., Moon, T.W., 2012. Glucose metabolism in fish: a review. *J. Comp. Physiol. B* 182, 1015 -1045. <https://doi.org/10.1007/s00360-012-0658-7>
- Renna, M., Schiavone, A., Gai, F., Dabbou, S., Lussiana, C., Malfatto, V., Prearo, M., Capucchio, M.T., Biasato, I., 2017. Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum ) diets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8:57, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0191-3>
- Ribeiro, P. A., Miranda-Filho, K. C., Melo, D. C. D., Luz, R. K., 2015. Efficiency of eugenol as anesthetic for the early life stages of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *An. Acad. Bras. Ciênc.*, 87, 529-535.
- Sagada, G., Chen, J., Shen, B., Huang, A., Sun, L., Jiang, J., Jin, C., 2017. Optimizing protein and lipid levels in practical diet for juvenile northern snakehead fish (*Channa argus*). *Anim. Nutr.* 3, 156–163. <https://doi.org/10.1016/J.ANINU.2017.03.003>

- Sánchez-Muros, M.J., Barroso, F.G., Manzano-Agugliaro, F., 2014. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *J. Clean. Prod.* 65, 16–27. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2013.11.068>
- Sano, T., 1962. Haematological studies of the culture fishes in Japan. *J. Tokyo Uni. Fish.* 48, 105–109.
- Sheppard, D. C., G. L. Newton, S. A. Thompson, S. E. Savage. 1994. A value added manure management system using the Black Soldier Fly. *Bioresour. Technol.* 50, 275- 279. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(94\)90102-3](https://doi.org/10.1016/0960-8524(94)90102-3)
- Shiau, S.Y., Yu, Y.P., 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture* 179, 439–446. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00177-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00177-5)
- Sugano, M., Fujikawa, T., Hiratsuji, Y., Nakashima, K., Fukuda, N., Hasegawa, Y., 1980. A novel use of chitosan as a hypocholesterolemic agent in rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 33(4), 787-793. <https://doi.org/10.1093/ajcn/33.4.787>
- Taufek, N. M., Simarani, K., Muin, H., Aspani, F., Raji, A. A., Alias, Z., Razak, S. A., 2018. Inclusion of cricket (*Gryllus bimaculatus*) meal in African catfish (*Clarias gariepinus*) feed influences disease resistance. *J. Fish.* 6(2), 623-631. <http://orcid.org/0000-0001-5445-0830>
- Tippayadara, N., Dawood, M.A.O., Krutmuang, P., Hoseinifar, S.H., Doan, H. Van, Paolucci, M., 2021. Replacement of fish meal by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal: Effects on growth, haematology, and skin mucus immunity of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Animals* 11, 1-19. <https://doi.org/10.3390/ani11010193>
- van Huis, A., 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annu. Rev. Entomol.* 58, 563–583. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704>

- Verdegem, M.C.J., 2013. Nutrient discharge from aquaculture operations in function of system design and production environment 1–14. <https://doi.org/10.1111/raq.12011>
- Vidal, L.V.O., Albinati, R.C.B., Albinati, A.C. L., Lira, A.D., Almeida, T.R., Santos, G.B., 2008. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília 43, 1069–1074.
- Wang, G., Peng, K., Hu, J., Yi, C., Chen, X., Wu, H., Huang, Y., 2019. Evaluation of defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as an alternative protein ingredient for juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) diets. *Aquaculture* 507, 144–154. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.023>
- Wang, L., Li, J, Jin, J. N., Zhu, F., Roffeis, M., Zhang, X. Z., 2017. A comprehensive evaluation of replacing fishmeal with housefly (*Musca domestica*) maggot meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): *Aquac. Nutr.* 23. <https://doi.org/10.1111/anu.12466>
- Whitley, S.N., Bollens, S.M., 2014. Fish assemblages across a vegetation gradient in a restoring tidal freshwater wetland: diets and potential for resource competition. *Environ. Biol. Fish* 659–674. <https://doi.org/10.1007/s10641-013-0168-9>
- Xu, X., Ji, H., Yu, H., Zhou, J., 2020. Influence of dietary black soldier fly (*Hermetia illucens* Linnaeus) pulp on growth performance, antioxidant capacity and intestinal health of juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio var. specularis*). *Aquac. Nutr.* 26, 432–443. <https://doi.org/10.1111/anu.13005>
- Xu, Z.R., Hu, C.H., Xia, M.S., Zhan, X.A., Wang, M.Q., 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poult. Sci.* 82, 1030–1036. <https://doi.org/10.1093/ps/82.6.1030>

Zhou, Q.C., Buentello, J.A., Gatlin, D.M., 2010. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* 309, 253–257. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.003>

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os insetos tem recebido cada vez mais atenção devido ao seu potencial desenvolvimento como recursos proteicos em dietas para animais aquáticos. Os dados obtidos nesta pesquisa proporcional informações importantes sobre o uso da farinha de inseto para tilápia-do-Nilo. As farinhas de larvas de mosca soldado-negro e mosca domestica podem ser utilizadas para tilápia sem interferência para o crescimento dos animais nesse trabalho, no entanto, níveis muito elevados podem reduzir o desempenho. A composição das farinhas de inseto está relacionada ao estágio de vida utilizado, condições de criação associados com os substratos utilizados. Portanto, o enriquecimento dos substratos de crescimento desses animais pode ser uma estratégia para que os resultados observados nesse estudo sejam melhorados. Adicionalmente, o uso de ingredientes desengordurados e/ou utilização de técnicas de redução da quitina na dieta poderiam resultar em efeitos positivos.

Novas pesquisas são fundamentais para melhor compreender os motivos dos resultados encontrados no presente estudo, avaliando os impactos nas enzimas envolvidas na digestão e metabolismo de proteínas e lipídios. Ademais, novas estratégias de utilização nas formulações, como por exemplo, em níveis inferiores ao menor nível testado ou como suplemento pode ser uma alternativa.