



TÁFANIE VALÁCIO FONTES

**PROGRAMAÇÃO NUTRICIONAL COM FARINHA DE
TENÉBRIO GIGANTE (*Zophobas morio*) NA ALIMENTAÇÃO
DE ALEVINOS DE TILÁPIA DO NILO**

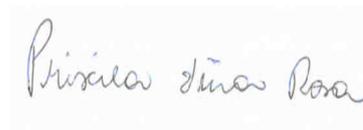
LAVRAS – MG

2023

TÁFANIE VALÁCIO FONTES

**PROGRAMAÇÃO NUTRICIONAL COM FARINHA DE TENÉBRIO
GIGANTE (*Zophobas morio*) NA ALIMENTAÇÃO DE ALEVINOS DE TILÁPIA DO
NILO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para obtenção do título de Doutor.



Orientadora

Dra. Priscila Viera Rosa

LAVRAS – MG

2023

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Fontes, Táfanie Valácio.

Programação nutricional com farinha de tenébrio gigante
(*Zophobas morio*) na alimentação de alevinos de tilápia do nilo /
Táfanie Valácio Fontes. - 2022.

78 p.

Orientador(a): Priscila Vieira Rosa.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.
Bibliografia.

1. Quitina. 2. Farinha de insetos. 3. Peixe. I. Rosa, Priscila
Vieira. II. Título.

TÁFANIE VALÁCIO FONTES

**PROGRAMAÇÃO NUTRICIONAL COM FARINHA DE TENÉBRIO
GIGANTE (*Zophobas morio*) NA ALIMENTAÇÃO DE ALEVINOS DE TILÁPIA DO
NILO**

**NUTRITIONAL PROGRAM WITH GIANT MEALWORM (*Zophobas morio*)
IN THE FEEDING OF NILE TILAPIA FINGERLINGS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Não Ruminantes, para obtenção do título de Doutor.

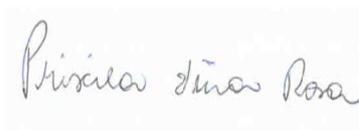
Aprovada em 17 de outubro de 2022

Dra. Profa. Ariane Flávia do Nascimento IFMG campus Bambuí

Dr. Prof. Leandro Santos Costa UFV

Dr. Prof. Luís David Solis Murgas UFLA

Dr. Renan Rosa Paulino UFLA



Orientadora

Dra. Priscila Viera Rosa

LAVRAS – MG

2023

*A Ele a glória
Pra sempre, amém*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por toda obra realizada na minha vida.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFLA, a todos os professores pelos ensinamentos e funcionários pelo suporte. Aos membros da banca, pela disponibilidade e contribuições para a melhoria dos trabalhos. À minha orientadora “chefa” Priscila Vieira Rosa, pela amizade, confiança, pelo estímulo na busca de conhecimento. À minha segunda orientadora não em papel, mais muito, além disso, que não pode ser registrado, Kátia Rodrigues Batista de Oliveira. Agradeço-te por todo conhecimento transmitido nesses 4 anos, agradeço por embarcarmos juntas nesse experimento. Nosso convívio foi tão curto devido à pandemia, mais tenho certeza que essa chefinha vou carregar para a vida.

Agradeço a minha família pelo incentivo de sempre querer mais, por dar o suporte na hora que preciso para poder concluir as tarefas. Obrigada Pai Antonio e Mãe Joana por largarem tudo em nossa cidade para me acompanhar. Sem vocês não seria possível a conclusão dessa tese. Obrigada Irmã Stefanie que de tão longe se faz presente, obrigada por todo incentivo, obrigada pelo ombro, obrigada por me ouvir. Obrigada Deus por ter me agraciado com os meus Filhos Murilo e Ramon nessa pandemia, apesar do turbilhão eles são o motivo da minha força.

Ao meu esposo Ryan Monteiro Alvarenga por nunca esperar menos de mim. Obrigada, por sempre estar presente na criação dos meninos dando suporte em meus estudos.

A Laís, nunca engrenamos uma amizade, no máximo conhecidas de faculdade, mais a circunstância do dia a dia nos uniu. E sou extremamente grata por sua amizade, por sua preocupação comigo e com os meninos. Muito obrigada pelo ombro amigo.

A Tamira Maria Orlando por sempre mesmo distante estar do meu lado dando apoio emocional e de intelecto.

A Natália Michele Nonato Mourad por sua amizade e toda conversa motivacional.

A Izabela Luiza Gomes Almeida mesmo tão discreta, sempre está presente quando preciso. Muito obrigada por sua amizade e companheirismo, estarei aqui sempre para te ajudar.

A Stefania Priscilla de Souza por sua amizade, por sua ajuda no laboratório para conclusão dessa tese.

A Naiara muito obrigada pela confecção das lâminas e pelo conhecimento atribuído.

A Mirian Braz Silva muito obrigada pela ajuda nos últimos 40 minutos para conclusão dessa tese, sou grata a Deus por ter colocado num momento tão frágil você para ajudar-me.

Há minha muito obrigada Eleci. Obrigada pelos cafés e prosa, obrigada por sempre estar atento ao nosso experimento. Obrigada.

Aos integrantes do NAQUA por toda ajuda e amizade.

Á Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa para a realização do doutorado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Muito obrigada!!!

RESUMO

A farinha de insetos é uma fonte promissora, rica em proteína e lipídeos, podendo ser utilizada em substituição à proteína animal ou vegetal. No entanto, a falta de enzimas quitinolíticas no trato gastro intestinal de alguns peixes, necessária para a quebra de quitina, ocasiona o seu não aproveitamento. Visto isso, a aplicação da programação nutricional se mostra interessante, uma vez que a exposição durante a fase de desenvolvimento do animal leva a um estímulo de origem endógena ou exógena, pode levar a mudanças fisiológicas a longo prazo. Com base neste conceito, o projeto avaliou a capacidade de alevinos de tilápia em utilizar dietas com alto teor de farinha de insetos sobre o perfil lipídico e o estresse oxidativo do intestino após consumir a farinha de tenébrio gigante (TG) durante a larvicultura. Para a realização do ensaio foi realizada a programação nutricional na fase larval com a presença ou não de TG. Após 40 dias realizou-se uma biometria, onde os alevinos machos foram redistribuídos em delineamento fatorial 2 x 3, com ou sem TG na larvicultura e três níveis de TG na dieta (0, 150, 300 g/Kg). Os animais foram alimentados por 60 dias. Ao final foram sacrificados, sendo coletados filé e fígado para as análises de ácidos graxos (AG); plasma para análise de triglicerídeos, proteína, n-acetilglucosamina (NAG), colesterol e proteína total e por fim intestino médio para estresse oxidativo. Quanto ao AG no filé e no fígado, observou-se que a dieta com inclusão de TG aumentou os SAFA e MUFA, não sendo verdadeiro para o PUFA. No fígado, assim como os PUFA, os HUFA diminuíram com a inclusão de TG. No fígado foi possível visualizar o efeito da programação, sendo refletido nos parâmetros C16:0, C20:4n6, C22:6n3, n3, HUFA, SAFA, relação n3/n6 uma diminuição e um aumento sobre C20:3n3 e a relação n6/n3, contudo as observações se restringem a dieta 0. O perfil de AG encontrado em ambos tecidos refletiu negativamente no índice de qualidade nutricional, com a inclusão de TG. No plasma somente NAG, proteína e triglicerídeos foram significativos a programação. O teor de NAG e proteína foram maiores nos peixes submetidos à programação, enquanto os triglicerídeos da dieta 0 e 150 g/Kg foram menores, não sendo verdadeiro para dieta 300 g/Kg. OS parâmetros avaliados do estresse oxidativo não demonstraram efeitos significativos. A histopatologia e a inclusão lipídica no fígado não foram significativas, exceto pela vacuolização, que foi menor na dieta de inclusão de 300 g/Kg de TG. Em conclusão, a programação nutricional e as dietas foram capazes de interferir no perfil lipídico, vacuolização do fígado e nos parâmetros plasmáticos. Os resultados de perfil lipídico encontrados não foram capazes de interferir na saúde do animal uma vez que a inclusão de 300 g/Kg TG levou a diminuição da vacuolização no fígado. E evidenciamos a importância da programação nutricional para a utilização da quitina, demonstrando a possibilidade da inclusão de farinha de insetos.

Palavra chave: Programação nutricional. Insetos. Quitina. *Zophabas morios*. N-acetil glucosamina.

ABSTRACT

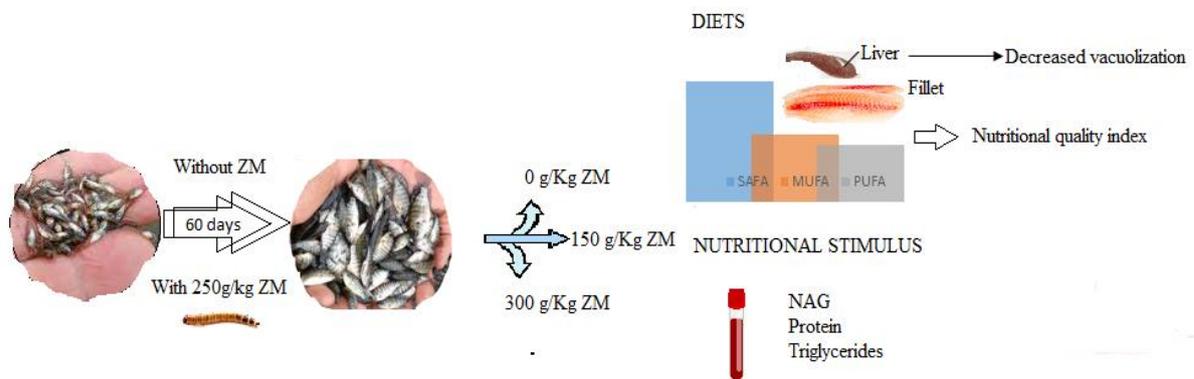
Insect meal is a promising source, rich in protein, lipids and other nutrients and can be used as a substitute for animal or vegetable protein. However, the lack of chitinolytic enzymes in the gastrointestinal tract of some fish, necessary for chitin breakdown, causes the non-utilization of this raw material. Confronting this, the application of nutritional or metabolic programming is interesting, since exposure during the animal's development phase to a stimulus of endogenous or exogenous origin can lead to long-term structural or functional changes. Therefore, based on the nutritional programming concept in mammals, this project evaluated the ability of tilapia fingerlings to use diets with a high content of insect meal on the lipid profile and intestine oxidative stress after consuming giant mealworm (TG) during larviculture. To carry out the test, initial preparation in the larval stage with the presence or not of SW meal was necessary. After 40 days, biometry was performed, with male fingerlings (3.1 ± 0.08 g average weight) reallocated in groups in a 2x3 factorial design with or without TG and experimental diets (0, 150 and 300 g/kg TG) fed twice a day for 60 days. After those 60 days, they were euthanized and fillet and liver were collected for fatty acid analysis (FA); plasma for triglycerides, protein, NAG, cholesterol and total protein analysis and finally, the midgut for oxidative stress. Regarding FA in fillet and liver, it was observed that the diet with the TG inclusion increased SAFA and MUFA, this not being true for PUFA. In the liver, similar to PUFA, HUFA decreased with the TG inclusion. Only in the liver it was possible to visualize the effect of nutritional programming, this being reflected in the parameters C16:0, C20:4n6, C22:6n3, n3, HUFA, SAFA, n3/n6 ratio a decrease and an increase over C20:3n3 and n6/n3 ratio, however the observations are restricted to the 0 diet. The FA profile found in both tissues reflected negatively on the nutritional quality index, with the TG inclusion. In plasma, only NAG, protein and triglycerides were significant for programming. NAG and protein content were higher in the fish submitted to programming, while the triglycerides of the 0 and 150 g/kg diets were lower, not being true for the 300 g/kg diet. Catalase, superoxide dismutase and TBARS were evaluated on oxidative stress, however they did not show significant effects. The histopathology and lipid inclusion in the liver were not significant, except for vacuolization, that was lower in the 300 g/kg TG inclusion diet. In conclusion, nutritional programming and diets were able to interfere with the lipid profile and liver vacuolization and plasma parameters. The results for the lipid profile found that the diets were not able to interfere with the animal's health since the 300 g/kg TG inclusion led to a decrease in vacuolization in the liver. We also highlighted the nutritional programming influence for the chitin use, demonstrating the possibility of including insect meal in fish feed.

Keywords: Nutritional programming. Insects. Chitin. Superworm. N-acetyl glucosamine.

Programação nutricional com farinha de tenébrio gigante (*Zophobas morio*): na alimentação de alevinos de tilápia do nilo

Elaborado por **Táfanie Valácio Fontes** e orientado por **Profa Dra. Priscila Vieira Rosa**

Esta tese trata da busca de novas matérias primas sustentáveis para a formulação de dietas. Nos últimos anos muito tem se falado da farinha de inseto, no entanto, para sua utilização, ainda encontramos alguns entraves fisiológicos nos peixes de produção como a falta do sistema quitinolítico. Portanto uma programação nutricional foi realizada na fase larval do animal esperando uma melhor utilização desses ingredientes nas demais fases. Os animais que sofreram a programação nutricional apresentaram maior conteúdo plasmático de proteína e de N-acetilglucosamina e a alimentação de tenébrio gigante em diferentes percentagens influenciaram nos triglicédeos. As dietas com inclusão de tenébrio gigante apresentaram uma maior quantidade ácidos graxos saturados e ácidos graxos monoinsaturados e menor poli-insaturados e altamente insaturados. Os ácidos graxos presentes no filé e no fígado refletiram o perfil da dieta, com a predominância do saturados e monoinsaturadps e diminuição dos poliinsaturados e altamente insaturados. O perfil de ácidos graxos, levou a um maior índice de aterogenicidade e trombogenicidade e menor relação Hipocolesterolêmicos / Hipercolesterolêmicos. Além disso, observou-se uma diminuição da vacuolização no fígado com a inclusão de tenébrio gigante.



Representações esquemáticas: A) Efeitos do uso de farinha de tenébrio gigante em juvenis de tilápia do Nilo que sofreram a programação nutricional na fase de larvicultura.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Composição de aminoácidos essencial disponível (g/100g proteína) de insetos, farinha de peixe e farelo de soja correlacionada ao requerimento.	19
Figura 2 - Ação das enzimas quitinolíticas na cadeia de quitina.....	21
Figura 3 - Quebra da quitina a glicose.	25
Figura 4 - Esquema detalhado do ensaio experimental.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação e composição aproximada das dietas experimentais	32
Tabela 2 - Composição de ácidos graxos do farelo de soja da farinha de tenébrio gigante e das três dietas.	33
Tabela 3 - Composição plasmática (mg dL ⁻¹) de Tilápia do Nilo alimentada com três dietas (0, 150 e 300g/Kg de TG), após a programação nutricional.	42
Tabela 4 - Perfil de ácidos graxos (% de ácidos graxos totais analisados) e índices de qualidade nutricional em filé de tilápia do Nilo alimentada com três dietas (0,150 e 300g/Kg de TG) após a programação nutricional (continua)	46
Tabela 5 - Perfil de ácidos graxos (% de ácidos graxos totais analisados) e índices de qualidade nutricional em fígado de tilápia do Nilo alimentada com três dietas (0,150 e 300g/Kg de TG) após a programação nutricional (continua).....	48
Tabela 6 - Avaliação histomorfológica semiquantitativa e valores de inclusão de lipídios em fígado de tilápia do Nilo alimentados com três dietas (0, 150 e 300 g/Kg de TG), após a programação nutricional.....	53
Tabela 7 - Estresse oxidativo do intestino médio e TBARS em filé de tilápia do Nilo alimentados com três dietas (0, 150 e 300 g/Kg de TG), após a programação nutricional.	56

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ARA Ácido araquidônico

DHA Ácido docosaenoico

EPA Ácido eicosapentaenoico

AG Ácidos graxos

PUFA Ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa

SAFA Ácidos graxos saturados

MUFA Ácidos graxos monoinsaturados

HUFA Ácidos graxos altamente insaturados

NAG N-Acetilglicosamina

mRNA RNA mensageiro

CHIA/AMCase quitinase ácida de mamíferos

CDA coeficiente de digestibilidade aparente

TG Tenébrio gigante

TM Tenébrio molitor

AI índice de aterogenicidade

TI índice de trombogenicidade

H/H Hipocolesterolêmicos / Hipercolesterolêmicos

CAT catalase

MAD Malondialdeído

ROS Espécie reativa de oxigênio

TBARS substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

SOD superóxido dismutase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	15
2.1Objetivos geral	15
2.2Objetivos específicos.....	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 Fontes proteicas para tilápia.....	16
3.2 Farinha de inseto.....	17
3.2.1 Composição	17
3.2.2 Degradação da quitina	21
3.2.3 Farinha de insetos na saúde animal.....	25
3.2.4 Tenébrio Gigante.....	28
3.3 Programação nutricional.....	29
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 Dieta experimental.....	31
4.2 Aclimatação	34
4.3 Grupos experimentais e regime alimentar	34
4.4 Coleta de amostra	36
4.5 Análises químicas	37
4.5.1 Metabólicos plasmáticos.....	37
4.5.2 Análise de ácidos graxos	37
4.5.3 Histologia do fígado	38
4.5.4 Estresse oxidativo.....	39
4.6 Análise estatística.....	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	40
5.1 Metabolismo plasmático.....	40
5.2 Ácidos graxos.....	44
5.3 Histologia do fígado	52
5.4 Estresse oxidativo.....	54
6. CONCLUSÃO	57
7. REFERENCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

O questionamento do uso de insetos na alimentação animal não é recente. O primeiro relato é encontrado em 1919 com Lindner, no entanto, somente em 2014 começa efetivamente seu estudo com BARROSO et al., e RIDDICK et al. E em julho de 2017, é publicado o regulamento (UE) 2017/893 aprovando o uso de farinha de insetos (FI) como fontes de proteína na aquicultura.

Sua utilização como ingrediente proteico na formulação é promissor, uma vez que os insetos apresentam inúmeras vantagens. Do ponto de vista nutricional, eles são ricos em proteínas, com um bom perfil de aminoácidos essenciais (EAA), dependendo da taxonomia podem exceder a exigência nutricional do peixe assim como os aminoácidos presentes na farinha de peixe (FONTES et al., 2019), e possuem um bom teor vitaminas, minerais e lipídeos (GASCO et al., 2019).

Contudo tem sido questionada a capacidade de peixes de cativeiros em utilizarem a FI, por apresentarem uma baixa eficiência das enzimas quitinolíticas, necessárias para quebra da quitina presente nesse alimento (PICCOLLO 2017; TRAN, HEUZÉ, MAKKAR 2015). Isso ocorre porque os ingredientes vegetais utilizados nas formulações gera uma falta de substratos para a atividade das enzimas quitinolíticas. No entanto, nem todo sistema de produção de peixes de cativeiros estão isentos de alimento vivo assim como na fase da larvicultura, estando presente nesse alimento a quitina necessária para a ativação das enzimas quitinolíticas. Dada a importância do sistema quitinolíticos, à programação nutricional pode levar a animais com maior capacidade de utilização de FI. Ou seja, os animais expostos a estímulos alimentares na fase crítica de desenvolvimento, como na larvicultura, pode levar há uma mudança s longo prazo nos processos metabólicos (HOU & FUIMAN 2020). Portanto o objetivo do presente trabalho teve como investigar se a programação nutricional em larvas de tilápia alimentadas com dietas de tenébrio gigante levou a alteração do perfil lipídico e estresse oxidativo intestinal de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com crescentes níveis de farinha de tenébrio gigante.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos geral

Avaliar os efeitos da alimentação com farinha de tenébrio gigante da fase larval para a fase produtiva sobre os aspectos do perfil lipídico e estresse oxidativo intestinal em alevinos de tilápia do Nilo alimentados com crescentes níveis de farinha de tenébrio gigante.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o perfil lipídico do filé e do fígado com a inclusão de tenébrio gigante.
- Avaliar a histológica e morfometria do fígado de animais submetidos a dieta com inclusão de tenébrio gigante.
- Avaliar o perfil plasmático dos animais submetidos a dieta com inclusão de tenébrio gigante.
- Avaliar o estresse oxidativo intestinal dos animais submetidos a dieta com inclusão de tenébrio gigante.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Fontes proteicas para tilápia

O uso de farinha de peixe para formulação de dieta animal mostra-se insustentável, devido à redução drástica do estoque pesqueiro, ocasionada por capturas exacerbada de peixes marinhos, fatores climáticos como o El Nino em 2005 (TACON e METIAN, 2008). No entanto, sua utilização na tilapicultura se concentra na fase da larvicultura, onde o aporte de proteína de qualidade, disponibilidade de aminoácidos e ácidos graxos se mostra necessário. O hábito alimentar da tilápia favorece a substituição ao longo das fases, fazendo com que o impacto não seja tão sentido ao longo da cadeia de produção, uma vez que as formulações apresentam uma grande percentagem de proteína vegetal.

A utilização de proteína de origem vegetal é bem consolidada na aquicultura, principalmente do farelo de soja (PIAZZON et al., 2017). Na tilapicultura sua inclusão em dietas gira em torno de 20% a 60% (NG E ROMANO, 2013) Porém, alguns fatores devem ser analisados, como a presença fatores antinutricionais (COLLINS, 2014), levando a uma diminuição da altura das vilosidades presente no intestino, o que diminui a absorção de nutrientes, além de apresentarem um desbalanço aminoacídico (TACON, 1993), principalmente deficiência de metionina e lisina quando comparada a farinha de peixe (FRANCIS et al., 2001) fazendo-se necessário a inclusão destes aminoácidos na forma sintética na dieta para prevenção de deficiências no desempenho e na saúde (OLIVA - TELES, 2012).

Outro ponto de extrema importância a ser mencionado são a oscilação de preço tanto da farinha de peixe como a de soja nas últimas décadas, o que acarreta num aumento do preço do produto final. Cerca de 40% a 50% de todos grãos produzidos é destinado a cadeia produtiva animal (PROFETA 2008), e com o aumento do consumo de proteína animal pela população faz essa percentagem aumentar, ocasionando o aumento do produto. Os aumentos nos preços das fontes protéicas utilizadas na cadeia aquícola estão relacionados a diversos fatores: (i) aumento/diminuição do ingrediente para o formulado; (ii) condições climáticas que afetam a captura de peixes usados na produção de farinha de peixe (iii) condições climáticas que afetam as culturas agrícolas;

e (iv) a maioria das commodities agrícolas usadas na piscicultura geralmente são usadas na criação de outros animais, além do uso na nutrição humana.

Por estas razões, são necessárias buscas de outras fontes de nutrientes proteicos na cadeia produtiva animal. Tais fontes devem conter alto teor protéico, um perfil de aminoácidos adequado, alta digestibilidade, boa palatabilidade (BARROWS et al., 2008). Diante destes fatos, o estudo da substituição desses ingredientes por farinha de insetos, se mostra oportuno (MAKKAR et al., 2014).

3.2 Farinha de inseto

Os insetos são seres vivos invertebrados que pertencem ao reino *Animalia*, ao filo *Arthropoda*, ao subfilo *Hexapoda* e à classe *Insecta*. Há aproximadamente um milhão de espécies, embora tenha sido estimado que sua diversidade global é tão alta quanto 80 milhões (ERWIN, 2004).

Os insetos apresentam facilidade de reproduzirem e crescerem, alta eficiência de conversão alimentar (dois quilos de resíduos orgânicos podem produzir um quilo de biomassa de inseto) (VAN HUIS et al., 2013; MAKKAR et al., 2014). Possuem hábitos alimentar onívoro e podem ser alimentados com subprodutos (resto de abatedouros, vísceras, resto de restaurantes, remanescentes de cereais, etc.) cuja eliminação tem um custo econômico e ambiental (SANCHEZ, BARROSO E AGUGLIARO, 2014) e ocupam menos espaço no processo de criação (RUMPOLD & SCHLÜTER, 2015).

3.2.1 Composição

Segundo VAN HUIS (2013) e FINKE (2002) a maior parte das espécies tem elevado teor de proteínas, boa fonte de aminoácidos essenciais (altamente disponíveis), ácidos graxos, minerais e vitaminas do complexo B, além de trazerem benefícios para a saúde (GASCO; FINKE; VAN HUIS 2018).

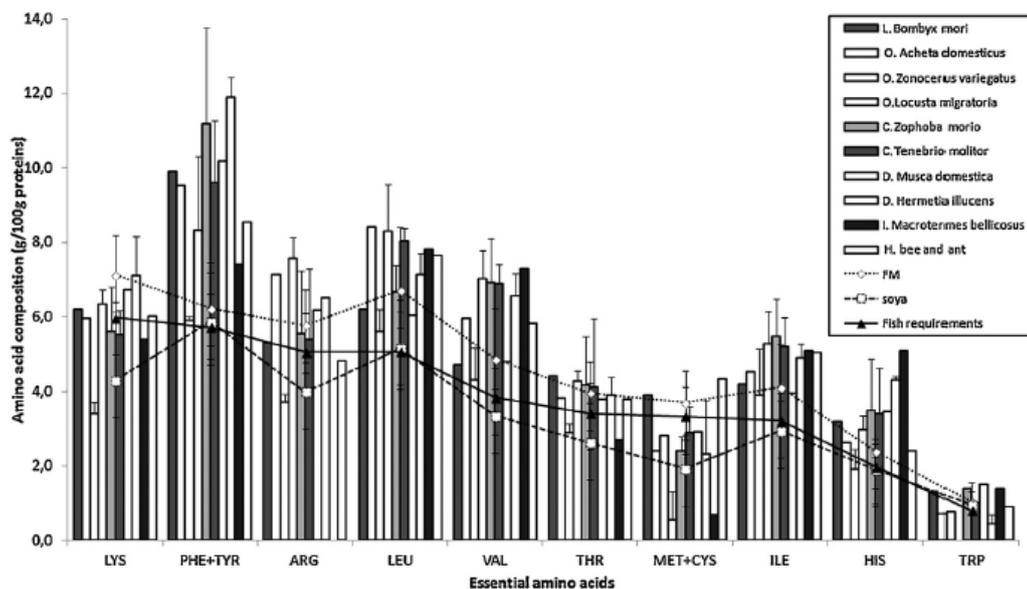
Quanto aos teores de proteínas, observar-se uma ampla variação de 9,5% a 77,1% (SANCHEZ, BARROSO E AGUGLIARO, 2014). Tais valores se mostram pertinentes para uma possível substituição, uma vez que muitas espécies de insetos excedem os valores de proteína bruta das fontes convencionais, que segundo

BARROSO (2014) os valores de proteína bruta são aproximadamente 73% para a farinha de peixe e 50% para a farinha de soja.

No entanto, nem todo nitrogênio quantificado se deve à proteína. O alto valor proteico atribuído a este ingrediente se deve a quitina que está em seu exoesqueleto, composto de ligações β - (1-4) ligando resíduos de N-acetilglucosamina (NAG). O método de quantificação de proteína bruta que se dá pelo método de Kjeldahl, quantifica o nitrogênio total da amostra, tanto nitrogênio proteico e não proteico da amostra (TSHINYANGU & HENNEBERT, 1996; INCT 2012). Ao final a concentração de nitrogênio total é convertida para proteína pelo fator de conversão 6,25 estabelecida por JONES em 1931 para a proteína da carne. Estimar o conteúdo proteico dos insetos por esse método acaba superestimando este valor. Visto essa falha metodológica foi proposto por Janssen et al. (2017) o fator de conversão de nitrogênio em proteína de 4,76 para as espécies de insetos *Tenébrio molitor*, *Alphitobius diaperinus* e *Hermetia illucens*. Portanto, ao utilizar o fator de conversão 4,76 ou realizar a correção do valor descontando a quantidade de quitina presente no alimento, a percentagem desse nutriente na farinha de inseto tende a cair.

A composição aminoacídica é um fator de extrema importância para qualificar uma proteína (SANCHEZ, BARROSO E AGUGLIARO, 2014). Mesmo os valores de proteína sendo corrigidos, os insetos são ricos em aminoácidos essenciais, podendo algumas espécies apresentarem deficiência em metionina, cistina, histidina, lisina e treonina (FINKE, 2002; BARROSO et al., 2014). Em seu trabalho HENRY et al. (2015) mencionam que o perfil aminoacídico do inseto dependerá muito de sua ordem taxonômica, em seu trabalho ele apresenta um aminograma (FIGURA 1), correlacionando o requerimento de aminoácidos pelos peixes e a quantidade presente na soja, na farinha de peixe e nos insetos. Fontes vegetais apresentam uma deficiência em lisina, metionina e leucina (HALL, 1992), que são os aminoácidos limitantes mais frequentes.

Figura 1- Composição de aminoácidos essencial disponível (g/100g proteína) de insetos, farinha de peixe e farelo de soja correlacionada ao requerimento.



Fonte: Henry et al., (2015)

Quanto ao teor de lipídeo e o perfil de ácidos graxos, depende da ordem taxonômica, dieta fornecida e fase de criação do inseto (BARROSO et al., 2014). Insetos acumulam gordura, durante seus estágios imaturos (MANZANO-AGUGLIARO et al., 2012), apresentando uma maior percentagem de lipídeos nesta fase. A percentagem de lipídeos presente nos insetos varia de 8,5% (gafanhotos adultos) a 36% (larvas de tenébrio) (TRAN, HEUZÉ, MAKKAR 2015).

Os níveis de lipídeos dos insetos são superiores ao da farinha de peixe (8,2%) e farelo de soja (3,0%), o que pode atrapalhar sua inclusão em uma dieta. Quanto ao seu perfil de ácidos graxos, segundo RAMOS-ELORDUY (2008), os insetos contêm maiores quantidades de lipídeos poliinsaturadas (PUFAs) n-6 (30%) que a farinha de peixe (2,5%), mas menor que a farinha de soja (55,4%), níveis baixos de lipídeos poliinsaturados n-3 e contém o dobro de monoinsaturados em relação a farinha de peixe e de soja. Eles apresentam quantidades significativas de ácido linoleico (BUKKENS, 1997) e ausência de ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) em espécies de insetos terrestres (EKPO & ONIGBINDE, 2007; FINKE, 2002, 2007; KATAYAMA et al., 2008), já os insetos de água doce têm uma alta proporção de EPA porque ingerem algas, que geralmente contêm linolênico.

Insetos produzidos comercialmente parecem ter maior teor de gordura do que os coletados na natureza (FINKE, 2002,2013; LEASE e WOLF, 2011; OONINCX e DIERENFELD, 2012). O que é justificado pela diminuição de gastos de energia em cativeiro e a facilidade do consumo de dietas altamente energéticas. Dentro da somatória do PUFA o ácido graxo ácido linoleico (18:2 n-6) e ácido linolênico (18:3n-3) se fazem mais presentes em insetos capturados da natureza (FAST, 1970; THOMPSON, 1973), enquanto nos comerciais apresentam altos níveis ácido linoleico e baixos de linolênico. Devido a utilização de dietas ricas em grãos, que possuem baixos níveis desse ácido graxos (DREASSI et al., 2017; FINKE, 2002, 2013; JONES et al.,1972; OONINCX et al., 2015, 2019).

Muitos trabalhos mencionam a possibilidade da inclusão de resíduos de peixes nas dietas de insetos para modular o perfil de ácidos graxos. ST-HILAIRE et al., (2007) utilizaram uma mistura de 50:50 de esterco de vaca e resíduos de peixe na alimentação de larvas de black soldier fly. Ao final observaram um aumento no nível de ácidos graxos n-3 de 0,2% para 2% e de 20 para 31% de lipídeos. SEALEY et al., (2011) alimentaram dois grupos de pupa de black soldier fly com esterco de vaca, sendo que no último mês um grupo foi suplementado com 25 e 50% de resíduos de peixe. O grupo suplementado apresentou maior quantidade de EPA e DHA, demonstrando que os insetos podem incorporar EPA e DHA provindos da dieta. Resultados semelhantes foram encontrados por ST-HILAIRE et al. (2007) onde a alimentação de pupa de black soldier fly com 22% de resíduo de peixes por 24 horas resultou em efeito substancial na quantidade de EPA e DHA. DRAGOJLOVIĆ et al (2022) suplementou *zophobas morio* (TG) e *tenébrio molitor* (TM) com linhaça. Resultando numa menor concentração de SAFA e MUFA e maior de PUFA para TM e para TG menor de SAFA e maior de MUFA e PUFA. A percentagem de ácido graxo linoleico foi menor enquanto de linolênico foi maior, ocasionando uma diminuição na relação n6/n3.

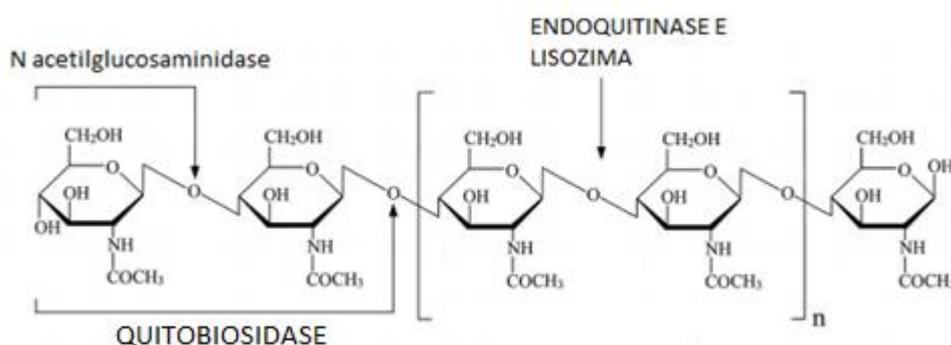
Já o conteúdo de cinzas dos insetos é geralmente baixo, exceto para as larvas de black soldier fly para as quais valores maiores que 15% foram relatados. De forma geral, os níveis de cálcio e potássio da farinha de inseto são inferiores quando comparado aos da farinha de peixe (DEFOLIART, 1992; FINKE, 2002; BANJO et al., 2006, SCHABEL, 2010 e RUMPOLD & SCHLUTER, 2013). RAMOS - ELORDUY et

al., (2002) suplementando larvas de insetos com diferentes resíduos orgânicos observaram diferenças na composição de vitaminas e minerais das larvas.

3.2.2 Degradação da quitina

A degradação da quitina é catalisada por um sistema de enzimas quitinolíticas presente no organismo, divididas em N-acetilglucosaminidases (exoquitinase) e quitinases (endoquitinase) (FIGURA 2). As endoquitinases (EC 3.2.1.14) catalisam a quebra de ligações β -1,4 de NAG liberando produtos quitobiose, oligômeros de NAG e uma pequena quantidade NAG. Outra enzima que degrada a quitina é a lisozima (EC 3.2.1.17), no entanto ela tem baixo poder de hidrólise para quebrar internamente a quitina. As exoquitinases (EC 3.2.1.52) catalisam os dímeros e trímeros de NAG a partir da porção não-redutora da quitina (KROGDAHL et al., 2005). Dois subgrupos enzimáticos estão presentes nesse grupo: quitobiosidase (EC 3.2.1.29) e 1,4 β -N-acetilglucosaminidase/quitobiase (EC 3.2.1.30). A quitobiosidase hidrolisa a quitina em dímeros de NAG (quitobiose) (TRONSMO & HARMAN, 1993; COHEN-KUPIEC & CHET, 1998; BENEDITO FILHO et al., 2002). E a 1,4 β -N-acetilglucosaminidase/quitobiase hidrolisam os produtos originados pela endoquitinase e quitobiosidase em monômeros de NAG (HORSCH et al., 1997).

Figura 2 - Ação das enzimas quitinolíticas na cadeia de quitina



Fonte: Stoykov et al., (2015).

O NAG gerado pela quebra da quitina é um substrato oxidável, que gera fonte de carbono e nitrogênio. Entretanto, para peixes na literatura há uma controvérsia quanto à capacidade de quebra da quitina. RUST (2002) E PICCOLLO (2017) mencionam que a

quitina não é digerível por animais monogástricos, devido a uma reduzida atividade enzimática. Contudo, TRAN, HEUZÉ, MAKKAR (2015) menciona que a atividade de quitinase tem sido observada em várias espécies de peixes marinhos. Estando presente em vários órgãos e tecidos, como no trato digestivo, participando do metabolismo de carboidratos, independentemente dos hábitos alimentares (JEUNIAUX 1993 e KROGDAHL et al., 2005).

ROTTA (2003) menciona que peixes que se alimentam de insetos ou crustáceos contêm uma grande concentração de quitinases em seu suco pancreático, o que é de se esperar quando o peixe está em seu habitat natural (HOWE et al., 2014; WHITLEY & BOLLENS, 2014).

Em mamíferos, LEE et al., (2011) e KOCH et al., (2015) observaram a presença de duas quitinases, a quitotriosidase (Chit1) e a quitinase ácida ("Chia"; nome alternativo: quitinase ácida de mamíferos, AMCCase). A Chia pode funcionar como uma glicosidase resistente à protease em condições de estômago e intestino, degradando substratos de quitina em dímero de NAG, uma fonte de carbono, nitrogênio e energia (OHNO et al., 2016; TABATA et al., 2017a). TABATA et al., (2018) em estudos, observaram que bovinos e cães apresentam baixos níveis de expressão do mRNA de Chia, enquanto suínos e aves expressam quantidades excessivas.

Nos suínos a expressão mais elevada de "CHIA/AMCase" se faz presente no estômago (TABATA et al., 2017b). DRIEMEYER (2016) em leitões Large White e Landrace criados de 10 a 28 dias de idade, alimentados com uma dieta suplementada de *Hermetia illucens*, observou que a substituição não afetou no crescimento dos animais. Em aves apesar da alta expressão de mRNA de Chia (TABATA et al., 2018), a atividade de quitinase encontrada no proventriculo (SUZUKI et al., 2002), limitou a digestibilidade da quitina (HOSSAIN & BLAIR, 2007), principalmente em aves jovens (IJAIYA & EKO, 2009). Tal fato se deve ao tipo de criação, os insetos fazem parte da dieta natural das aves, mas uma vez que houve modificação na criação colocando-as em galpão cimentando (aves de corte) ou mesmo em gaiolas de postura elas acabam por não capturar insetos perdendo ou tendo baixa capacidade de aproveitamento da quitina.

FONTES et al., (2019) avaliaram o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA); duas espécies de baratas (*Nauphoeta cinerea* e *Gromphadorhina portentosa*),

uma espécie de grilo (*Gryllus assimilis*) e duas espécies de tenébrio (*Zophobas morio* e *Tenébrio molitor*) para alevinos de tilápia do nilo. Os CDA's para quitina foram 59,8; 69,6; 76,2; 73,6 e 81,3% respectivamente. KOPRUCU & OZDEMIR (2005) analisaram a digestibilidade de quitina das farinhas de crustáceos *Gammarus kischineffensis* e *Astacus leptodactylus* em tilápia do nilo. Os CDA encontrados para esses alimentos foram 71,5% e 69,3% respectivamente. OLSEN et al., (2006) em salmão (*Salmo salar*), substituiu de 0 a 100% da farinha de peixe por farinha de krill na dieta, resultando em 0; 13; 19,7; 38,4 e 40% de digestibilidade de quitina.

Os resultados de digestibilidade da quitina nos mostram uma visão quanto ao metabolismo e absorção da quitina. O CDA de quitina encontrado na tilápia do nilo pelos autores FONTES et al., (2019) e KOPRUCU & OZDEMIR (2005), pressupõem a existência das enzimas quitinolíticas o que é confirmado por MOLINARI et al., (2007). No entanto, espécies de peixes com CDA de quitina reduzidos, a quitina acaba por se tornar um dissipador de energia. Além disso, a quitina não digerida pode afetar na utilização de nutrientes, uma vez que ela é um polissacarídeo não amiláceo insolúvel em água (KROGDAHL et al. 2005). Sabe-se que a absorção de nutrientes depende da taxa em que os nutrientes estão em contato com o epitélio. A quitina influencia na motilidade do trato gastrointestinal, afetando a absorção de nutrientes, ou seja, ela diminui o tempo de retenção do alimento (ZHANG et al., 2014), conseqüentemente há um aumento na taxa de passagem, resultando em um decréscimo nos CDA dos nutrientes, principalmente de lipídeos, proteína e matéria seca (SHIAU & YU 1999; OLSEN et al., 2006; KROECKEL et al., 2012; BELGHIT et al., 2018; PICCOLO et al., 2017; BELFORTI et al., 2015; FONTES et al., 2019)

A organização da quitina na matriz também influencia no CDA, causando redução do acesso de quitinases ou proteinases aos seus substratos, impedindo a quebra de proteínas (KRAMER et al., 1995) a absorção de proteínas e lipídeos pelo intestino (TANAKA et al., 1997; ZHANG et al., 2014), o que leva a redução do aproveitamento dos nutrientes. FINKE et al., (2007), mencionam uma variação na digestibilidade de proteínas / AAs de insetos, pois está depende de quanto dos AAs está ligado à quitina, presente principalmente nas cutículas de insetos adultos (BECKER & YU, 2013).

BELLUCO et al., (2013), mencionam que a remoção da quitina melhora a qualidade da farinha de inseto. Ao realizar a remoção da quitina da farinha de inseto,

FINKE et al., (1989) observaram um aumento na digestibilidade dos nutrientes para ratos, sendo que a alimentação com farinha de grilo (*Acheta domesticus*) tiveram valores de digestibilidade iguais ou superiores à proteína de soja.

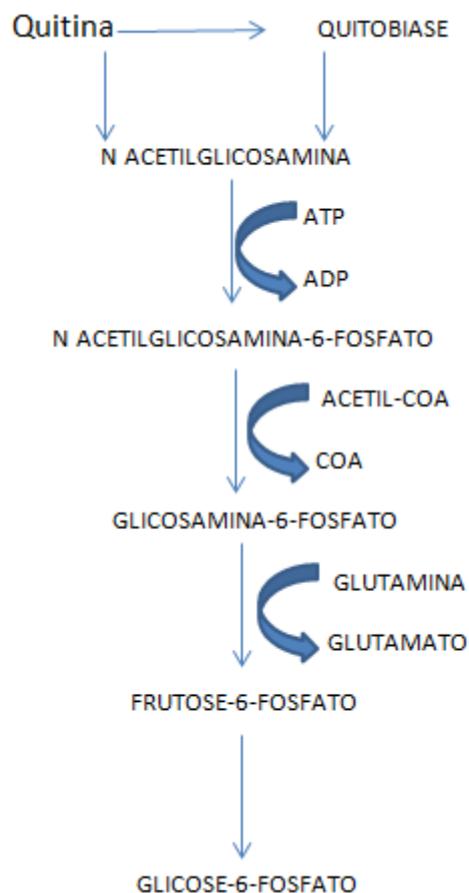
No entanto apesar de trabalhos anteriores mencionarem uma possível redução de digestibilidade dos nutrientes devido à quitina, alguns trabalhos atuais vêm mostrando adequados coeficientes. RENNA et al., (2017), MAGALHÃES et al., (2017) e LOCK et al., (2016) analisaram o uso de *Hermetia illucens* em truta arco-íris, robalo europeu e salmão do atlântico respectivamente. RENNA et al., (2017) relataram CDA de matéria seca de 79% e proteína bruta 91% com 25% de inclusão. Enquanto, MAGALHÃES et al., (2017) e LOCK (2016) os CDA's estudados não foram afetados pela inclusão. Utilizando *Gryllus bimaculatus* em bagre africano, TAUFEEK et al., (2016), os CDA's foram maiores que do grupo controle, assim como os achados por GASCO et al., (2016) com 25% de inclusão de *Tenébrio molitor*. FONTES et al., (2019) apresentaram altos coeficientes de digestibilidade de matéria seca, proteína, lipídeos, energia na alimentação de tilápia com *Tenébrio molitor* e *Zophas morios*.

Apesar dos trabalhos citados não terem avaliado o comprimento relativo do intestino, OM et al., (2003), cita um aumento no comprimento relativo do intestino em animais que consome quitina. O comprimento relativo do intestino é um indicador do uso diversificado de alimentos e nutrientes, melhorando o desempenho. Segundo ZAKI et al., (2015) em robalo dietas com quitina resultaram em aumento no comprimento das vilosidades e microvilosidades. Os dois achados implicam em melhor digestibilidade dos nutrientes.

Da mesma forma que a degradação da quitina é controversa, sua utilização em peixes principalmente em tilápia do nilo ainda não é bem elucidada, muito pouco se sabe sobre sua rota metabólica. Após sua degradação pelas enzimas quitinolíticas (FIGURA 3), os monômeros de NAG são captados pelos enterócitos por difusão facilitada. A glicose presente no monômero da molécula de NAG é direcionada a intermediários glicolíticos, após a fosforilação do NAG-6-fosfato, seguido pela desacetilação em glicosamina 6-fosfato e finalmente desaminação / isomerização em frutose 6-fosfato e amônia (KROGDAHL et al., 2005; GOÉS-NETO et al., 2010). Portanto, a quitina digestível foi convertida em glicose, sendo usada em forma de energia (BAYISSA et al., 2021), afetando positivamente no desempenho dos animais

(YILDIRIM-AKSOY et al., 2020; FAWOLE et al., 2020; MUIN et al., 2022, USHAKOVA et al., 2018; MELENCHÓN et al., 2022).

Figura 3 - Quebra da quitina a glicose.



Fonte: KROGDAHL et al., (2005); GOÉS-NETO et al., (2010)

3.2.3 Farinha de insetos na saúde animal

A farinha de insetos contém compostos bioativos (por exemplo, quitina, ácidos graxos e peptídeos antimicrobiano, que têm sido investigados quanto ao seu potencial na saúde animal (VELDKAMP et al., 2022).

A proteína da farinha de inseto tem atividades antimicrobianas, mais de 150 proteínas de insetos com atividade antimicrobiana foram estudadas (GASCO; FINKE; VAN HUIS 2018), com isso as proteínas de insetos podem ser uma fonte promissora de

peptídeos antimicrobianos visando à substituição alternativa aos antibióticos. Suínos em desmame alimentados de larva de *Tenébrio molitor*, *Zophoba morios* e *Musca domestica* tiveram uma redução na diarreia, os autores sugerem que os resultados se devem ao efeito peptídico antimicrobiano das refeições de insetos (JI et al., 2016).

Alguns ácidos graxos presentes na farinha de inseto trazem benefícios a saúde do animal. Segundo LIEBERMAN et al., (2006) o ácido láurico tem profunda atividade antiviral e antibacteriana. Os ácidos graxos de cadeia média têm efeitos antimicrobianos, enquanto o ácido láurico é particularmente ativo contra bactérias gram-positivas (DIERICK et al., 2002; SKŘIVANOVÁ et al., 2005). SPRANGHERS et al., (2018) demonstrou em in vitro que a gordura da pré-pupa da black soldier fly (0,58 g C12: 0/100 ml) suprimia o crescimento de lactobacilos, com os efeitos antibacterianos mais substanciais contra infecções por *Streptococcus D* em suínos.

Quanto a quitina, os autores LEE et al., 2008; ESTEBAN et al., (2001); SAKAI et al., (1992) e KONO et al., (1987) relatam que sua incorporação em dietas de peixes, aumentaram a atividade do sistema imune inato. A suplementação de 1% de quitina ou quitosana nas dietas de garoupa aumenta a resposta imune e oferece resistência a infecções do parasita protozoário *Philasterides dicentrarchi* (HARIKRISHNAN et al., 2012; ZHANG et al., 2012). Melhora a resposta imune no pompano (LIN et al., 2012), bem como em dourada alimentada com *Musca domestica* (IDO et al., 2015). Em alevinos de robalo europeus alimentados com *Tenébrio molitor* aumentaram a atividade lisozima (HENRY et al., 2018), bem como em carpa preta após a ingestão de *Musca domestica* (YIXIANG et al., 2013). A lisozima é um elemento de defesa, que causa a hidrólise de NAG, constituintes da camada peptidoglicana da parede celular bacteriana (EL-ASHRAM; AFIFI; SAKR 2017). Portanto, a suplementação com quitina ou alimentos que em sua composição tenham a quitina (Exemplo: farinha de insetos) na dieta, aumenta a atividade de lisozima, devido ao aumento de substrato. Devido a essa propriedade, os produtos com quitina podem ser considerados imunoestimulantes inespecíficos. Os animais apresentaram também uma resistência à infecção por *Edwardsiella tarda* (IDO et al., 2015), redução da mortalidade por *Aeromonas hydrophila* (YIXIANG et al., 2013). CHENG et al., (2014), utilizando NAG, observaram uma diminuição na mortalidade em tilápias infectadas por *Streptococcus*

iniae. Ou seja, o monômero obtido a partir da hidrólise da quitina é capaz de modular a imunidade inata.

O trato gastrointestinal também influencia a saúde do animal. Sabemos que a dieta consegue modular a microbiota intestinal nos peixes e manter as comunidades microbianas intestinais ideais, sendo de grande importância para a prática da aquicultura, pois pode afetar a vulnerabilidade dos peixes às doenças (GHANBARI et al., 2015). A quitina que não foi degradada e absorvida, no intestino pode ser fermentada pela microbiota, atuando como um prebiótico, tendo grande importância no trato gastrointestinal que tem sido proposto como um dos principais locais de infecção em peixes (BIRKBECK & RINGØ, 2005). Este processo pode induzir a produção de ácidos orgânicos, reduzindo o pH intestinal e minimizando a prevalência de patógenos intestinais (QIN et al., 2014). A quitina é capaz de reduzir o crescimento de patógenos, melhorando o crescimento da microbiota intestinal benéfica, com efeitos positivos no desempenho e na saúde (KARLSEN et al., 2017). Como demonstrado em truta arco-iris alimentadas com *H. illucens* um aumento da incidência de bactérias benéficas do gênero *Carnobacterium* (BRUNI et al., 2018), bem como abundância de bactérias do ácido lático, que é um indicador potencial de melhoria da saúde intestinal, quando alimentadas com larvas de *H. illucens* ou *prepupae* (HUYBEN et al. 2019). Os autores ainda mencionam um aumento de bactérias Firmicutes e Actinobacteria com uma redução em Proteobacteria. QIN et al., (2014) trabalhando com tilápias híbridas observaram que a suplementação com quitina-oligossacarídeos (quitina hidrolisada) altera o ecossistema microbiano, melhorando o estado de saúde da tilápia, uma vez que houve uma diminuição na mortalidade por *Aeromonas hydrophila*.

Nos parâmetros sanguíneos, a quitina possui propriedades hipolipidêmicas e hipocolesterolêmicas (KOIDE, 1998), ela contém altos níveis de quitosana (MAGALHÃES et al., 2017), que tem capacidade de se ligar aos ácidos biliares e ácidos graxos livres (GASCO et al., 2018). Ocorrendo assim, uma possível redução nos níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídeos em peixes (MAGALHÃES et al., 2017; LI et al., 2017), através da interrupção da circulação entero-hepática da bile, dificultando a digestão e absorção normais da lipídios pelo trato intestinal e dificultando a biossíntese de AG nos hepatócitos (KHOUSHAB E YAMABHAI 2010). Estudos encontraram uma redução no colesterol plasmático em peixes alimentados com farinha

de insetos (MAGALHÃES et al., 2017; SANKIAN, et al. 2018; MASTORAKI et al., 2020; BASTO et al., 2020), bem como em triglicerídeos (FAWOLE et al., 2020; MIKOŁAJCZAK et al., 2020; BASTO et al., 2020). Os autores FEMI et al., 2020; MASTORAKI et al., 2020; BELGHIT et al., 2019 observaram também uma diminuição na glicose plasmática. Contudo, o nível de glicose está associado à resposta ao estresse (ROQUE et al., 2010). USHAKOVA et al., (2018) e MASTORAKI et al., (2020) relatam valores de glicose aumentada. Ainda no trabalho de MASTORAKI et al., (2020), observa-se que o maior nível de glicose reduziu o desempenho dos animais, o que denota que os animais estavam possivelmente sobre estresse.

Apesar dos grandes benefícios demonstrados pelo uso da farinha de inseto seu preço ainda não é atraente para os produtores da cadeia animal. Os preços variam de acordo com a espécie e o alto valor agregado se deve a elevada necessidade de trabalho manual. Os produtores de insetos estão atualmente otimizando e aumentando a produção, o que afetará os preços (GASCO; FINKE; VAN HUIS 2018). E seu uso para o desenvolvimento zootécnico ainda é controverso, uma vez que nem todos os peixes apresentam a capacidade quitinolítica e os que apresentam muitas vezes a presença dessas enzimas é baixa devido à falta de substrato. Contudo, devido à grande variedade de insetos existente, a espécie *Zophas morios* pertencente a ordem *Coleoptera*, merece um destaque na alimentação.

3.2.4 Tenébrio Gigante

O Tenébrio gigante (TG) ou *Zophas morios* (ZM) é amplamente utilizado na alimentação de animais de cativeiro, principalmente espécies insetívoras, devido ao fácil cultivo e o valor nutricional de suas larvas (SCHULTE, 1996), ele é considerado praga de farináceos.

JABIR, RAZAK E VIKINESWARY (2012a) determinaram a composição bromatológica dessa ordem, achando 92,49% de matéria seca 47,43% de proteína bruta, 40,01% de extrato etéreo e 3,54% de cinzas. BARROSO et al., (2013) encontraram 53,5% de proteína bruta, 38% extrato etéreo e 2,5% de cinzas e FINKE (2002) 46,8%; 42%; 2,4% respectivamente. Essa diferença pode ocorrer devido ao tipo de alimentação fornecido e ao estágio de desenvolvimento do animal.

No ensaio de digestibilidade de FONTES et al. (2019) é possível visualizar que a TG tem coeficiente de digestibilidade tão bom quanto a da farinha de peixe e de soja, para uma possível substituição. JABIR, RAZAK E VIKINESWARY (2012b) alimentaram juvenis de tilápia com cinco dietas, sendo um controle e as demais dietas contendo níveis crescentes 7,5%; 15%; 22,5% e 30% de inclusão de farinha de TG. A substituição foi realizada dentro da farinha de peixe que correspondia a 30% do formulado. As percentagens de substituição 7,5% e 15% de farinha de TG levaram a um maior ganho peso, taxas de crescimento específico, melhor conversão alimentar, bem como índice de eficiência proteica. DOĞANKAYA et al. 2016, em substituição a 0%, 25%, 50% e 100% da FP por TG em truta arco íris, encontraram maior desempenho com 25% TG, no entanto a taxa de sobrevivência foi variável. Enquanto MIKOŁAJCZAK et al., (2020) não encontraram nenhum dano no desempenho de alevinos de truta marinha alimentados com TG.

3.3 Programação nutricional

A programação nutricional, através da alimentação prévia nos estágios larvais ou juvenis de peixes, promove respostas fisiológicas modificadas podendo perdurar a longo prazo (PATULA et al., 2021). Em peixes ovíparos, o período larval tem uma alta plasticidade de desenvolvimento (PANSERAT et al. 2018), como a maturação e desenvolvimento do sistema digestivo (BALON, 1999), estando sujeito a nutrição exógena após o consumo total do vitelo. Portanto, estímulos exógenos, se mostram interessantes em peixes.

KUMKHONG et al., (2020) observaram que estímulos hiperglicídicos precoces estão ligados a uma melhor capacidade de usar glicose induzir a lipogênese e suprimir o catabolismo de aminoácidos, levando à melhora desempenho de crescimento em tilápia do Nilo. Em juvenil de truta arco-íris e zebrafish oriundos de larvas alimentadas com uma dieta hiper glicídica, aumentou a expressão de α -amilase pancreática e maltase intestinal quando desafiada com uma dieta rica em carboidratos (GEURDEN et al. 2007). Zebrafish exposto a alto estímulo de glicose na primeira alimentação exibiu expressão e atividade aumentadas de α -amilase quando desafiado (FANG et al.2014).

PANSERAT et al. (2017), ALAMI-DURANTE et al., (2014), GEURDEN et al., (2013) observaram efeitos prolongados com a programação nutricional em truta arco-

iris. Em juvenis de truta arco íris, desafiadas com dieta 100% de origem vegetal os autores observaram maior ingestão de ração e taxa de crescimento após o estímulo no período larval (GEURDEN et al., 2013). ALAMI-DURANTE et al. (2014) observaram em truta-arco-íris efeitos a longo prazo no crescimento muscular, quando ofertado na primeira alimentação proporção maior de lipídios:proteína. PANSERAT et al. (2017) em truta-arco-íris alimentadas com a primeira dieta suplementada com vitaminas influenciou de forma duradoura o crescimento muscular e o metabolismo lipídico. PERERA & YÚFERA (2016) em zebrafish com a primeira alimentação farelo de soja protegeu de danos inflamatórios o intestino na fase de juvenil ao ingerir o farelo novamente.

No crescimento larvas de bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*) e bodião (*Labrus bergylta*) alimentadas com zooplâncton apresentaram um maior crescimento, sendo refletido de maneira positiva na fase de juvenil mesmo com alimentação controle por um longo período (IMSLAND et al. 2006; KOEDIJK et al. 2010; ØIE et al. 2015). VO et al. (2016) larvas de bacalhau que receberam na primeira alimentação náuplios de copépodes, observaram efeito a longo prazo no potencial de crescimento e no desempenho dos peixes, devido ao maior crescimento hipertrófico das fibras musculares vermelhas. Ainda em larvas de bacalhau alimentadas inicialmente com copépodes, CHAUTON et al. (2015) relatam maior crescimento a longo prazo comparada as larvas alimentadas com rotíferos, além de apresentarem níveis mais elevados de creatina, taurina e colina.

Sobre o metabolismo lipídico VAGNER et al. (2007) em robalo europeu, forneceram no período larval uma dieta rica e pobre de ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) durante 3 meses. Observaram que os juvenis que receberam na fase larval a dieta pobre em HUFA, quando desafiados com uma dieta pobre em HUFA (0,5%) por cerca de 2 meses, apresentaram maior teor de DHA em lipídios polares. Sugerindo assim, peixes submetidos a baixos níveis de HUFA em estágios iniciais podem contrabalançar a baixa ingestão dietética de HUFA mais tarde na vida.

Em recente estudo FANG et al. (2021) analisaram se o estímulo de uma dieta rica em carboidratos no estágio inicial de larva da carpa capim (*Ctenopharyngodon idellus*) poderia afetar o metabolismo da glicose em fases subsequentes da vida. Observaram efeito da programação em longo prazo nos níveis de mRNA dos genes relacionados ao metabolismo da glicose. Os níveis de mRNA dos genes de glucoquinase e ácido graxo

sintetase aumentaram significativamente na fase juvenil quando estimulados na fase inicial. Além de afetar o desempenho, a homeostase da glicose, e morfologia do trato intestinal.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi conduzido na Estação de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e no Laboratório Central de Pesquisas Animais (LCPA/DZO), em Lavras, Minas Gerais, Brasil. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), protocolo número 041/18.

4.1 Dieta experimental

No estímulo nutricional, duas dietas isoprotéicas e isoenergéticas (410 g/Kg de proteína bruta e 19,3 KJ/Kg de energia bruta) foram formuladas para determinar os efeitos da inclusão de farinha de *Tenébrio gigante* em dietas para alevinos de tilápia do Nilo: uma dieta controle, sem *Refeição Tenébrio gigante* (Sem TG); e uma dieta de estímulo contendo 250 g/Kg de farinha de *Tenébrio gigante* (Com TG). No ensaio experimental, três dietas de desafio foram formuladas para serem isoprotéicas (270 g/Kg de proteína digestível), isoenergéticas (371 g/Kg de energia digestível) e com níveis crescentes de TG (0, 150 e 300 g/Kg) substituindo até farelo de soja total e óleo de soja. Os coeficientes de digestibilidade aparente dos ingredientes foram baseados em dados de FRACALOSSI e CYRINO (2013), PEZZATO et al., (2002), e FONTES et al., (2019). A composição centesimal e química das dietas experimentais são apresentadas na Tabela 1. Os perfis de ácidos graxos (Tabela 2) foram analisados em dietas e insetos fonte de proteína

Tabela 1 - Formulação e composição aproximada das dietas experimentais

Ingredientes	Programação Nutricional		Experimento		
	Sem TG	Com	Controle	150 TG	300 TG
		TG			
Farinha de Peixe	232,4	235,2	130	130	130
Farinha de tenébrio	-	247,4	-	150	300
Farelo de soja	297,8	150,8	195	97,5	-
Inerte			58	50	40
Óleo de soja	127,9	64,7	87	42,5	-
Milho	51,3	51,9	174	174	174
Farelo de Arroz	188,1	147	100	100	100
Glúten de milho	10,1	40,8	95	95	95
Farelo de trigo	82,7	52,3	150	150	150
BHT ¹	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Premix ²	9,2	9,4	10	10	10
Total	1000	1000	1000	1000	1000
Composição nutricional (% base em matéria seca)					
Matéria seca (g/Kg)	893,2	834,7	889,5	857,1	849,5
Proteína Bruta	408,8	412	289,1	286,6	284,1
Energia Bruta (Kcal/Kg)	4564	4875	4324,9	4448,6	4591,9
Fibra Bruta	51,31	47,4	45,62	46,25	46,88
Fibra detergente Neutro *	148,33	126,96	155,21	154,67	154,13
Extrato etéreo	139,3	181	98	102,7	112,3
Cinza	11,2	10,9	150,1	120,8	119,7
Proteína digestível	371	371	278,1	274,3	279,8
Energia digestível (Kcal/g)	3574,5	3801,7	3378,6	3373,4	3385,8
Carboidratos totais **	538,1	494,2	516,9	545,0	532,1
Chitina		56,2	27,5	43,8	60
DE/DP	9,6	10,2	12,8	12,8	12,9

¹ hidroxitolueno butilado ² Vitamina e Minerais Premix: Vitamina A – 500.000UI; Vitamina D3 – 250.000UI; Vitamina E- 5.000mg; Vitamina K3- 500mg; Vitamina B1- 1.500mg; Vitamina B2- 1.500mg; Vitamina B6- 1.500mg; Vitamina B12- 4.000mg; Ácido fólico – 500mg; Cálcio pantotênico – 4.000mg; Vitamina C – 10.000mg; Biotina – 10mg; Inositol – 1.000mg; Nicotinamida – 7.000mg; Colina – 10.000mg; Co – 10mg; Cu – 1.000mg; Fe – 5.000mg; I – 200mg; Mn – 1.500mg; Se – 30mg; Zn – 9.000mg³. (Agromix LTDA, São Paulo, Brazil).

*Calculado de acordo com INRA (2020), Finke (2002) e Benzertilha et al. (2019)

** Total de carboidratos = 100 – (proteína + lipídeos+ cinzas) de acordo com o sistema atwater.
 Proteína digestível e energia foram calculadas utilizando-se os coeficientes de digestibilidade aparente para a farinha de tenébrio gigante (Z. Morio) obtidos por Fontes et al. (2019).

Tabela 2 - Composição de ácidos graxos do farelo de soja da farinha de tenébrio gigante e das três dietas.

DIETAS	FS*	TG	0	150	300
C14:0	0	1.025	0.414	0.416	0.456
C15:0		0.255	0.076	0.089	0.092
C16:0	15.05	24.085	12.081	18.515	25.987
C16:1	0	2.2	0.674	0.505	0.744
C17:0		0.63	0.202	0.221	0.63
C18:0	4.8	8.182	3.906	5.901	9.432
C18:1n7	0.8				
C18:1n9c	14.3	26.587	30.204	31.422	33.746
C18:1n9t					
C18:2n6c	48.5	32.061	45.14	37.402	24.43
C20:0			0.413	0.399	0.442
C18:3n6			0.487	0.312	0.418
C18:3n3	6.85	14.683	3.017	2.45	0.822
C20:1n9		0.057			
C20:2		0.152	0	0.053	0
C22:0		0.750	0.481	0.286	0.357
C22:1n9		0.375	0	0.043	0
C23:0			0.276	0.161	0.099
C24:0		0.702	0.5	0.266	0.578
C20:5n3			0.942	0.653	0.538
C22:6n3			1.19	0.909	1.331
OUTROS	9.7	1.47			
n3	6.85	14.683	5.149	4.012	2.691
n6	48.5	30.35	45.628	37.714	24.848
n6/n3	7.08	27.59	8.862	9.399	9.235
n3/n6	0.14	0.04	0.113	0.106	0.108
SAFA	19.85	29.468	18.349	26.254	38.073
MUFA	15.1	45.75	30.878	31.97	34.49
PUFA	55.35	31.45	50.776	41.779	27.539
HUFA	0	0	2.132	1.562	1.869
AI	0.214	0.363	0.168	0.274	0.448
TI	0.299	0.717	0.252	0.432	0.739
h-h	4.628	2.394	6.442	3.847	2.302
DHA/EPA	0	0	1.263	1.392	2.474
EPA+DHA	0	0	2.132	1.562	1.869
TBARS		11.812	6.081	9.785	12.021

Abreviaturas: FS, Farelo de soja; TG, tenébrio gigante (*Zophobas morio*); SAFA, ácidos graxos saturados; MUFA, ácidos graxos monoinsaturados; PUFA, ácidos graxos poliinsaturados; HUFA, ácidos graxos altamente insaturados; DHA. 22:6n3; EPA.20:5n3; n3, ácidos graxos poliinsaturados n3 totais; n6, ácidos graxos poliinsaturados n6 totais; SAFA= C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0. MUFA = C16:1 + C18:1n-9 + C18:1n-7 + C20:1n-9. PUFA = C18:3n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3 + C18:2n-6 + C20:4n-6.

n-3 = C18:3n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3. n-6 = C18:2n-6 + C20:4n-6; HUFA= C20:5n3 + C22:6n3; AI, índice de aterogenicidade; TI, índice de trombogenicidade; h-h, razão hipocolesterolêmica/hipercolesterolêmica; TBARS (nanomol.mg⁻¹de proteína).

* Dados compilados de SANCHEZ-MUROS (2015)

As dietas experimentais foram preparadas moendo todos os macroingredientes secos em moinho de martelos (TRF-400 Trapp, Jaraguá do Sul, SC, Brasil) até um pó (peneira de 0,5 mm). Os micro e macro ingredientes foram misturados manualmente. Água quente (50°C) foi então misturada à mistura para atingir uma consistência apropriada para peletização. As dietas foram peletizadas em moedor de carne elétrico (1 mm de diâmetro) (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) e depois secas em estufa de recirculação forçada a 50°C por 24 h. Os pellets foram moídos em moinho de martelos (TRF-400 Trapp), passados por peneira de 2,0 a 2,5 mm (Technal) e armazenados a -20°C até o uso.

4.2 Aclimação

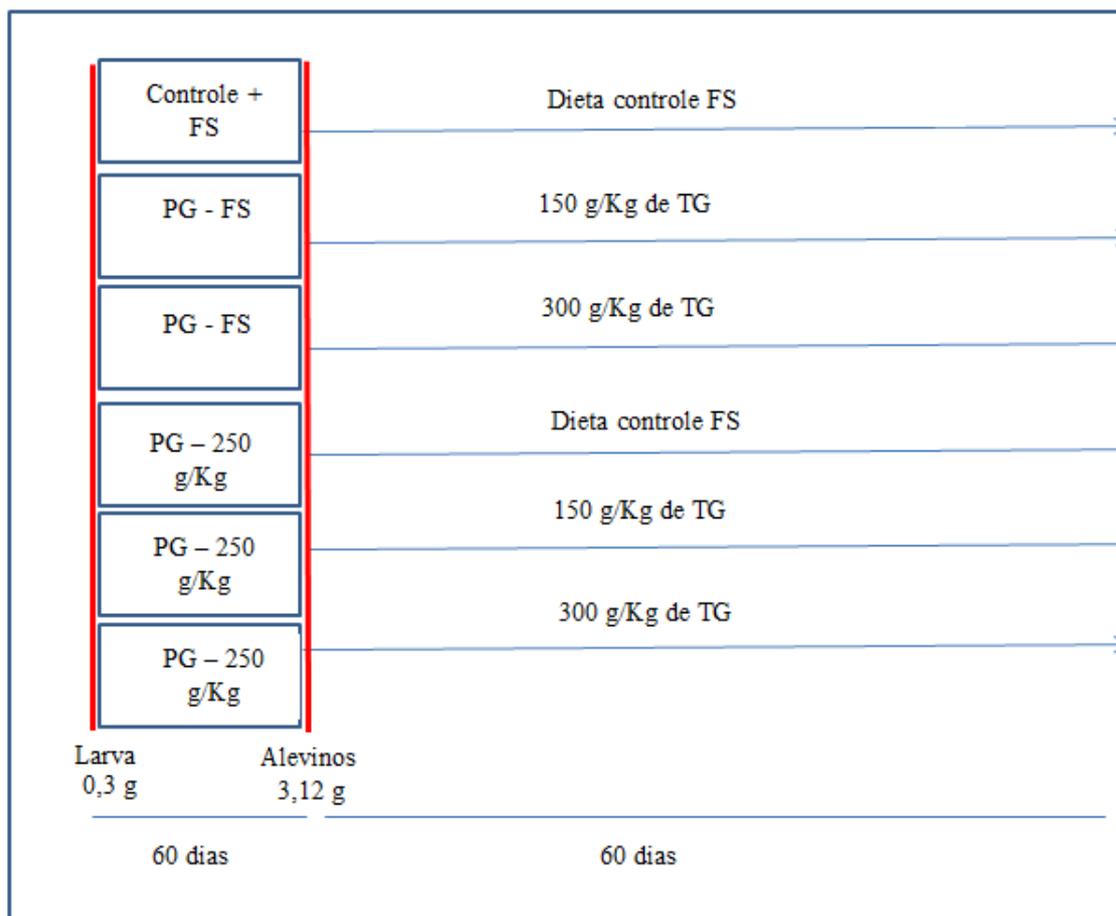
1200 alevinos de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) foram obtidos da Estação de Piscicultura – UFLA e aclimatados por 15 dias após a chegada às instalações experimentais. Durante este período, os peixes foram alimentados com dieta comercial (Pira 40, Guabi, 400 g/Kg de proteína bruta) três vezes ao dia.

4.3 Grupos experimentais e regime alimentar

O ensaio consistiu em seis tratamentos diferentes: (1) um grupo controle positivo que recebeu uma dieta FS durante todo o ensaio (controle positivo) (2) um grupo PG que recebeu uma dieta FS durante o período larval, e na fase de alevinagem recebeu 150g/Kg de TG; (3) um grupo PG que recebeu uma dieta FS durante o período larval, e na fase de alevinagem recebeu 300 g/Kgde TG; (4) um grupo PG que recebeu dieta TG

durante o período larval, e na alevinagem recebeu FS; (5) um grupo PG que recebeu dieta TG durante o período larval, e na alevinagem recebeu 150 g/Kg de TG; (6) um grupo PG que recebeu dieta TG durante o período larval, e na alevinagem recebeu 300 g/Kg de TG (Fig. 4).

Figura 4 - Esquema detalhado do ensaio experimental.



Abreviatura: FS, farinha de soja; PG, programação nutricional; TG, farinha de tenébrio gigante.

Larvas de tilápia do Nilo (peso médio de $0,30 \pm 0,04$ g) foram distribuídos aleatoriamente em seis tanques circulares (500L) com densidade de 200 alevinos/tanque. Cada tanque foi considerado uma unidade experimental, disposta em delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos (sem TG e com TG) e três repetições. Os peixes foram alimentados com dietas experimentais por 60 dias, três vezes ao dia (8:00 , 12:00 e 16:00h), até a saciedade aparente.

Após a programação nutricional (sem TG e com TG) realizou a biometria e sexagem dos peixes. Alevinos machos ($3,12 \pm 0,08$ g de peso médio), foram distribuídos aleatoriamente em 24 tanques circulares (150 L) na densidade de 12

peixes/aquário. Cada tanque foi considerado uma unidade experimental, e o experimento foi delineado em esquema fatorial 2×3 (dois alevinos e três dietas experimentais) e quatro repetições.

Os peixes foram alimentados com uma quantidade fixa de ração duas vezes ao dia (às 8:00h e às 14:00h). A ração diária foi ajustada ao longo do experimento para levar em conta o crescimento (os peixes foram pesados por tanque quinzenalmente). Na primeira semana fornecimento de 70 g/Kg do peso corporal de alimentação diária, na segunda semana 50 g/Kg, evitando assim o excesso de comida, ao longo de 60 dias.

Na programação nutricional e no ensaio a qualidade da água foi mantida por meio de aeração suplementar (linha central e difusores de ar), filtragem mecânica e biológica e lâmpadas UV. A temperatura da água foi controlada com um trocador de calor (26°C) e medida duas vezes ao dia. O oxigênio dissolvido e o pH foram monitorados diariamente usando um multiparâmetro (U10, Horiba, Kyoto, Japão). A amônia total e o nitrito foram medidos usando kits comerciais (Labcon Test Fresh Water Toxic Ammonia e Labcon Test Nitrite NO₂⁻).

4.4 Coleta de amostra

Ao fim da programação nutricional, realizou-se a biometria dos animais, para redistribuição do ensaio alimentar. Ao final do ensaio alimentar, todos os peixes foram submetidos a jejum de 24 horas e pesados. Três peixes de cada tanque foram selecionados aleatoriamente para que as amostras de sangue fossem obtidas da vasculatura caudal com agulhas heparinizadas. O plasma foi recuperado após centrifugação (1.000g, 10 min), utilizado para quantificar a proteína total por refratômetro e armazenado a -80 °C até a análise. Em seguida, os peixes mortos por overdose de anestésico foram coletados fígado, filé, intestino posterior e médio armazenados a -80°C até a realização das análises. Amostras de fígado também foram preservadas em bouin para análise histológica.

4.5 Análises químicas

4.5.1 Metabólicos plasmáticos

Kits comerciais (Labtest Diagnóstica SA) foram utilizados para quantificar triglicerídeos (triglicerídeos Liquiform, Cat. 87), colesterol (Cholesterol Liquiform, Cat. 76), glicose e proteínas plasmáticas. Todas as amostras foram medidas em triplicata em uma placa de 96 poços e lidas em um espectrofotômetro (Multiskan GO, Thermo Scientific, EUA).

Pelo protocolo de quitina descrito por TSUJI et al., (1969), quantificou-se a glucosamina (NAG). O NAG do hidrolisado de quitina foi desaminado e a cor reagiu com MBTH. A absorbância foi lida a 650 nm e o conteúdo calculado usando uma curva padrão externa com NAG-HCl.

4.5.2 Análise de ácidos graxos

A extração lipídica e o perfil de AG da dieta, fígado e filé, foram analisados de acordo com Araújo et al. (2017). O lipídio total foi extraído com clorofórmio e metanol usando uma modificação do método de Folch et al. (1957). O perfil de AG foi determinado usando um cromatógrafo a gás GC2010 (GC) (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com um detector de ionização de chama (FID) e uma coluna capilar de sílica fundida SP-2560 (100,0 m x 0,25 mm, filme de 0,20 µm; Supleco, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Os picos de ácidos graxos foram integrados usando o software de cromatografia em solução GC (versão 4.02) e os picos foram identificados por comparação com padrões conhecidos (37 Component FAME Mix; Supelco, Sigma-Aldrich).

Para investigar a qualidade nutricional lipídica do fígado e filé do peixe, foram utilizados importantes indicadores do índice de qualidade nutricional (NQI) sugeridos por ULBRICHT e SOUTHGATE (1991), SANTOS-SILVA et al., (2002), e RODRIGUES et al., (2017). O índice de aterogenicidade (AI), índice de trombogenicidade (TI) e hipocolesterolêmico / razão hipercolesterolêmica (h/h) foram determinados da seguinte forma:

$$\text{"AI} = (4 \times \text{C14:0} + \text{C16:0}) / (\sum \text{MUFA} + \sum \text{n-6} + \sum \text{n-3})\text{"}$$

$$\text{TI} = (\text{C14:0} + \text{C16:0} + \text{C18:0}) / (0.5 \times \sum \text{MUFA} + 0.5 \times \sum n-6 + 3 \times \sum n-3 + 100 \times \sum n-3 / \sum n-6)$$

$$\text{h/h} = (\text{C18:1n9} + \text{C18:2n-6} + \text{C20:4n-6} + \text{C18:3n-3} + \text{C20:5n-3} + \text{C22:6n-3}) / (\text{C14:0} + \text{C16:0})$$

4.5.3 Histologia do fígado

Fragmentos de fígado foram coletados (n=72) para análise histológica convencional por hematoxilina e eosina (HE), avaliação de triglicerídeos com a coloração de Sudan III (Sigma Aldrich, EUA) e de glicogênio com ácido periódico de Schiff (PAS; Sigma Aldrich, EUA). Para as técnicas de HE e PAS, os fragmentos de fígado foram fixados em solução de Bouin, durante 24 h e, em seguida, transferidos para o álcool etílico a 70%. Posteriormente, os tecidos foram desidratados em uma série crescente de soluções de álcool, diafanizados em xilol, incluídos em parafina para a obtenção de cortes com 5 µm de espessura.

Os cortes histológicos (HE e PAS) foram observados ao microscópio óptico e analisados, às cegas, em toda extensão por uma patologista veterinária. As lesões microscópicas no parênquima hepático foram classificadas quanto à natureza do processo patológico, distribuição e intensidade das alterações. Quanto à natureza, observou-se a presença de vacuolização citoplasmática, infiltração de células inflamatórias, necrose e congestão de vasos. Quanto à distribuição, as lesões foram classificadas em incipiente, quando havia lesões em células individualizadas; em focal, quando ocorria em um único ponto; multifocal, quando ocorria em vários pontos esparsamente, focalmente extensa, quando uma considerável área do parênquima foi atingida e difusa, quando todo o parênquima foi atingido. Quanto à intensidade estipularam-se diferentes escores para a quantificação das alterações encontradas: 0 (normal), 1 (1 a 10%), 2 (11 a 30%), 3 (31 a 60), 4 (61 a 100%).

Para a obtenção das amostras teciduais coradas com Sudan III (n=48) , os fragmentos de fígado foram imersos em isopentano, imediatamente criopreservados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer a -80°C. Posteriormente, foram obtidas secções de 10 µm de espessura em criostato a -20°C (1850 CM de Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha).

Os cortes histológicos foram observados e fotografados sob um microscópio óptico (Olympus CX31, Japão) acoplado a uma câmera digital colorida (Olympus

SC30, Japão), utilizando o software AnalySISgetIT (Olympus Image). As imagens foram analisadas com um programa de processamento de imagem (Image-Pro Plus 6.0@).

4.5.4 Estresse oxidativo

Para espécies reativas de oxigênio ROS e ensaios enzimáticos, as amostras de músculo e intestino foram homogeneizadas em tampão gelado (100 mM Tris-HCl, 0,1 mM EDTA e 0,1% triton X-100 [v v1], pH 7,8) na proporção de 1 :9 (wv1). Os homogenatos foram centrifugados a 8.000 g por 25 min, e o sobrenadante foi coletado e congelado a 80°C até a análise.

O nível de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi medido como um índice de estresse oxidativo resultante da peroxidação lipídica (LPO), seguindo o protocolo descrito por Buege e Aust (1978). A absorbância das amostras foi lida em duplicata usando um leitor de microplacas a 535 nm (Synergy 2; Bio-Tek, Winooski, EUA). A concentração de malondialdeído (MDA) foi lida a partir de uma curva de calibração padrão plotada usando 1,1,3,3-tetrametoxipropano (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA), e os resultados foram expressos como nanomoles de MDA por miligrama de proteína.

A avaliação da atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada com base na autooxidação do pirogalol pelos métodos de Madesh e Balasubramanian (1997). As amostras (30 µl) foram diluídas em 99 µl de solução tampão de fosfato 50 mM (pH 7,2) e 6 µl de MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il) -2,5-DifeniltetrazólioBrometo; Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) e 15 µl de pirogalol 1,25 mM (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA). Os brancos incluíram todos os componentes, exceto pirogalol e amostra. A absorbância foi lida em duplicata usando um leitor de microplacas a 570 nm (Synergy 2; BioTek, Winooski, EUA). A atividade total da SOD foi expressa em unidades por miligrama de proteína, onde uma unidade de atividade da SOD é definida como a quantidade da enzima necessária para produzir 50 dismutações do radical superóxido por minuto.

A atividade da catalase (CAT) foi medida de acordo com um método espectrofotométrico adaptado de Aebi (1984), seguindo a diminuição da absorbância em

240 nm pelo consumo de H₂O₂. A absorvância (240 nm) foi medida a cada 15 s por 1 min (a 25°C, pH 7,2 e trajeto de 10 mm), usando uma placa de quartzo em um espectrofotômetro (Shimadzu UV-160, Kyoto, Japão), e as amostras foram testado em duplicatas. A atividade específica de CAT é relatada como unidades por miligrama de proteína (uma unidade é definida como 1 mol de H₂O₂ consumido por minuto). O teor de proteína das soluções sobrenadantes foi determinado pelo método de Bradford (1976), usando albuminas de soro bovino como padrão.

4.6 Análise estatística

Os dados são expressos como média \pm erro padrão combinado da média (SEM). Normalidade e homogeneidade de variâncias foram testadas usando os testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados usando o pacote de software SPSS para Windows (IBM® SPSS® Statistics, Nova York, EUA) e nível de probabilidade de 0,05 foi usado para rejeição da hipótese nula. A análise estatística dos dados foi feita por ANOVA de duas vias, tendo como fatores a alimentação dos alevinos e as dietas experimentais. O teste de Tukey foi aplicado para identificar diferenças entre os tratamentos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Metabolismo plasmático

Os resultados dos parâmetros bioquímicos do plasma são relatados na Tabela 3. O colesterol total e glicose não foram significativos com a inclusão da farinha de inseto. O teor de NAG e proteína total foram maiores nos peixes que sofreram a programação nutricional. Os monômeros de NAG presente no sangue, demonstra que a tilápia do Nilo foi capaz de quebrar a quitina presente na dieta, o que já é demonstrado na literatura MOLINARI et al., (2007). Tal resultado confirma os dados ainda não publicados do presente trabalho, onde foi observada uma maior atividade da quitinase em peixes que passaram pelo do estímulo nutricional.

Tabela 3 - Composição plasmática (mg dL⁻¹) de Tilápia do Nilo alimentada com três dietas (0, 150 e 300g/Kg de TG), após a programação nutricional.

PG	FS				TG				TWO WAY ANOVA		
	0	150	300	POOLED SEM	0	150	300	POOLED SEM	DIETA	PG	INTERAÇÃO
Glicose	21.737	22.284	19.771	0.717	21.633	19.394	21.371	0.686	0.9143	0.3669	0.6793
Triglicerídeos	155.756 ^{aA}	146.656 ^{aA}	137.916 ^{aB}	4.999	124.103 ^{bb}	104.208 ^{bb}	166.296 ^{aA}	6.263	0.0085	0.0281	0.0001
Colesterol	144.263	149.492	174.666	4.774	161.511	158.918	156.296	4.387	0.203	0.6595	0.0573
Proteína (g dL⁻¹)	3.132	3.392	3.58	0.177	3.345	3.534	3.733	0.149	0.146	0.032	0.1565
NAG (microg/ml)	4.357	3.202	3.488	0.204	4.585	4.033	4.056	0.206	0.1463	0.0324	0.1565

Abreviaturas: FS, farelo de soja; TG, farinha tenébrio gigante (*Zophobas morio*); PG, Programação Nutricional; NAG, N-acetilglucosamina; Os dados são relatados como média; SEM, erro padrão da média (n = 12). Médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas (p < 0,05) entre os níveis de TG na dieta; médias na mesma linha com letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (p < 0,05) entre a programação nutricional na dieta baseada no teste Tukey-Kramer HSD.

A quitina é um polissacarídeo, que após sua hidrólise, o NAG gerado entra na rota metabólica gerando uma glicose (KROGDAHL et al., 2005). Conforme FANG et al., (2021) a programação nutricional de carpa capim alimentadas com dieta rica em carboidrato ocasionou elevação da enzima glicoquinase quando comparada ao controle, regulando o nível de glicose, mostrando que a programação nutricional é capaz de influenciar o metabolismo de carboidratos em peixes.

No entanto, presume-se nesta pesquisa a quantidade de quitina digestível no alimento não foi capaz de elevar a glicose no sangue ou que as tilápia não foram capazes de utilizar o NAG na rota metabólica, independente da influência da programação nutricional. Sendo este direcionado provavelmente para mecanismos de defesa (KAMILYA & KHAN; 2020), atividade antimicrobiana e proteção contra infecções induzidas por patógenos (HAMED et al., 2016). Dados não publicados pela nossa equipe observaram maior taxa de sobrevivência em alevinos de tilápia alimentados com TG. Assim como, CHENG et al., (2014) utilizando NAG exógeno observaram uma elevação na sobrevivência de tilápia contra infecção, além de apresentarem maior quantidade de NAG no sangue. Apesar de não terem quantificado o NAG no sangue, os autores ALVES et al., (2020); TIPPAYADARA et al., (2021); AGBOHESSOU et al., (2021a) e KISHAWY et al., (2022) observaram uma melhora na imunidade de tilápia utilizando farinha de inseto.

A programação nutricional, levou a menores valores de triglicerídeos na dieta 0 e 150 g/Kg, no entanto, quando houve uma alta inclusão 300 g/Kg houve um aumento deste parâmetro. Somente na fase com TG as dietas foram diferentes, sendo maior em 300 g/Kg e menor nas demais.

Apesar dos autores FANG et al., (2021) e FANG et al., (2014) mencionarem que a programação nutricional, tende a regular o nível de glicose a longo prazo, causando uma redução dos níveis de triglicerídeos, em nosso trabalho a redução de triglicerídeos se deu por outra via. Pressupomos que apesar de encontrar o NAG no sangue, boa parte da quitina possa ter continuado na sua forma íntegra agindo como uma fibra, corroborando com os achados de ZHANG et al., (2008) e LI et al., (2016), a quitina e seus derivados além de aumentarem a excreção de lipídeos reduzem a atividade da síntese de ácidos graxos e aumentam as atividades da lipase lipoproteica e da lipase no fígado, com isso, uma redução de triglicerídeos no sangue. AMER et al., (2021) em tilápia alimentadas com lagarta de algodão, não

observaram efeitos significativos nesse parâmetro. MIKOŁAJCZAK et al., (2020) observaram uma diminuição nos triglicérides em alevinos de truta marinha (*Salmo trutta m. Trutta*) alimentados com TG.

Alguns autores como PRACHOM et al., (2021) utilizando farinha desengordurada de TG em juvenis de robalo asiático e JEONG et al., (2021) em linguado submetido a dieta com *Tenébrio mollitor* (TM) observaram uma diminuição no colesterol. Enquanto MIKOŁAJCZAK et al., (2020) encontraram um aumento de colesterol. A diferença de resultados pode ter ocorrido pela interferência da farinha de inseto na composição da dieta. Em nosso trabalho não foram encontradas diferenças na programação e dietas. Entretanto, por mais que não ocorreu influência da programação nutricional sobre esse parâmetro, esperava-se que os animais que comeram as refeições ricas em insetos, ou seja, com presença da quitina, apresenta-se menor colesterol. Pois, a quitina não digerida pode agir como uma fibra, influenciando na motilidade do trato gastrointestinal ocorrendo uma influência na absorção dos nutrientes, ou seja, ela diminui o tempo de retenção (ZHANG et al., 2014), esperando-se assim uma queda no colesterol.

5.2 Ácidos graxos

As dietas com diferentes percentagens de insetos (150 e 300 g/Kg) apresentaram uma maior quantidade ácidos graxos saturados (SAFA) e ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e menor poli-insaturados (PUFA) e altamente insaturados (UFA), uma vez que há uma predominância dos SAFA e MUFA na composição dos insetos, menor quantidade de ácidos da série ômega 3 e 6 (TABELA 2). Corroborando com BRUNI et al., (2020); BELGHIT et al., (2018) e LOCK et al., (2015).

É possível observar uma diminuição de C22:6n3 (DHA) com a inclusão de 150g/Kg de farinha de inseto, no entanto, com 300 g/Kg houve um aumento sendo este maior que a dieta controle, o C18:3n6 (gama linolênico) também diminuiu com 150 g/Kg de inclusão e depois aumentou; e os ácidos graxos C20:5n3 (EPA), C18:2n6c (linoleico) e C18:3n3; (alfa linolênico) diminuíram com inclusão.

A peroxidação (TBARS) das rações formuladas aumentou com o uso de TG. Os resultados desses parâmetros se devem a qualidade de ácidos graxos presentes no inseto.

Entretanto, pesquisas bem sucedida modularam o perfil de ácidos graxos nos insetos em um curto espaço de tempo (ST-HILAIRE et al., 2007; SEALEY et al., 2011).

Os perfis de ácidos graxos (AG) do filé e do fígado se encontram na tabela 4 e 5, respectivamente. Os ácidos graxos presente no filé foram inerentes a programação nutricional sendo um reflexo do perfil da dieta. Os filés de tilapia foram ricos em SAFA e MUFA e pobres em PUFA principalmente da série n6, com o uso de TG. Dos ácidos graxos que compõem o MUFA somente o C18:1n9c (ácido oléico) foi significativo, sendo maior no grupo 300g/Kg em relação às dietas 0 e 150 g/Kg.

SANCHEZ MUROS et al., (2015) substituíram a farinha de peixe por *Tenébrio mollitor* em tilápia do Nilo, os autores relataram maiores porcentagens de MUFA e níveis mais baixos de SAFA no músculo de peixe alimentado com inseto. Eles ainda relatam que no fígado o perfil foi semelhante ao músculo. JEONG et al., (2021) em linguado observaram maiores teores de MUFA e PUFA principalmente da série n-6 enquanto que para SAFA não foi significativo.

Independente da programação nutricional os ácidos graxos mais abundantes encontrados no filé com a substituição de FS por 150 e 300 g/Kg de TG foram: C16:0 (palmítico), C18:0 (esteárico), C18:1n-9c (oleico), assim como encontrado por SANKIAN et al., 2018 em juvenis de *Siniperca scherzeri*. BELFORTI et al., (2015) em truta arco iris, JEONG et al., (2021) em linguado. MASTORAKI et al., (2020) em robalo, substituíram a farinha de peixe por *tenébrio mollitor* e TILAMI et al., (2020) usando 25% de uma mistura de tenébrio gigante e grilo doméstico em substituição a farinha de peixe em *Perca fluviatilis*, observaram um aumento de linoleico (C18:2n6c) no músculo, contudo no presente trabalho observa-se uma redução desse ácido graxo uma vez que a inserção da farinha de TG foi realizada em substituição ao farelo de soja, que contém uma alta percentagem deste.

Tabela 4 - Perfil de ácidos graxos (% de ácidos graxos totais analisados) e índices de qualidade nutricional em filé de tilápia do Nilo alimentada com três dietas (0,150 e 300g/Kg de TG) após a programação nutricional (continua)

PG DIETA	FS			POOLED SEM	TG			POOLE D SEM	TWO WAY ANOVA			0	150	300
	0	150	300		0	150	300		DIETA	PG	INTERAÇÃO			
C12:0	Nd	0.052	0.070	0.009	Nd	0.048	0.101	0.013	0.0095	0.4647	0.1083			
C14:0	0.879	1.085	1.287	0.068	0.806	1.175	1.306	0.142	0.1757	0.6098	0.9840			
C15:0	0.181	0.256	0.177	0.027	0.236	0.206	0.237	0.028	0.7045	0.5744	0.3568			
C16:0	16.185	20.669	22.379	0.666	17.916	21.594	23.041	0.733	0.0001	0.1276	0.8129	b	a	a
C16:1	1.216	1.272	1.692	0.092	1.015	1.945	2.05	0.279	0.1223	0.5151	0.6453			
C17:0	0.315	0.32	0.292	0.015	0.387	0.385	0.309	0.022	0.3818	0.0957	0.7367			
C17:1	0.478	0.559	0.55	0.133	0.682	0.212	0.773	0.114	0.6807	0.2431	0.3239			
C18:0	6.026	7.702	7.384	0.266	6.133	7.913	7.114	0.273	0.0006	0.9614	0.8207	b	a	a
C18:1n9t	0.166	0.166	0.344	0.03	0.189	0.138	0.193	0.019	0.4295	0.5166	0.7889			
C18:1n9c	29.128	31.938	35.321	1.062	26.925	30.85	34.584	0.938	0.0001	0.2653	0.8695	b	b	a
C18:2n6c	31.318	22.502	17.644	1.604	30.657	22.453	18.579	1.420	0.0001	0.9592	0.9001			
C20:0	0.325	0.334	0.28	0.015	0.268	0.319	0.258	0.016	0.6359	0.0238	0.6010			
C18:3n6	1.489	1.113	1.02	0.066	1.504	1.407	1.012	0.091	0.0037	0.6093	0.3995	a	b	b
C20:1n9	1.23	1.421	1.583	0.094	0.989	1.284	1.364	0.075	0.0767	0.0582	0.9680			
C18:3n3	2.06	1.359	0.604	0.171	1.942	1.144	0.654	0.155	0.0001	0.1867	0.4443	a	b	c
C20:2	1.656	1.391	1.034	0.091	1.473	1.281	1.033	0.072	0.0015	0.1867	0.6065	a	b	b
C22:0	0.226	0.204	0.285	0.016	0.251	0.185	0.257	0.015	0.0091	0.0250	0.4984	ab	b	a
C20:3n6	1.572	1.559	1.456	0.074	1.644	1.666	1.435	0.061	0.3518	0.9127	0.6352			
C22:1n9	0.09	0.157	0.085	0.02	Nd	0.084	0.057	0.013	0.4923	0.0039	0.1456			
C20:3n3	0.278	0.177	0.161	0.022	0.399	0.201	0.093	0.043	0.0001	0.8254	0.9432	a	b	b
C20:4n6	2.206	2.476	3.086	0.231	3.353	3.2	2.723	0.273	0.9609	0.1794	0.2233			
C22:2	0.049	0.23	Nd	0.039	Nd	0.038	0.124	0.069	0.3240	0.2087	0.0755			
C24:0	0.101	0.096	Nd	0.027	Nd	Nd	0.123	0.048	0.8719	0.2503	0.0881			
C20:5n3	0.2	0.332	0.22	0.042	0.397	0.272	0.519	0.165	0.8881	0.8971	0.5025			
C22:6n3	3.264	3.968	4.037	0.3	4.459	4.396	4.132	0.329	0.8523	0.2278	0.6135			

Tabela 4. Perfil de ácidos graxos (% de ácidos graxos totais analisados) e índices de qualidade nutricional em filé de tilápia do Nilo alimentada com três dietas (0,150 e 300g/Kg de TG), após a programação nutricional (Conclusão).

PG DIETA	FS			POOLED SEM	TG				TWO WAY ANOVA			0	150	300
	0	150	300		0	150	300		DIETA	PG	INTERAÇÃO			
n3	5.781	5.778	4.821	0.334	6.866	5.524	5.091	0.390	0.0996	0.4786	0.5763			
n6	36.585	27.205	23.204	1.692	37.157	28.343	23.476	1.701	0.0001	0.7125	0.9800	a	b	b
n6/n3	6.425	5.383	5.103	0.286	5.539	5.638	5.211	0.436	0.3839	0.8322	0.3872			
n3/n6	0.161	0.207	0.204	0.010	0.188	0.204	0.236	0.021	0.3171	0.3921	0.8306			
SAFA	26.271	32.88	35.072	1.009	28.782	34.443	34.738	0.896	0.0039	0.0806	0.2210	b	ab	a
MUFA	31.888	35.609	38.954	1.304	29.075	33.764	38.383	1.184	0.0059	0.9133	0.4304	b	b	a
PUFA	41.837	31.973	25.973	1.910	42.143	31.792	26.905	1.806	0.0081	0.3986	0.2872	a	b	ab
HUFA	5.293	5.41	5.672	0.362	6.568	6.124	5.785	0.393	0.7094	0.1045	0.5605			
AI	0.266	0.378	0.411	0.017	0.291	0.390	0.415	0.025	0.0034	0.2657	0.6304	b	ab	a
TI	0.336	0.453	0.479	0.021	0.343	0.458	0.465	0.020	0.0026	0.2848	0.5245	b	a	a
h-h	3.981	2.742	2.447	0.174	3.49	2.709	2.431	0.132	0.0014	0.6353	0.7017	a	b	b
DHA/EPA	18.3	15.69	21.65	3.75	6.63	21.9	16.18	4.06	0.4746	0.6032	0.5143			
EPA+DHA	3.36	4.03	4.19	0.32	4.66	4.57	4.48	0.35	0.7094	0.0548	0.5490			

Abreviaturas: FS, farelo de soja; TG, tenébrio gigante (*Zophobas morio*); PG, programação nutricional; SAFA, ácidos graxos saturados; MUFA, ácidos graxos monoinsaturados; PUFA, ácidos graxos poliinsaturados; HUFA, ácidos graxos altamente insaturados; DHA. 22:6n3; EPA.20:5n3; n3, ácidos graxos poliinsaturados n3 totais; n6, ácidos graxos poliinsaturados n6 totais; SAFA= C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0. MUFA = C16:1 + C18:1n-9 + C18:1n-7 + C20:1n-9. PUFA = C18:3n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3 + C18:2n-6 + C20:4n-6. n-3 = C18:3n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3. n-6 = C18:2n-6 + C20:4n-6; HUFA= C20:5n3 + C22:6n3; AI, índice de aterogenicidade; TI, índice de trombogenicidade; h-h, razão hipocolesterolêmica/hipercolesterolêmica.

Os dados são relatados como média; Erro padrão SEM da média (n = 8). Médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas (p < 0,05) entre os níveis de SW na dieta; médias na mesma linha com letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (p < 0,05) entre a programação nutricional na dieta baseada no teste Tukey-Kramer HSD. nd: não detectado.

Tabela 5 - Perfil de ácidos graxos (% de ácidos graxos totais analisados) e índices de qualidade nutricional em fígado de tilápia do Nilo alimentada com três dietas (0,150 e 300g/Kg de TG) após a programação nutricional (continua)

PG	FS				TG				TWO WAY ANOVA					
	0	150	300	POOLED SEM	0	150	300	POOLED SEM	DIETA	PG	INTERAÇÃO	15		
DIETA												0	0	300
C12:0	0	0.039	0.091	0.017	0.021	0.074	0.093	0.019	0.0003	0.0506	0.0834			
C14:0	0.683	1.073	1.639	0.122	1.024	1.084	1.417	0.095	0.0003	0.8348	0.1165	b	b	a
C15:0	0.271	0.23	0.189	0.032	0.162	0.195	0.173	0.008	0.7366	0.1998	0.6078			
C16:0	18.32	19.134	22.485	0.584	15.666	18.876	21.86	1.014	0.0001	0.0327	0.0914	c	b	a
C16:1	0.992	1.466	2.382	0.184	1.222	1.492	2.188	0.179	0.0010	0.9322	0.5542	b	b	a
C17:0	0.275	0.329	0.268	0.015	0.301	0.297	0.268	0.012	0.9143	0.7221	0.9633			
C17:1	0.835	0.233	0.337	0.098	0.165	0.253	0.209	0.016	0.5488	0.3513	0.9042			
C18:0	7.135	6.992	6.409	0.227	6.154	6.584	6.668	0.202	0.7927	0.2378	0.3045			
C18:1n9t	0	0.146	0.233	0.026	0.124	0.154	0.221	0.017	0.0002	0.0692	0.0809	b	b	a
C18:1n9c	24.012	34.103	39.434	2.032	31.085	36.009	40.092	1.843	0.0002	0.1298	0.2613	b	a	a
C18:2n6c	29.734	23.308	16.569	1.77	29.917	22.361	16.659	2.341	0.0002	0.9400	0.9997	a	b	c
C20:0	0.296	0.269	0.226	0.012	0.268	0.264	0.227	0.014	0.8801	0.3281	0.7894			
C18:3n6	1.408	1.148	1.009	0.071	1.451	1.18	1.03	0.081	0.0032	0.5962	0.9736	a	b	b
C20:1n9	0.981	1.331	1.653	0.114	1.395	1.29	1.843	0.142	0.0202	0.3096	0.3264	b	b	a
C18:3n3	1.878	1.257	0.576	0.162	1.543	1.115	0.719	0.157	0.0001	0.5825	0.3668	a	b	c
C20:2	1.635	1.38	0.799	0.101	2.111	1.255	0.845	0.210	0.0001	0.0366	0.0016			
C22:0	0.163	0.169	0.251	0.017	0.176	0.23	0.287	0.018	0.0040	0.0186	0.0788	b	a	a
C20:3n6	1.837	1.409	1.054	0.098	1.854	1.333	1.165	0.119	0.0001	0.7573	0.5795	a	b	c
C20:3n3	0.250 ^{abB}	0.241 ^{abA}	0.071 ^{ba}	0.032	0.316 ^{aA}	0.179 ^{abA}	0.093 ^{ba}	0.038	0.0243	0.0324	0.0388			
C20:4n6	4.187 ^{aA}	2.530 ^{ba}	1.766 ^{ba}	0.323	2.103 ^{ab}	2.260 ^{aA}	1.777 ^{aA}	0.103	0.0013	0.0049	0.0055			
C20:5n3	0.235	0.174	0.155	0.034	0.076	0.29	0.106	0.035	0.6504	0.8993	0.3573			
C22:6n3	5.774 ^{aA}	3.349 ^{ba}	2.142 ^{ba}	0.519	2.680 ^{ab}	3.455 ^{aA}	2.062 ^{aA}	0.280	0.0070	0.0417	0.0164			
Outros	6.131	6.879	8.9		7.109	6.519	7.689							

Tabela 5 - Perfil de ácidos graxos (% de ácidos graxos totais analisados) e índices de qualidade nutricional em fígado de tilápia do Nilo alimentada com três dietas (0,150 e 300g/Kg de TG), após a programação nutricional (Conclusão).

PG	FS			POOLED SEM	TG			POOLED SEM	TWO WAY ANOVA					
	0	150	300		0	150	300		DIETA	PG	INTERAÇÃO	15 0	30 0	
DIETA														
n3	7.892 ^{aA}	4.923 ^{bA}	2.87 ^{cA}	0.658	4.596 ^{abB}	4.894 ^{aA}	2.981 ^{bA}	0.413	0.007	0.0826	0.0271			
n6	37.165	28.395	20.399	2.13	35.325	27.134	20.631	2.575	0.0001	0.7375	0.8802	a	b	c
n6/n3	4.74 ^{bB}	6.227 ^{abA}	7.05 ^{aA}	0.442	7.93 ^{aA}	5.553 ^{bA}	6.912 ^{abA}	0.484	0.264	0.1564	0.0159			
n3/n6	0.21 ^{aA}	0.172 ^{abA}	0.145 ^{bA}	0.011	0.129 ^{bB}	0.18 ^{aA}	0.145 ^{bA}	0.009	0.0424	0.0028	0.0191			
SAFA	27.044	28.133	31.971	0.732	23.841	27.604	31.013	1.186	0.0001	0.0361	0.207	c	b	a
MUFA	26.263	37.161	43.962	2.331	34.066	39.114	44.516	2.151	0.0003	0.1748	0.2838	c	b	a
PUFA	46.692	34.706	24.067	2.788	42.093	33.282	24.471	3.086	0.0001	0.5088	0.5876	a	b	c
HUFA	12.038 ^{aA}	7.605 ^{bA}	5.113 ^{cA}	0.923	7.010 ^{ab}	7.372 ^{aA}	5.204 ^{aA}	0.424	0.0008	0.0313	0.0157			
AI	0.295	0.333	0.433	0.018	0.267	0.326	0.404	0.022	0.0001	0.0879	0.6858	c	b	a
TI	0.341	0.424	0.554	0.025	0.375	0.403	0.535	0.027	0.0001	0.887	0.2985	c	b	a
h-h	3.464	3.224	2.531	0.128	4.058	3.282	2.65	0.236	0.0001	0.04	0.1211	a	b	c
DHA/EPA	15.121	13.084	9.647	2.975	25.263	6.2	19.206	5.103	0.3081	0.343	0.3882			
EPA+DHA	5.931 ^{aA}	3.465 ^{bA}	2.246 ^{bA}	0.528	2.737 ^{ab}	3.600 ^{aA}	2.169 ^{aA}	0.29	0.0082	0.0451	0.0143			

Abreviaturas: FS, farelo de soja; TG, tenébrio gigante (*Zophobas morio*); PG, programação nutricional; SAFA, ácidos graxos saturados; MUFA, ácidos graxos monoinsaturados; PUFA, ácidos graxos poliinsaturados; HUFA, ácidos graxos altamente insaturados; DHA. 22:6n3; EPA.20:5n3; n3, ácidos graxos poliinsaturados n3 totais; n6, ácidos graxos poliinsaturados n6 totais; SAFA= C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0. MUFA = C16:1 + C18:1n-9 + C18:1n-7 + C20:1n-9. PUFA = C18:3n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3 + C18:2n-6 + C20:4n-6. n-3 = C18:3n-3 + C20:5n-3 + C22:5n-3 + C22:6n-3. n-6 = C18:2n-6 + C20:4n-6; HUFA= C20:5n3 + C22:6n3; AI, índice de aterogenicidade; TI, índice de trombogenicidade; h-h, razão hipocolesterolêmica/hipercolesterolêmica.

Os dados são relatados como média; Erro padrão SEM da média (n = 8). Médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas (p < 0,05) entre os níveis de SW na dieta; médias na mesma linha com letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas (p < 0,05) entre a programação nutricional na dieta baseada no teste Tukey-Kramer HSD. nd: não detectado.

Peixes de água doce são capazes de alongar e dessaturar ácidos graxos de 18 carbonos, particularmente ácido linoleico [LA (18:2n-6)] e ácido linolênico [LNA (18:3n-3)], em seus respectivos ácidos graxos de 20 carbonos, ácido araquidônico (ARA), ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) (TOCHER, 2010). Apesar de os precursores de 18 carbonos terem diminuído com a inclusão da farinha de TG, os ácidos graxos essenciais (EPA, DHA e ARA) não diferiram entre as dietas. Provavelmente, os ag's de 18C foram metabolizados para atender às exigências fisiológicas.

Apesar de a farinha de insetos conterem baixa concentração em ácidos graxos n-3 e alta em n-6, seu uso não afetou os níveis de n-3 no filé, não sendo verdadeiro para o n-6, sendo observada sua diminuição com o uso da farinha de inseto. Este resultado é devido ao farelo de soja apresentar uma porcentagem maior deste ácido graxo.

No fígado também foi observado uma maior quantidade de SAFA e MUFA depositado no grupo alimentado com 300 g/Kg de TG e menor pela dieta 0. Dentro do SAFA o ácido láurico (C12:0) e o ácido palmítico tiveram um aumento em sua porcentagem no grupo de 300 g/Kg de TG seguida pelo 150g/Kg. E no MUFA somente o ácido oléico e o elaídico (C18:1n9t) tiveram diferenças significativas. Já o PUFA houve uma diminuição com a dieta 300 g/Kg seguido pela dieta 150 g/Kg. O ácido linolênico, gama linolênico (C18:3n6), alfa linolênico, araquidônico (ARA) e docosaenoico (DHA) apresentaram diferença. Os níveis de ARA e DHA não foram afetados pela programação, exceto para os peixes que consumiram dieta controle, onde uma redução no grupo PG- 250g/Kg.

Já os altamente insaturados (UFA) observamos uma interação entre dieta e programação, sendo o grupo alimentado com a controle positivo maior que o controle PG-250g/Kg. Efeitos significativos quanto a porcentagem de farinha de insetos, somente foi observada no grupo da programação FS, havendo uma diminuição com a inclusão de TG. O somatório da série n-3 foi maior em peixes alimentados pela dieta controle positiva do que a dieta controle PG-250g/Kg. A inclusão da farinha ocasionou uma diminuição de n-3, assim como de n6. Suas relações também se mostraram

significativas. A relação n3/n6 foi maior na dieta controle positiva e menor na controle PG -250g/Kg, porquanto o inverso ocorreu com n6/n3.

Os índices de qualidade nutricional (NQI), índice de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) mostraram diferenças significativas entre os tratamentos com o aumento de TG (TABELA 4 e 5). No filé o IA e o IT foi maior no grupo 300g/Kg e menor no grupo 0 g/Kg, enquanto a relação h/h foi ao contrário. No fígado os índices e a relação h/h seguiram o mesmo padrão com o uso de TG. O EPA+DHA não foram afetados programação, exceto nos peixes alimentados pela dieta controle, que apresentaram maior no grupo controle positivo.

Segundo GASCO et al., (2019) peixes alimentados com altos níveis de farinha de tenébrio molitor apresentaram aumento nos teores de n-6, em detrimento dos teores de n-3, com conseqüente redução da relação $\Sigma n-3/\Sigma n-6$ e piora dos índices de aterogenicidade (AI) e trombogenicidade (TI). Os índices AI, TI e a relação Hipocolesterolêmicos / Hipercolesterolêmicos (h-h) podem indicar o impacto dos lipídios, fornecendo uma melhor avaliação da qualidade nutricional dos alimentos do que apenas a soma de SAFA, MUFA, PUFA. Os AI e TI, avaliam os possíveis benefícios dos perfis de ácidos graxos nas doenças coronarianas (RENNA et al., 2017). O TI relaciona o teor de ácidos graxos saturados 14:0 16:0 e 18:0 (protrombóticos) com o teor de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados n-3 e n-6 (antitrombóticos), indicando a contribuição na formação de agregação plaquetária (SENSO et al., 2007). O AI sugere uma relação entre ácidos graxos saturados (pró-aterogênicos), favorecendo a fixação dos lipídios às células endoteliais do sistema circulatório, e ácidos graxos insaturados (antiaterogênicos), que reduzem os níveis de colesterol. Não há valores recomendados para AI e TI. Considera-se que valores baixos estão relacionados a ácidos graxos mais favoráveis, em termos de saúde.

Portanto, valores baixos representam benéficos para a saúde humana, uma vez que ajudam a prevenir a ocorrência de doenças coronárias (TURAN, SONMEZ & KAYA 2007; RENNA et al., 2017). ORKUSZ, A., (2021) em seu trabalho calculou os índices de AI e TI e a relação h-h para uma variedade de insetos, para o TG os valores encontrados foram 0,57; 0,99 e 1,95 respectivamente. Em nossa pesquisa os valores

foram de 1,05; 1,07 e 2,22 para TG, acima do apresentado pelo ORKUSZ, A., (2021). Através de valores de ácidos graxos copilados de SANCHEZ MUROS et al., (2015) calculamos os índices e relação, encontrando para a soja sendo 0,21; 0,30 e 4,63 respectivamente. Portanto, a farinha de TG apresenta maior valor dos índices podendo refletir no filé maléfica dependendo da percentagem utilizada dentro da formulação. Nossas dietas apresentaram um aumento de AI e TI. Esse padrão se manteve no filé como no fígado nesta pesquisa. FABRIKOV et al., (2020) em peixe dourada, truta arco iris e tenca e IACONISI et al., (2017) em dourada, incluíram diferentes percentagens de *tenébrio mollitor* na dieta e observaram um aumento do AI e TI.

Quanto à relação h-h, com o uso de TG observamos uma diminuição dessa relação no filé. O aumento ou a diminuição do h-h está ligada ao tipo de ácidos graxos presentes na dieta, no entanto, LI et al., (2016) menciona que o quitosano derivado da quitina tem efeito hipocolesterolêmicos e hipolipidêmicos em animais e humanos, ocasionando uma diminuição desse parâmetro. Portanto, é de se esperar que o consumo da quitina possa inferir no h-h. Apesar de não diferir com a inclusão do tenébrio, o índice h-h foi menor que na dieta controle, o que indica o efeito hipolipidêmico/hipocolesterolêmico da quitina.

5.3 Histologia do fígado

Alterações histológicas no fígado foram encontradas com a alta inclusão de farinha de insetos, devido à alta percentagem de quitina (ELIA et al., 2018; KUMAR et al. 2021), e de ácidos graxos saturados que podem afetar o acúmulo de lipídios no fígado (LI et al., 2017; VARGAS-ABÚNDEZ et al., 2019). No entanto, em nosso trabalho em todos os parâmetros analisados somente a vacuolização foi significativa (TABELA 6), ocorrendo uma diminuição com a inclusão de 30% de farinha de TG. Corroborando com Li et al., (2017), onde foi observado que a inclusão de black soldier fly diminui o acúmulo de hepatócitos lipídicos em juvenis de carpa Jian, uma vez que a quitina pode diminuir o lipídeo circulante.

Tabela 6 - Avaliação histomorfológica semiquantitativa e valores de inclusão de lipídios em fígado de tilápia do Nilo alimentados com três dietas (0, 150 e 300 g/Kg de TG), após a programação nutricional.

PG	FS				POOLED SEM	TG			POOLED SEM	TWO WAY ANOVA				
	0	150	300			0	150	300		DIETA	PG	INTERAÇÃO	0	150
Vacuolização	3	1.875	2	0.201	3.125	2.75	1.875	0.215	2.271	0.0833	2.021	a	ab	b
Hepatócitos	2.5	2.5	2.25	0.347	1.75	1.75	1.875	0.243	3.521	0.0833	0.146			
Sinusoide	1.625	1.875	1.875	0.183	2	1.625	1.75	0.147	0.0208	0.0033	0.438			
Congestão	1.625	1.75	1.75	0.151	1.875	1.75	1.75	0.147	0.0833	0.333	0.0833			
Necrose	1.25	1.625	1.375	0.287	1.375	1.125	0.875	0.141	0.813	2.083	1.021			
Inclusão de lipídeos%	18.546	18.274	21.012	1.003	17.132	16.715	18.733	0.763	44.507	63.572	1.425			

Abreviaturas: FS, farelo de soja; TG, tenébrio gigante (*Zophobas morio*); PG, programação nutricional. Os dados são relatados como média; SEM, erro padrão da média (n = 12). Letras diferentes indicam diferenças significativas (P < 0,05)

No entanto, a literatura se mostra controversa. CAIMI et al., (2020) com diferentes percentagens de black soldier fly em juvenis de esturjão siberiano não encontraram efeito significativo sobre esse parâmetro, assim como MELENCHÓN et al., (2022) trabalhando com *tenébrio mollitor* e black soldier fly em truta arco íris. Os autores GUPTA et al., (2020) em dieta com substituição total de farinha de peixe por black soldier fly em alevinos de *Lates calcarifer* observaram um aumento da vacuolização. LEE et al., (2017) utilizando grilo doméstico em tilápia híbrida vermelha observaram anormalidades hepáticas dos peixes como vacuolização citoplasmática, danos nos núcleos, degeneração gordurosa e inflamação nas células do fígado.

Apesar de BRUNI et al., (2020) relatar maior acúmulo de lipídeos no fígado com 50% de black soldier fly em truta arco íris, em nosso trabalho não houve acúmulo de lipídeos no fígado com a inclusão de TG e nem com a programação nutricional. Assim como os achados de BELGHIT et al., (2019) RANDAZZO et al., (2021) que utilizaram dietas de black soldier fly em salmão e dourada respectivamente. Demonstrando que o uso de TG não causou danos no tecido hepático.

5.4 Estresse oxidativo

Os resultados das enzimas CAT e SOD no intestino médio não foram significativas com a substituição da farinha de soja pela de TG, bem como o a peroxidação lipídica (TBARS) no intestino médio e no filé (TABELA 7). Corroborando com os achados de AMER et al., (2021) em tilápia alimentadas com diferentes percentagens de lagarta de algodão. Contudo a literatura menciona que a quitina presente na farinha de insetos e seus derivados têm propriedades antioxidantes que exercem efeitos positivos na saúde e bem-estar dos animais de criação (MAKKAR et al., 2014; RUMPOLD E SCHLÜTER 2013).

A inclusão de *tenébrio mollitor* aumentou o nível sérico de SOD e malondialdeído (MDA) (SU et al., 2017), enquanto LI et al., (2017) observaram que a inclusão de farinha de black soldier fly desengordurada em dietas de carpas Jian (*Cyprinus carpio* var. Jian) não teve efeito sobre a SOD, mas aumentou a catalase sérica (CAT). Estresse oxidativo do intestino médio e TBARS em filé de tilápia do Nilo

alimentados com três dietas (0, 150 e 300 g/Kg de TG), após a programação nutricional.

Tabela 7 - Estresse oxidativo do intestino médio e TBARS em filé de tilápia do Nilo alimentados com três dietas (0, 150 e 300 g/Kg de TG), após a programação nutricional.

PG	FS				TG				TWO WAY ANOVA			
	DIETA	0	150	300	POOLED SEM	0	150	300	POOLED SEM	DIETA	PG	INTERAÇÃO
SOD		0.546	0.609	0.452	0.045	0.558	0.526	0.672	0.047	0.9792	0.4613	0.1693
CAT		23.762	29.444	16.647	2.751	30.296	23.402	21.764	2.008	0.1131	0.5752	0.2483
TBARS		0.013	0.01	0.009	0.002	0.042	0.007	0.009	0.008	0.0593	0.2286	0.2344
TBARS ¹		29.439	26.881	24.866	3.229	27.953	19.536	23.868	2.077	0.7362	0.5928	0.6555

Abreviaturas: FS, farelo de soja; TG, tenébrio gigante (*Zophobas morio*); PG, programação nutricional ; TBARS, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; SOD, superóxido dismutase (Uso_d/mg), CAT , Catalase (micromol/mg proteína), TBARS (nanomol/mg proteína). TBARS1 em filé. Os dados são relatados como média; SEM, erro padrão da média (n = 12).

BRUNI et al., (2020); SECCI et al., (2019) e WANG et al., (2019) observaram uma diminuição de peroxidação lipídica no músculo com o aumento da inclusão de black soldier fly em truta arco-iris e robalo japonês. HIDALGO et al. (2022) em Tinca tinca alimentada com diferentes farinhas de insetos (black soldier fly e *Tenébrio mollitor*), observaram que ambas as farinhas de insetos promoveram alta capacidade antioxidante no intestino com diminuição da peroxidação em relação à dieta controle. No entanto, no presente estudo nenhuma diferença significativa na peroxidação lipídica no filé e no intestino médio foram observadas.

6. CONCLUSÃO

Em conclusão, a programação nutricional e as dietas foram capazes de interferir no perfil lipídico e vacuolização do fígado e nos parâmetros plasmáticos. Os resultados de perfil lipídico encontrado nesse trabalho, indicam a necessidade da modulação do perfil lipídico do inseto ou mesmo a utilização da farinha desengordurada nas dietas. No entanto, essa alteração não foi capaz de trazer prejuízo para o animal uma vez que a inclusão de 30% TG levou a diminuição da vacuolização no fígado. E evidenciamos a importância da programação nutricional para a utilização da quitina, demonstrando a possibilidade da inclusão de farinha de insetos.

7. REFERÊNCIAS

AGBOHESSOU, P.S. et al. Efficiency of fatty acid-enriched dipteran-based meal on husbandry, digestive activity and immunological responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles. **Aquaculture**, v. 545, p. 737193, 2021a.

ALAMI-DURANTE, H. et al. Early decrease in dietary protein: energy ratio by fat addition and ontogenetic changes in muscle growth mechanisms of rainbow trout: short- and long-term effects. **British journal of nutrition**, v. 112, n. 5, p. 674-687, 2014.

ALVES, A.P.C. et al. Nile tilapia fed insect meal: growth and innate immune response in different times under lipopolysaccharide challenge. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 2, p. 529-540, 2021.

AMER, A. A. et al. 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. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 11, p. 5585-5594, 2021.

ARAÚJO, F. G. et al. Dietary oils influence ovary and carcass composition and embryonic development of zebrafish. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 4, p. 651-661, 2017.

BALON, Eugene K. Alternative ways to become a juvenile or a definitive phenotype (and on some persisting linguistic offenses). **Environmental Biology of Fishes**, v. 56, n. 1, p. 17-38, 1999.

BANJO, A. D.; LAWAL, O. A.; SONGONUGA, E. A. The nutritional value of fourteen species of edible insects in southwestern Nigeria. **African journal of Biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 298-301, 2006.

BARROSO, F.G. et al. The potential of various insect species for use as food for fish. **Aquaculture**, v. 422, p. 193-201, 2014.

BARROWS, F. T. et al. Report of the plant products in aquafeed strategic planning workshop: an integrated, interdisciplinary research roadmap for increasing utilization of plant feedstuffs in diets for carnivorous fish. **Reviews in Fisheries Science**, v. 16, n. 4, p. 449-455, 2008.

BASTO, Ana; MATOS, Elisabete; VALENTE, Luisa MP. Nutritional value of different insect larvae meals as protein sources for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture**, v. 521, p. 735085, 2020.

BAYISSA, Tokuma Negisho et al. Nutrient-related metabolite profiles explain differences in body composition and size in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from different lakes. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2021.

BECKER, P.M.; YU, P. What makes protein indigestible from tissue-related, cellular, and molecular aspects?. **Molecular nutrition & food research**, v. 57, n. 10, p. 1695-1707, 2013.

BELFORTI, M., GAI, F., LUSSIANA, C., RENNA, M., MALFATTO, V., ROTOLO, L., DE MARCO, M., DABBOU, S., SCHIAVONE, A., ZOCCARATO, I., GASCO, L. Tenébrio molitor meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets. **Italian Journal of Animal Science**, v. 14, n. 4, p. 4170, 2015.

BELGHIT, I. et al. Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea-water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 503, p. 609-619, 2019.

BELGHIT, I. et al. Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 491, p. 72-81, 2018.

BELLUCO, S. et al. Edible insects in a food safety and nutritional perspective: a critical review. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 12, n. 3, p. 296-313, 2013.

BENEDITO FILHO, P. D. et al. Presence of chitinase and beta-N-acetylglucosaminidase in the *Aedes aegypti*: a chitinolytic system involving peritrophic matrix formation and degradation. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 32, n. 12, p. 1723-1729, 2002.

BIRKBECK, T. H.; RINGØ, E. Pathogenesis and the gastrointestinal tract of growing fish. **Biology of growing animals**, v. 2, p. 208-234, 2005.

BRUNI, L. et al. Characterisation of the intestinal microbial communities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with *Hermetia illucens* (*black soldier fly*) partially defatted larva meal as partial dietary protein source. **Aquaculture**, v. 487, p. 56-63, 2018.

BRUNI, L. et al. Dietary inclusion of full-fat *Hermetia illucens* prepupae meal in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Lipid metabolism and fillet quality investigations. **Aquaculture**, v. 529, p. 735678, 2020.

BUKKENS, S. GF. The nutritional value of edible insects. **Ecology of Food and Nutrition**, v. 36, n. 2-4, p. 287-319, 1997.

CAIMI, Christian et al. Could dietary black soldier fly meal inclusion affect the liver and intestinal histological traits and the oxidative stress biomarkers of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) juveniles?. **Animals**, v. 10, n. 1, p. 155, 2020.

CHAUTON, M.S. et al. Perfil metabólico de ¹H NMR de larvas de bacalhau (*Gadus morhua*): efeitos potenciais da temperatura e composição da dieta durante os estágios iniciais de desenvolvimento. **Biologia aberta**, v. 4, n. 12, pág. 1671-1678, 2015.

CHENG, Z. et al. N-acetylglucosamine enhances survival ability of tilapias infected by *Streptococcus iniae*. **Fish & shellfish immunology**, v. 40, n. 2, p. 524-530, 2014.

COHEN-KUPIEC, R., CHET, I. 1998. The molecular biology of chitin digestion **Curr. Opin. Biotechnol**, 9, 270-277.

COLLINS, S.A. *Antinutritional Factors in Modeling Plant-Based Rainbow Trout*, 2014. 215 p. Tese de doutorado Department of Animal and Poultry Science, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada 2014

DEFOLIART, G.R. Insects as human food: Gene DeFoliart discusses some nutritional and economic aspects. **Crop protection**, v. 11, n. 5, p. 395-399, 1992.

DETMANN, E. et al. Métodos para análise de alimentos-INCT-Ciência Animal Suprema. **Visconde do Rio Branco**, 2012.

DIERICK, N. A. et al. The combined use of triacylglycerols (TAGs) containing medium chain fatty acids (MCFAs) and exogenous lipolytic enzymes as an alternative to nutritional antibiotics in piglet nutrition: II. In vivo release of MCFAs in gastric cannulated and slaughtered piglets by endogenous and exogenous lipases; effects on the luminal gut flora and growth performance. **Livestock Production Science**, v. 76, n. 1-2, p. 1-16, 2002.

DOĞANKAYA, L. Effects of fish meal substitution with super worm (*Zophobas morio*) meal on growth performance of rainbow trout fingerlings. **Aquatic Sciences and Engineering**, v. 32, n. 1, p. 1-7, 2017.

DRAGOJLOVIĆ, D. et al. Comparison of Nutritional Profiles of Super Worm (*Zophobas morio*) and Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) as Alternative Feeds Used in Animal Husbandry: Is Super Worm Superior?. **Animals**, v. 12, n. 10, p. 1277, 2022.

DREASSI, E., CITO, A., ZANFINI, A., MATEROZZI, L., BOTTA, M. and FRANCARDI, V., 2017. Dietary fatty acids influence the growth and fatty acid composition of the yellow mealworm *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Lipids** 52: 285-294.

DRIEMEYER, H. Evaluation of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae as an alternative protein source in pig creep diets in relation to production, blood and manure microbiology parameters. 2016. Tese de Doutorado. Stellenbosch: Stellenbosch University.

EKPO, K. E.; ONIGBINDE, A. O. Characterization of lipids in winged reproductives of the termite *Macrotermis bellicosus*. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 6, n. 3, p. 247-251, 2007.

EL-ASHRAM, A.; AFIFI, A.; SAKR, S.F. Effect of basil oil (*Ocimum basilicum*) on nonspecific immune response of Nile-tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Egyptian Journal for Aquaculture**, v. 7, n. 2, p. 15-31, 2017.

ELIA, A.C. et al. Influence of *Hermetia illucens* meal dietary inclusion on the histological traits, gut mucin composition and the oxidative stress biomarkers in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 496, p. 50-57, 2018.

ERWIN, T.L. The biodiversity question: How many species of terrestrial arthropods are there. **Forest Canopies**, v. 10, p. 259-269, 2004.

ESTEBAN, M. A. et al. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. **Fish & shellfish immunology**, v. 11, n. 4, p. 303-315, 2001.

EU Regulation 893/2017 of 24 May 2017 amending Annexes I and IV to Regulation (EC) No 999/2001 of the European Parliament and of the Council and Annexes X, XIV and XV to Commission Regulation (EU) No 142/2011 as regards the provisions on processed animal protein.

FABRIKOV, D. et al. Comparative study of growth performance and amino acid catabolism in *Oncorhynchus mykiss*, *Tinca tinca* and *Sparus aurata* and the catabolic changes in response to insect meal inclusion in the diet. **Aquaculture**, v. 529, p. 735731, 2020.

FANG, L. et al. Programming effects of high-carbohydrate feeding of larvae on adult glucose metabolism in zebrafish, *Danio rerio*. **British journal of nutrition**, v. 111, n. 5, p. 808-818, 2014.

FANG, L.; GUO, X.; LIANG, X.F. First feeding of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) with a high-carbohydrate diet: the effect on glucose metabolism in juveniles. **Aquaculture Reports**, v. 21, p. 100830, 2021.

FAO. 2020. State of the world fisheries and aquaculture: Sustainability in action. Rome: FAO.

FAST, P.G., 1970. Insect lipids. *Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids* 11,181–242.

FAWOLE, Femi J. et al. Substituting fishmeal with *Hermetia illucens* in the diets of African catfish (*Clarias gariepinus*): Effects on growth, nutrient utilization, haemato-physiological response, and oxidative stress biomarker. **Aquaculture**, v. 518, p. 734849, 2020.

FINKE, M. D. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. **Zoo biology: published in affiliation with the American zoo and aquarium association**, v. 21, n. 3, p. 269-285, 2002.

FINKE, M. D.; DEFOLIART, G.R.; BENEVENGA, N.J. Use of a four-parameter logistic model to evaluate the quality of the protein from three insect species when fed to rats. **The Journal of nutrition**, v. 119, n. 6, p. 864-871, 1989.

FINKE, M.D. and OONINCX, D.G.A.B., 2017. Nutrient content of insects. In: Van Huis, A. and Tomberlin, J.K. (eds) *Insects as food and feed: from production to consumption*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands, pp. 290-317

FINKE, M.D. Estimate of chitin in raw whole insects. **Zoo Biology: Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association**, v. 26, n. 2, p. 105-115, 2007.

FOLCH, J. et al. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J biol Chem**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

FONTES, T. V., DE OLIVEIRA, K. R. B., GOMES ALMEIDA, I. L., MARIA ORLANDO, T., RODRIGUES, P. B., & COSTA, D. V. D. Digestibility of insect meals for Nile tilapia fingerlings. **Animals**, v. 9, n. 4, p. 181, 2019.

FRACALOSSO, D., CYRINO, J., *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de **Aquicultura e Biologia Aquática** p.375, 2013.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H.P.S; BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. **Aquaculture**, v. 199, n. 3-4, p. 197-227, 2001.

GASCO, L. et al. *Tenébrio molitor* meal in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles: growth performance, whole body composition and in vivo apparent digestibility. **Animal Feed Science and Technology**, v. 220, p. 34-45, 2016.

GASCO, L.; FINKE, M.; VAN HUIS, A. Can diets containing insects promote animal health?. **Journal of Insects as Food and Feed**, v. 4, n. 1, p. 1-4, 2018.

GASCO, L. et al. Animals fed insect-based diets: State-of-the-art on digestibility, performance and product quality. **Animals**, v. 9, n. 4, p. 170, 2019.

GEURDEN, I. et al. Early feeding of carnivorous rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with a hyperglucidic diet during a short period: effect on dietary glucose utilization in juveniles. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, n. 6, p. R2275-R2283, 2007.

GEURDEN, Inge et al. The positive impact of the early-feeding of a plant-based diet on its future acceptance and utilisation in rainbow trout. *PLoS One*, v. 8, n. 12, p. e83162, 2013.

GHANBARI, M.; KNEIFEL, W.; DOMIG, K.J. A new view of the fish gut microbiome: advances from next-generation sequencing. **Aquaculture**, v. 448, p. 464-475, 2015.

GÓES-NETO, A. et al. Comparative protein analysis of the chitin metabolic pathway in extant organisms: A complex network approach. **Biosystems**, v. 101, n. 1, p. 59-66, 2010.

GUPTA, S. K. et al. Impact of varied combinatorial mixture of non-fishmeal ingredients on growth, metabolism, immunity and gut microbiota of *Lates calcarifer* (Bloch, 1790) fry. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2020.

HAMED, I.; ÖZOGUL, F.; REGENSTEIN, J.M.. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends in food science & technology**, v. 48, p. 40-50, 2016.

HARIKRISHNAN, R. et al. Dietary supplementation with chitin and chitosan on haematology and innate immune response in *Epinephelus bruneus* against *Philasterides dicentrarchi*. **Experimental parasitology**, v. 131, n. 1, p. 116-124, 2012.

HENRY, M. A. et al. Does dietary insect meal affect the fish immune system? The case of mealworm, *Tenebrio molitor* on European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 81, p. 204-209, 2018.

HENRY, M. et al. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: past and future. **Animal Feed Science and Technology**, v. 203, p. 1-22, 2015.

HIDALGO, M. Carmen et al. Oxidative metabolism of gut and innate immune status in skin and blood of tench (*Tinca tinca*) fed with different insect meals (*Hermetia illucens* and *Tenebrio molitor*). **Aquaculture**, p. 738384, 2022.

HORSCH, M., MAYER, C., SENNHAUSER, U., RAST, D. M. β -N-acetylhexosaminidase: a target for the design of antifungal agents. **Pharmacology & therapeutics**, v. 76, n. 1-3, p. 187-218, 1997.

HOSSAIN, S. M.; BLAIR, R. Chitin utilisation by broilers and its effect on body composition and blood metabolites. **British poultry science**, v. 48, n. 1, p. 33-38, 2007.

HOU, Z.; FUIMAN, L.A. Nutritional programming in fishes: insights from mammalian studies. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 30, n. 1, p. 67-92, 2020.

HOWE, E.R. et al. Macroinvertebrate prey availability and fish diet selectivity in relation to environmental variables in natural and restoring north San Francisco bay tidal marsh channels. **San Francisco Estuary and Watershed Science**, v. 12, n. 1, 2014.

HUYBEN, D. et al. High-throughput sequencing of gut microbiota in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed larval and pre-pupae stages of black soldier fly (*Hermetia illucens*). **Aquaculture**, v. 500, p. 485-491, 2019.

IACONISI, V. et al. Dietary inclusion of *Tenebrio molitor* larvae meal: Effects on growth performance and final quality traits of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*). **Aquaculture**, v. 476, p. 49-58, 2017.

IJAIYA, A. T. et al. Effect of replacing dietary fish meal with silkworm (*Anaphe infracta*) caterpillar meal on performance, carcass characteristics and haematological parameters of finishing broiler chicken. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 8, n. 6, p. 850-855, 2009.

IMSLAND, A.K. et al. Short-and long-term differences in growth, feed conversion efficiency and deformities in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) started on rotifers or zooplankton. **Aquaculture Research**, v. 37, n. 10, p. 1015-1027, 2006.

JABIR, M. D.; RAZAK, S. A.; VIKINESWARY, S. Chemical Composition and Nutrient Digestibility of Super Worm Meal in Red Tilapia Juvenile. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 32, n. 4, 2012a

JABIR, MD Abd Rahman; JABIR, SA Abd Rahman; VIKINESWARY, S. Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 24, p. 6592-6598, 2012b.

JANSSEN, R.H. et al. Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 65, n. 11, p. 2275-2278, 2017.

JEONG, Seong-Mok et al. Mealworm, *Tenebrio molitor*, como ingrediente de ração para juvenis de linguado de oliveira, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture Reports**, v. 20, p. 100747, 2021. See More

JEUNIAUX, C. Chitinolytic systems in the digestive tract of vertebrates: a review. **Chitin Enzymology**, v. 1, p. 233-244, 1993.

Jl, Y. J. et al. Use of insect powder as a source of dietary protein in early-weaned piglets. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. suppl_3, p. 111-116, 2016.

JONES, D.B. **Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of proteins**. US Department of Agriculture, 1931.

JONES, L. D., R. W. COOPER, and R. S. HARDING. 1972. Composition of mealworm *Tenebrio molitor* larvae. **J. Zoo Anim. Med.** 3: 34-41.

KAMILYA, D.; KHAN, M.I.R.. Chitin and chitosan as promising immunostimulant for aquaculture. In: **Handbook of Chitin and Chitosan**. Elsevier, 2020. p. 761-771.

KARLSEN, O. et al. The effect of dietary chitin on growth and nutrient digestibility in farmed Atlantic cod, Atlantic salmon and Atlantic halibut. **Aquaculture research**, v. 48, n. 1, p. 123-133, 2017.

KATAYAMA, N. et al. Entomophagy: A key to space agriculture. **Advances in Space Research**, v. 41, n. 5, p. 701-705, 2008.

KISHAWY, A.TY et al. Partial defatted black soldier larvae meal as a promising strategy to replace fish meal protein in diet for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Performance, expression of protein and fat transporters, and cytokines related genes and economic efficiency. **Aquaculture**, v. 555, p. 738195, 2022.

KHOUSHAB, Feisal; YAMABHAI, Montarop. Chitin research revisited. **Marine drugs**, v. 8, n. 7, p. 1988-2012, 2010.

KOCH, B.EV; STOUGAARD, J.; SPAINK, H.P. Keeping track of the growing number of biological functions of chitin and its interaction partners in biomedical research. **Glycobiology**, v. 25, n. 5, p. 469-482, 2015.

KOEDIJK, R. M. et al. The influence of first-feeding diet on the Atlantic cod *Gadus morhua* phenotype: survival, development and long-term consequences for growth. **Journal of Fish Biology**, v. 77, n. 1, p. 1-19, 2010.

KOIDE, S. S. Chitin-chitosan: properties, benefits and risks. **Nutrition research**, v. 18, n. 6, p. 1091-1101, 1998.

KONO, M.; MATSUI, T.; SHIMIZU, C. Effect of chitin, chitosan, and cellulose as diet supplements on the growth of cultured fish [red sea bream, eel, yellowtail]. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries (Japan)**, 1987.

KÖPRÜCÜ, K.; ÖZDEMİR, Y. Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 250, n. 1-2, p. 308-316, 2005.

KRAMER, K.J.; HOPKINS, T. L.; SCHAEFER, J. Applications of solids NMR to the analysis of insect sclerotized structures. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 25, n. 10, p. 1067-1080, 1995.

KROECKEL, S., HARJES, A.G.E., ROTH, I., KATZ, H., WUERTZ, S., SUSENBETH, A., SCHULZ, C. 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**, v. 364, p. 345-352, 2012.

KROGDAHL, Å.; HEMRE, G.-I.; MOMMSEN, T. P. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. **Aquaculture nutrition**, v. 11, n. 2, p. 103-122, 2005.

KUMAR, V. et al. 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 Immunology**, v. 109, p. 116-124, 2021.

KUMKHONG, Suksan et al. Early feeding with hyperglucidic diet during fry stage exerts long-term positive effects on nutrient metabolism and growth performance in adult tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Nutritional Science**, v. 9, 2020.

LEASE, H.M.; WOLF, B.O. Lipid content of terrestrial arthropods in relation to body size, phylogeny, ontogeny and sex. **Physiological Entomology**, v. 36, n. 1, p. 29-38, 2011.

LEE, C.G. et al. Chitin regulation of immune responses: an old molecule with new roles. **Current opinion in immunology**, v. 20, n. 6, p. 684-689, 2008.

LEE, C.G. et al. Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling, and injury. **Annual review of physiology**, v. 73, p. 479-501, 2011.

LEE, S.W. et al. The effect of house cricket (*Acheta domesticus*) meal on growth performance of red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.). **Int. J. of Aquatic Science**, v. 8, n. 2, p. 78-82, 2017.

LI, Q. P. et al. Effect of different molecular weight of chitosans on performance and lipid metabolism in chicken. **Animal Feed Science and Technology**, v. 211, p. 174-180, 2016.

LI, S. et al. 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**, v. 477, p. 62-70, 2017.

LIEBERMAN, S.; ENIG, M. G.; PREUSS, H.G. A review of monolaurin and lauric acid: natural virucidal and bactericidal agents. **Alternative & Complementary Therapies**, v. 12, n. 6, p. 310-314, 2006.

LIN, S. et al. Dietary administration of chitooligosaccharides to enhance growth, innate immune response and disease resistance of *Trachinotus ovatus*. **Fish & shellfish immunology**, v. 32, n. 5, p. 909-913, 2012.

LINDNER, P. Extraction of fat from small animals. **Zoological Technology and Biology**, v. 7, p. 213, 1919.

LOCK, E. R.; ARSIWALLA, T.; WAAGBØ, R. Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolt. **Aquaculture nutrition**, v. 22, n. 6, p. 1202-1213, 2016.

MAGALHÃES, R. et al. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v. 476, p. 79-85, 2017.

MAKKAR, H.P.S et al. State-of-the-art on use of insects as animal feed. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 1-33, 2014.

MANZANO-AGUGLIARO, F. et al. Insects for biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 6, p. 3744-3753, 2012.

MASTORAKI, M. et al. 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**, v. 528, p. 735511, 2020.

MELENCHÓN, F. et al. Fishmeal Dietary Replacement Up to 50: A Comparative Study of Two Insect Meals for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Animals**, v. 12, n. 2, p. 179, 2022.

MIKOŁAJCZAK, Z. et al. The effect of hydrolyzed insect meals in sea trout fingerling (*Salmo trutta m. trutta*) diets on growth performance, microbiota and biochemical blood parameters. **Animals**, v. 10, n. 6, p. 1031, 2020.

MOLINARI, L.M. et al. Identification and partial characterisation of a chitinase from Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 146, n. 1, p. 81-87, 2007.

MUIN, Hasniyati; TAUFEEK, Norhidayah Mohd. Evaluation of growth performance, feed efficiency and nutrient digestibility of red hybrid tilapia fed dietary inclusion of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). **Aquaculture and Fisheries**, 2022.

NG, W.K.; ROMANO, N. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. **Reviews in aquaculture**, v. 5, n. 4, p. 220-254, 2013.

OHNO, M. et al. Acidic mammalian chitinase is a proteases-resistant glycosidase in mouse digestive system. **Scientific reports**, v. 6, p. 37756, 2016.

OLIVA-TELES, A. Nutrition and health of aquaculture fish. **Journal of fish diseases**, v. 35, n. 2, p. 83-108, 2012.

OLSEN R.E., SUONTAMA J., LANGMYHR, E., MUNDHEIM, H., RINGO, E., MELLE, W., MALDE, M.K., HEMRE, G.-I. The replacement of fish meal with

Antarctic krill, *Euphausia superba* in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture Nutrition**, v. 12, n. 4, p. 280-290, 2006.

OM, A.D. et al. Effect of of Dietary Chitin on Lipolysis Activity and Vitality of Juvenile Black Sea Bream (*Acanthopagrus schlegeli*). **Ite letters on batteries new technologies and medicine**, v. 4, p. C79-C86, 2003.

OONINCX, D.G.A.B and DIERENFELD, E.S., 2012. An investigation into the chemical composition of alternative invertebrate prey. **Zoo Biology** 31: 40-54.

OONINCX, D.G.A.B, LAURENT, S., VEENENBOS, M.E. and VAN LOON, J.J A., 2019. Dietary enrichment of edible insects with omega 3 fatty acids. **Insect Science** 27: 500-509.

OONINCX, D.G.A.B., VAN LEEUWEN, J.P., HENDRIKS, W.H. and VAN DER POEL, A.F.B., 2015. The diet of free-roaming Australian central bearded dragons (*Pogona vitticeps*). **Zoo Biology** 34: 271-27

ORKUSZ, A. Edible insects versus meat—Nutritional comparison: Knowledge of their composition is the key to good health. **Nutrients**, v. 13, n. 4, p. 1207, 2021.

PANSERAT, S. et al. Muscle catabolic capacities and global hepatic epigenome are modified in juvenile rainbow trout fed different vitamin levels at first feeding. **Aquaculture**, v. 468, p. 515-523, 2017.

PATULA, Samuel et al. Nutritional programming with dietary soybean meal and its effect on gut microbiota in zebrafish (*Danio rerio*). **Zebrafish**, v. 18, n. 2, p. 125-138, 2021.

PEIXE, B. R. Anuário brasileiro da piscicultura. **PEIXE BR**, 2020.

PERERA, E.; YÚFERA, M. Soybean meal and soy protein concentrate in early diet elicit different nutritional programming effects on juvenile zebrafish. **Zebrafish**, v. 13, n. 1, p. 61-69, 2016.

PEZZATO, L.E., MIRANDA, E.C.d., BARROS, M.M., PINTO, L.G.Q., FURUYA, W.M., PEZZATO, A.C. **Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).** *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, p. 1595-1604, 2002.

PIAZZON, M.C. et al. Under control: how a dietary additive can restore the gut microbiome and proteomic profile, and improve disease resilience in a marine teleostean fish fed vegetable diets. *Microbiome*, v. 5, n. 1, p. 1-23, 2017.

PICCOLO G., IACONISI V., MARONO S., LOPONTE R., GASCO L., NIZZA S., BOVERA F., PARISI G. Effect of *Tenebrio molitor* larvae meal on growth performance, in vivo nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Animal feed science and technology*, v. 226, p. 12-20, 2017.

PRACHOM, N.et al. Preliminary evaluation of Superworm (*Zophobas morio*) larval meal as a partial protein source in experimental diets for juvenile Asian sea bass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture Nutrition*, v. 27, n. 5, p. 1304-1314, 2021.

PROFETAS. 2008. Background; social transitions; results. Available from: www.profetas.nl.

QIN, C.et al. Effects of chito-oligosaccharides supplementation on growth performance, intestinal cytokine expression, autochthonous gut bacteria and disease resistance in hybrid tilapia *Oreochromis niloticus*♀× *Oreochromis aureus*♂. *Fish & shellfish immunology*, v. 40, n. 1, p. 267-274, 2014.

RAMOS-ELORDUY, J. Energy supplied by edible insects from Mexico and their nutritional and ecological importance. *Ecology of food and nutrition*, v. 47, n. 3, p. 280-297, 2008.

RAMOS-ELORDUY, J. et al. Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. *Journal of economic entomology*, v. 95, n. 1, p. 214-220, 2002.

RANDAZZO, B. et al. Physiological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to graded levels of *Hermetia illucens* or poultry by-product meals as single or combined substitute ingredients to dietary plant proteins. **Aquaculture**, v. 538, p. 736550, 2021.

RENNA, M. et al. 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. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 57, 2017.

RODRIGUES, B.L. et al. Fatty acid profiles of five farmed Brazilian freshwater fish species from different families. **PLoS One**, v. 12, n. 6, p. e0178898, 2017.

ROQUE, Ana et al. Physiological stress responses of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to hydrogen peroxide (H₂O₂) exposure. **Aquaculture**, v. 304, n. 1-4, p. 104-107, 2010.

ROTTA, M.A.. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. **Embrapa Pantanal-Documentos (INFOTECA-E)**, 2003.

RUMPOLD, B.A.; SCHLÜTER, O. Insect-based protein sources and their potential for human consumption: Nutritional composition and processing. **Animal Frontiers**, v. 5, n. 2, p. 20-24, 2015.

RUMPOLD, B.A.; SCHLÜTER, O.K. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. **Molecular nutrition & food research**, v. 57, n. 5, p. 802-823, 2013.

RUST, M.B. 2002 Nutritional Physiology. In: HALVER, J.H. **Fish Nutrition**. San Diego: Academic Press. 367-452.

SAKAI, M. The immunostimulating effects of chitin in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Diseases in Asian aquaculture I**, 1992.

SÁNCHEZ-MUROS, M.J.; BARROSO, F. G.; MANZANO-AGUGLIARO, Francisco. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 65, p. 16-27, 2014.

SANKIAN, Z. et al. Effects of dietary inclusion of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal on growth performance, feed utilization, body composition, plasma biochemical indices, selected immune parameters and antioxidant enzyme activities of mandarin fish (*Siniperca scherzeri*) juveniles. **Aquaculture**, v. 496, p. 79-87, 2018.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, FJLPS. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: II. Fatty acid composition of meat. **Livestock production science**, v. 77, n. 2-3, p. 187-194, 2002.

SCHABEL, H.G. et al. Forest insects as food: a global review. **Forest insects as food: Humans bite back**, p. 37-64, 2010.

SCHULTE, R. El manejo de *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae) en climas tropicales húmedos. **Folia amazónica**, v. 8, n. 2, p. 47-75, 1996.

SEALEY, W.M. et al. Sensory analysis of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed enriched black soldier fly prepupae, *Hermetia illucens*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 42, n. 1, p. 34-45, 2011.

SECCI, G. et al. Can the inclusion of black soldier fly (*Hermetia illucens*) in diet affect the flesh quality/nutritional traits of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after freezing and cooking?. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 70, n. 2, p. 161-171, 2019.

SENSO, L. et al. On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 298-307, 2007.

SHIAU, S.Y.; YU, Y.P.. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. **Aquaculture**, v. 179, n. 1-4, p. 439-446, 1999.

SKŘIVANOVÁ, E. et al. Susceptibility of *Clostridium perfringens* to C2–C18 fatty acids. **Letters in applied microbiology**, v. 41, n. 1, p. 77-81, 2005.

SPRANGHERS, T. et al. Gut antimicrobial effects and nutritional value of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) prepupae for weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 235, p. 33-42, 2018.

ST-HILAIRE, S. et al. Fish offal recycling by the black soldier fly produces a foodstuff high in omega-3 fatty acids. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 38, n. 2, p. 309-313, 2007.

STOYKOV, Y.M.; PAVLOV, A.I.; KRASTANOV, A.I. Chitinase biotechnology: production, purification, and application. **Engineering in Life Sciences**, v. 15, n. 1, p. 30-38, 2015.

SU, J. et al. Effects of dietary *Tenebrio molitor* meal on the growth performance, immune response and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 69, p. 59-66, 2017.

SUZUKI, M. et al. Cellular expression of gut chitinase mRNA in the gastrointestinal tract of mice and chickens. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 50, n. 8, p. 1081-1089, 2002.

TABATA, E. et al. Gastric and intestinal proteases resistance of chicken acidic chitinase nominates chitin-containing organisms for alternative whole edible diets for poultry. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017a.

TABATA, E. et al. Protease resistance of porcine acidic mammalian chitinase under gastrointestinal conditions implies that chitin-containing organisms can be sustainable dietary resources. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017b.

TABATA, E. et al. Chitin digestibility is dependent on feeding behaviors, which determine acidic chitinase mRNA levels in mammalian and poultry stomachs. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2018.

TACON, A.G.J; METIAN, M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. **Aquaculture**, v. 285, n. 1-4, p. 146-158, 2008.

TACON, A.G.J. Feed ingredients for warmwater fish, fish meal and other processed feedstuffs. **FAO Fisheries Circular (FAO). no. 856.**, 1993.

TANAKA, Y. et al. Effects of chitin and chitosan particles on BALB/c mice by oral and parenteral administration. **Biomaterials**, v. 18, n. 8, p. 591-595, 1997.

TAUFEK, N.M. et al. The effect of dietary cricket meal (*Gryllus bimaculatus*) on growth performance, antioxidant enzyme activities, and haematological response of African catfish (*Clarias gariepinus*). **Fish physiology and biochemistry**, v. 42, n. 4, p. 1143-1155, 2016.

THOMPSON, S.N. 1973. A review and comparative characterization of the fatty acid compositions of seven insect orders. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 45: 467-482

TILAMI, S.K. et al. Insect meal as a partial replacement for fish meal in a formulated diet for perch *perca fluviatilis*. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 20, n. 12, p. 867-878, 2020.

TIPPAYADARA, N. et al. 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**, v. 11, n. 1, p. 193, 2021.

TOCHER, D. R. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. **Aquaculture research**, v. 41, n. 5, p. 717-732, 2010.

TRAN, G.; HEUZÉ, V.; MAKKAR, H. P. S. Insects in fish diets. **Animal frontiers**, v. 5, n. 2, p. 37-44, 2015.

TRONSMO, A.; HARMAN, G.E. Detection and quantification of N-acetyl- β -D-glucosaminidase, chitobiosidase, and endochitinase in solutions and on gels. **Analytical biochemistry**, v. 208, n. 1, p. 74-79, 1993.

TSHINYANGU, K.; HENNEBERT, G.L. Protein and chitin nitrogen contents and protein content in *Pleurotus ostreatus* var. *columbinus*. **Food chemistry**, v. 57, n. 2, p. 223-227, 1996.

TSUJI, A.; KINOSHITA, T.; HOSHINO, M.. Analytical chemical studies on amino sugars. II. Determination of hexosamines using 3-Methyl-2-benzothiazolone Hydrazone Hydrochloride. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 17, n. 7, p. 1505-1510, 1969.

TURAN, H. et al. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. **Journal of Fisheries Sciences**, v. 1, n. 2, p. 97-103, 2007.

ULBRICHT, T. L. V.; SOUTHGATE, D. A. T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **The lancet**, v. 338, n. 8773, p. 985-992, 1991.

USHAKOVA, N. A. et al. The use of a protein-chitin concentrate of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae in the diet of omnivorous fishes using red Tilapia as an example. **Izv. Ufim. Nauchno-Techn. Tsentra Ross. Akad. Nauk**, n. 3, p. 57-62, 2018.

VAGNER, M. et al. Is it possible to influence European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juvenile metabolism by a nutritional conditioning during larval stage?. **Aquaculture**, v. 267, n. 1-4, p. 165-174, 2007.

VAN HUIS, A. Potential of insects as food and feed in assuring food security. **Annual review of entomology**, v. 58, p. 563-583, 2013.

VARGAS-ABÚNDEZ, A.J. et al. Insect meal based diets for clownfish: Biometric, histological, spectroscopic, biochemical and molecular implications. **Aquaculture**, v. 498, p. 1-11, 2019.

VELDKAMP, T. et al. Bioactive properties of insect products for monogastric animals—a review. **Journal of Insects as Food and Feed**, v. 8, n. 9, p. 1027-1040, 2022.

VO, T.A. et al. Skeletal muscle growth dynamics and the influence of first-feeding diet in Atlantic cod larvae (*Gadus morhua* L.). **Biology open**, v. 5, n. 11, p. 1575-1584, 2016.

WANG, G. et al. Evaluation of defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as an alternative protein ingredient for juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) diets. **Aquaculture**, v. 507, p. 144-154, 2019.

WHITLEY, S.N.; BOLLENS, S.M. Fish assemblages across a vegetation gradient in a restoring tidal freshwater wetland: diets and potential for resource competition. **Environmental biology of fishes**, v. 97, n. 6, p. 659-674, 2014.

YIXIANG, M. et al. The influence of maggot meal and l-carnitine on growth, immunity, antioxidant indices and disease resistance of black carp (*Mylopharyngodon piceus*). **Journal of the Chinese Cereals and Oils Association**, v. 2, p. 1-9, 2013.

YILDIRIM-AKSOY, Mediha; ELJACK, Rashida; BECK, Benjamin H. Nutritional value of frass from black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, in a channel catfish, *Ictalurus punctatus*, diet. **Aquaculture nutrition**, v. 26, n. 3, p. 812-819, 2020.

ZAKI, M. A. et al. Effect of chitosan supplemented diet on survival, growth, feed utilization, body composition & histology of Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **World Journal of Engineering and Technology**, v. 3, n. 04, p. 38, 2015.

ZHANG, Y. et al. High-yield production of a chitinase from *Aeromonas veronii* B565 as a potential feed supplement for warm-water aquaculture. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, n. 4, p. 1651-1662, 2014.

ZHANG, Y. et al. Stimulatory effects of chitinase on growth and immune defense of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). **Fish & shellfish immunology**, v. 32, n. 5, p. 844-854, 2012.

