



MARCELLA VENERANDO PEREIRA

**FARINHA DE BLACK SOLDIER FLY (*Hermetia
illucens*) EM DIETAS PARA LARVAS DE TILÁPIA**

LAVRAS - MG

2023

MARCELLA VENERANDO PEREIRA

**FARINHA DE BLACK SOLDIER FLY (*Hermetia illucens*)
EM DIETAS PARA LARVAS DE TILÁPIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Nutrição de peixes, para a obtenção do título de Mestre.

Prof^ª. Dr^ª. Priscila Vieira
Orientadora

Dr. Renan Rosa
Coorientador

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).

Pereira, Marcella Venerando.

Farinha de black soldier fly (*hermetia illucens*) em dieta para
larvas de tilápia / Marcella Venerando Pereira. - 2023.

37 p.

Orientador(a): Priscila Viera Rosa.

Coorientador(a): Renan Rosa Paulino.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. alimento alternativo. 2. larvas. 3. sustentabilidade. I. Rosa,
Priscila Viera. II. Paulino, Renan Rosa. III. Título.

MARCELLA VENERANDO PEREIRA

**FARINHA DE BLACK SOLDIER FLY (*Hermetia illucens*)
EM DIETAS PARA LARVAS DE TILÁPIA
BLACK SOLDIER FLY (*Hermetia illucens*) MEAL IN
DIETS FOR TILAPIA LARVAE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Nutrição de peixes, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 19 de Abril de 2023

Dr. Prof^a. Priscila Vieira Rosa UFLA
Dr. Prof. Leandro Santos Costa UFV
Dr. Prof. Luis David Solis Murgas UFLA
Dr. Renan Rosa Paulino UFLA

Prof^a. Dr^a. Priscila Vieira
Orientadora

Dr. Renan Rosa
Coorientador

LAVRAS – MG

2023

AGRADECIMENTO

Primeiramente quero agradecer a Deus, pois sem ele nada seria possível. Por não me deixar desanimar nos momentos de dificuldade e sempre me dar forças para seguir em frente buscando meus objetivos.

Agradeço aos meus pais Josiane Cristine e Marcos Venerando, as minhas irmãs Anne e Júlia, minhas avós Custodia e Mary, por serem essenciais na minha formação, por acreditarem em mim e me acompanharem durante esta trajetória, por todo carinho, apoio e cuidado que sempre tiveram comigo.

Aos meus amigos que se fazem presentes em todos os momentos da minha vida, me incentivando e dando uma palavra de apoio. Em especial quero agradecer aqueles que são como irmãos, Herbet Júnior, Lucas Curto, Mariana Carvalho, Mário Fraiz, Tatiane Borges, Gabriel Canestri, Mayara Reis e toda sua família por serem uma segunda família pra mim.

Agradeço aos professores do departamento de Zootecnia, em especial minha orientadora Dra. Priscila Vieira que durante todos estes anos compartilharam de seus conhecimentos, contribuindo de forma direta para meu desenvolvimento profissional.

Ao núcleo de estudos em aquicultura NAQUA por me acolherem tão bem, por todo ensinamento adquirido. Em especial quero agradecer ao meu coorientador Dr. Renan Rosa e Diana Oliveira e Stefania Souza, pelo carinho e pela paciência em me ensinar, vocês foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), por ter me concedido um estudo de excelente qualidade e também por todas as oportunidades oferecidas. Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFLA, todos os professores pelos ensinamentos.

Este agradecimento se estende a todos que direta ou indiretamente contribuíram e foram essenciais para a realização desta conquista.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

Muito obrigado a todos!

RESUMO

A farinha de inseto consiste em uma importante fonte alternativa de proteína na aquicultura, devido ao seu valor nutricional, além de apresentar uma produção ecologicamente sustentável. O presente estudo objetiva avaliar o efeito da substituição da proteína de farinha de peixe (FM) por proteína de farinha de black soldier fly (BSF) (*Hermetia illucens*) para larvas de tilápia sp. O experimento foi conduzido na Estação de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras. O ensaio foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, com quatro tratamentos: dieta controle (FM) e farinha de BSF 33; 66 e 100% e oito repetições. Para isso, 960 larvas de tilápia foram distribuídas em 32 aquários de vidro com capacidade de 15 L, na densidade de 30 peixes/aquário, mantidos em sistema fechado de recirculação de água. Os animais foram alimentados oito vezes ao dia, com intervalo de uma hora entre as alimentações, por um período de 30 dias e a quantidade de ração fornecida foi padronizada semanalmente de acordo com a biomassa. Ao final do experimento, seis animais por aquário foram eutanasiados com imersão em água e gelo. Foram coletadas amostras de peixe inteiro para análise de atividade enzimática e análise histológica. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e as diferenças entre as médias determinadas através da aplicação de teste Tukey, com nível de significância 5% ($P < 0.05$). Os resultados deste trabalho indicaram que houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos. A substituição total de FM por farinha de BSF levou a maior atividade enzimática de fosfatase alcalina (39,26 μmol), amilase (756,11 μmol) e quimiotripsina (472,57 μmol) quando comparado com larvas que consumiram dieta controle (FM) e dieta com níveis de substituição menores (33 e 66%). Quanto à análise histológica, a substituição total de FM por farinha de BSF levou a redução de altura total (163.03 μm), altura da vilosidade (144.50 μm) e altura da lâmina própria (108.20 μm) quando comparado com larvas que consumiram FM e dieta com níveis de substituição mais baixos (33 e 66%). Foi possível concluir que é viável substituição da proteína de farinha de peixe por proteína de black soldier fly (*Hermetia illucens*) para larvas de tilápia, em níveis de até 66% sem causar alterações nas vilosidades intestinais e aumentando a atividade enzimática.

Palavras-chave: alimento alternativo, larvas, sustentabilidade

ABSTRACT

Insect meal consists of an important alternative source of protein in aquaculture, due to its nutritional value, in addition to presenting an ecologically sustainable production. The present study aims to evaluate the effect of replacing fish meal (FM) protein with black soldier fly (BSF) (*Hermetia illucens*) meal protein for tilapia sp. The experiment was carried out at the Fish Farming Station of the Federal University of Lavras. The test was conducted in a randomized block design, with four treatments: control diet (FM) and BSF 33 flour; 66 and 100% and eight repetitions. For this, 960 tilapia larvae were distributed in 32 glass aquariums with a capacity of 15 L, at a density of 30 fish/aquarium, kept in a closed system of water recirculation. The animals were fed eight times a day, with an interval of one hour between meals, for a period of 30 days, and the amount of feed provided was weekly standardized according to biomass. At the end of the experiment, six animals per aquarium were euthanized by immersion in water and ice. Whole fish samples were collected for enzymatic activity analysis and histological analysis. The data obtained were submitted to ANOVA analysis of variance and the differences between the averages determined by applying the Tukey test, with a significance level of 5% ($P < 0.05$). The results of this work indicated that there was a significant difference ($P < 0.05$) between treatments. The total replacement of FM by BSF flour led to higher enzymatic activity of alkaline phosphatase (39.26 μmol), amylase (756.11 μmol) and chymotrypsin (472.57 μmol) when compared to larvae that consumed control diet (FM) and diet with lower replacement levels (33 and 66%). As for the histological analysis, the total replacement of FM by BSF flour led to a reduction in total height (163.03 μm), villus height (144.50 μm) and lamina propria height (108.20 μm) when compared to larvae that consumed FM and diet with lower substitution levels (33 and 66%). It was possible to conclude that it is feasible to replace fish meal protein with protein from black soldier fly (*Hermetia illucens*) for tilapia larvae, at levels of up to 66% without causing changes in intestinal villi and increasing enzymatic activity.

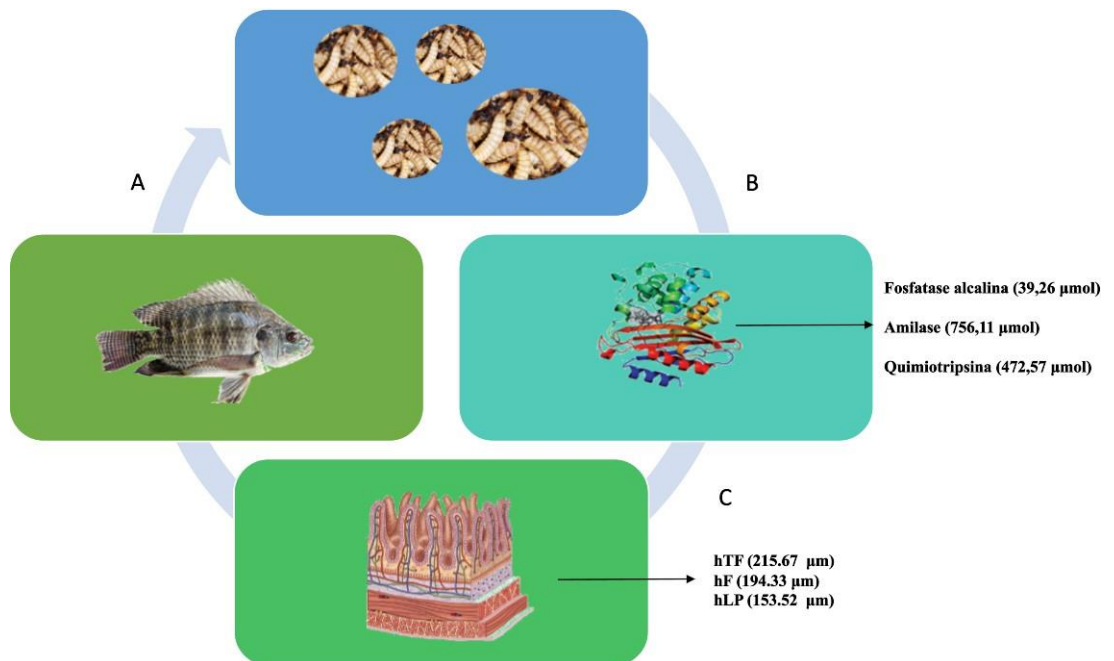
Keywords: alternative food, larvae, sustainability

Farinha de black soldier fly (*Hermetia illucens*) em dietas para larvas de tilápia

Elaborado por **Marcella Venerando Pereira** e orientada por **Profa Dra. Priscila Vieira Rosa**

Esta dissertação aborda uma temática de grande interesse de conhecimento na aquicultura. Trata-se da substituição da fonte de proteína advinda da farinha de peixe por uma fonte de proteína alternativa, sendo esta a farinha de inseto em dietas para larvas de tilápias. Foi realizado ensaio *in vivo* para a obtenção das atividades enzimáticas (lípase, fosfatase alcalina, amilase, quimiotripsina e tripsina) e análises histológicas de larvas de tilápia. Constatamos que, a substituição da proteína de farinha de peixe por proteína de black soldier fly (*Hermetia illucens*) para larvas de tilápia, em níveis de até 66% não acarretam em alterações nas vilosidades intestinais, além disto, larvas alimentadas com a dieta de farinha de inseto apresentam aumento das atividade enzimática. O aumento da atividade enzimática permite aos peixes otimizarem a digestão dos ingredientes presentes na dieta, melhorando o desempenho produtivo e a utilização da ração.

Representações esquemáticas: A) Larvas de tilápias alimentadas com dieta contendo 66% de



proteína de farinha de inseto Black soldier fly (BSF). B) Atividade enzimática determinada nas larvas coletadas. C) Análise histológica determinada no intestino das larvas coletadas.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 Aquicultura	10
2.2 Nutrição na Larvicultura.....	11
2.3 Fontes de proteína na aquicultura.....	13
2.4 Farinha de Inseto	15
2.5 Black Soldier Fly (<i>Hermetia illucens</i>).....	18
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Dietas Experimentais.....	20
3.2 Ensaio experimental	21
3.3 Coleta de amostras	22
3.4 Análise de atividade enzimática.....	22
3.5 Histologia.....	22
3.6 Análise estatística.....	23
4 RESULTADO.....	23
4.1 Enzimas Digestivas	23
4.2 Histologia.....	24
5 DISCUSSÃO	25
6 CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que a população mundial seja de 9 bilhões de pessoas até o ano de 2050 (FAO, 2016) e um dos maiores desafios do agronegócio é aumentar a produção de alimentos, de forma sustentável, com redução dos impactos ambientais. O desenvolvimento de pesquisas científicas nos proporciona uma melhor compreensão do funcionamento dos ecossistemas e da necessidade de conduzi-los de maneira sustentável (FAO, 2020).

A aquicultura desempenha uma função importante na segurança alimentar e nutricional (BENNETT *et al.*, 2021), atuando no fornecimento de alimentos, melhorando a nutrição populacional e gerando emprego a milhões de pessoas (MOGES *et al.*, 2020). A piscicultura é um dos ramos da aquicultura, que visa à produção exclusivamente de peixes e tem se desenvolvido de forma significativa no Brasil. De acordo com os dados publicados pelo anuário PEIXE BR (2023), a produção brasileira de peixes de cultivo cresceu 2,3% no ano de 2022, atingindo 860.355 toneladas. Dentre as espécies cultivadas a tilápia representa 63,93% da produção total de peixes de cultivo, consolidando o Brasil como 4º maior produtor de tilápia no mundo (PEIXE BR, 2023). A expansão da produção de peixes está diretamente relacionada com o aumento da demanda do mesmo. O consumo médio de pescado em termos per capita é de 20,3 kg/ano (FAO, 2022). O consumo de peixes no Brasil ainda é baixo, cerca de 10 kg/hab/ano (PEIXE BR, 2023), contudo apresenta grande potencial de crescimento, pois são alimentos saudáveis, produzidos com segurança e qualidade (PEIXE BR, 2022).

As relações entre sanidade, genética e nutrição, são pilares que conferem uma boa qualidade na produção de pescado, sendo assim capaz de atender a demanda de consumo. É imprescindível que se garanta aos animais boas condições de criação, sobretudo nutricionais. Dentre os nutrientes utilizados para a formulação de ração para a aquicultura, se destaca as proteínas, por ser a fração que confere maior custo na produção. As principais fontes proteicas utilizadas na formulação de rações para peixes são a farinha de peixe (FM) (BRUNI *et al.*, 2021), comumente utilizada no período pós larval, momento em que ocorre transição de alimentação endógena para a alimentação exógena (XU *et al.*, 2017). No entanto, este recurso é limitado e devido ao aumento da demanda global de proteína houve consequentemente aumento dos preços destas commodities (NOGALES-MÉRIDA *et al.*, 2019). Com o objetivo de reduzir a dependência das fabricas de ração por farinha de peixe, o farelo de soja (SBM) tem sido comumente utilizado como fonte de proteína de origem

vegetal. No entanto, este ingrediente possui algumas limitações quanto ao seu uso, apresentando fatores antinutricionais, que impactam negativamente a produção (THOMPSON *et al.*, 2012).

É indispensável o cuidado quando se trata das necessidades proteicas de espécies de peixes de cultivo (BRUNI *et al.*, 2020). As pesquisas voltadas para nutrição de peixes proporcionam o conhecimento necessário para a formulação de rações mais precisas, que atendam as necessidades nutricionais e que forneçam o uso de ingredientes alternativos para rações, reduzindo a dependência de ingredientes derivados de recursos marinhos (HARDY *et al.*, 2022). Sendo assim, as farinhas de insetos podem ser consideradas fontes promissoras na nutrição de peixes devido à sua sustentabilidade e possibilidade de substituição da farinha de peixe (MIKOŁAJCZAK *et al.*, 2022). Portanto, este trabalho tem como objetivo estudar a influência dietética da substituição de farinha de peixe por farinha de black soldier fly (*Hermetia illucens*) em larvas de tilápia sp.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aquicultura

A aquicultura é caracterizada por sua ampla diversidade no número de espécies, sistemas de cultivo, escala de produção (BUSH *et al.*, 2019) e encontra-se em constante crescimento, especialmente devido à crescente demanda por fontes saudáveis de proteína animal (DAWOOD *et al.*, 2022). Essa expansão do setor aquícola se dá através de avanços contínuos na produção, genética e nutrição de peixes, além de avanços nas pesquisas que buscam ingredientes alternativos, visando reduzir a dependência por farinha de peixe na formulação de ração (NAYLOR, *et al.*, 2021).

O Brasil tem buscado constantemente modernizar o setor da aquicultura através da intensificação sustentável dos sistemas de cultivo (BARROSO *et al.*, 2019). De acordo com os dados publicados pelo anuário PEIXE BR (2023), a produção brasileira de peixes de cultivo cresceu 2,3% no ano de 2022, atingindo 860.355 toneladas. Dentre as espécies cultivadas a tilápia sp. representa 63,93% da produção total de peixes de cultivo, consolidando o Brasil como 4º maior produtor de tilápia no mundo (PEIXE BR, 2023). Para acompanhar a expansão da aquicultura é indispensável o avanço tecnológico de produção, incluindo alternativas nos sistemas de alimentação de baixo custo e sustentáveis (YILDIRIM-AKSOY *et al.*, 2020). O aumento na taxa de cultivo de tilápia reflete um futuro positivo para

esta cultura, visto que, possuem um papel importante para atender às demandas nutricionais de proteína animal nos países em desenvolvimento (EL-SAYED *et al.*, 2019).

Os peixes apresentam um elemento importante na economia de muitos países, além de possuírem valor recreativo e psicológico (NELSON, 2016). Representam uma importante fonte de proteína, são ricos em aminoácidos, ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (ômega-3), vitaminas (D, A e B) e minerais (cálcio, iodo, zinco, ferro e selênio) (FAO, 2016). Desse modo, o consumo de pescado pode contribuir para o bem-estar e a saúde humana, minimizando condições relacionadas à desnutrição (BENNETT *et al.*, 2021), bem como reduzir o risco de doenças cardiovasculares e cerebrais (GOLDEN *et al.*, 2021), além de, possuírem propriedades antioxidantes e antiinflamatórias (CHEN *et al.*, 2022). Devido à tendência mundial por alimentos mais saudáveis, existe um grande potencial de mercado para o cultivo de tilápias no Brasil, como fonte de proteína animal de alta qualidade para a população (BARROSO *et al.*, 2019).

A tilápia *sp.* é uma espécie de peixe onívora, de água doce e pertencente à família Cichlidae, sendo a segunda espécie mais cultivada na aquicultura, perdendo somente para as carpas (WU *et al.*, 2022). Embora nativas da África, possuem uma importância global (ROMANA *et al.*, 2004), sendo cultivadas em mais de 120 países (BARROSO *et al.*, 2019). As tilápias são facilmente cultivada e altamente adaptáveis a diversas condições ambientais (YILDIRIM-AKSOY *et al.*, 2020) e apresentam algumas características que as tornam ideais para o cultivo, entre elas estão: rápido crescimento; tolerância a mudanças ambientais; resistência a doenças; capacidade de reprodução em cativeiro (EL-SAYED *et al.*, 2019). Possuem boas características organolépticas e nutricionais, como: carne clara e saborosa, teor de gordura baixo (0,9 g/100 g de carne) baixa caloria (172 kcal/100 g de carne), ausência de espinhas no formato de “Y” (NOGUEIRA; RODRIGUES, 2007) e rendimento de filé de em torno de 28 – 35% (BARROSO *et al.*, 2019). Além disso, as larvas de tilápia são capazes de aceitar uma dieta inerte logo após a absorção do saco vitelino (BOONANUNTANASARN *et al.*, 2018). Devido a estes atributos a tilápia *sp.* se torna uma espécie de peixe atrativa para a comercialização.

2.2 Nutrição na Larvicultura

A nutrição é o principal limitante para o desenvolvimento dos peixes, especialmente

na fase pós larval. Esta fase é considerada crítica na produção de muitas espécies, devido à carência de informações sobre o início da alimentação exógena e as condições de criação que devem ser adotadas (DOS SANTOS *et al.*, 2009). Além disso, os peixes apresentam maior taxa de mortalidade, especialmente durante a transição de alimentação endógena (utilização das reservas do saco vitelino) para a alimentação exógena (utilização de alimentos externos) (XU *et al.*, 2017).

Determinar as exigências nutricionais de pós-larvas de peixes é complexo, considerando que este período é transitório e dinâmico, apresentando rápido crescimento (NUTRIAQUA, 2016). A qualidade da primeira alimentação é de extrema importância, pois possui impacto nas demais fases de desenvolvimento dos peixes. Durante a fase pós larval os peixes apresentam uma taxa metabólica mais alta e, portanto, necessitam de maior disponibilidade de nutrientes e energia em sua dieta (NRC, 2011). Uma prática adotada na larvicultura é o aumento da frequência alimentar. Este método de alimentação proporciona maior eficiência do sistema digestivo dos peixes, aumentando a eficiência da digestão, absorção e utilização de ração (ABDEL-AZIZ *et al.*, 2021), além de reduzir as perdas por lixiviação, garantindo assim a precisão do fornecimento dos nutrientes (NRC, 2011). Portanto, o entendimento das mudanças morfológicas e fisiológicas que os peixes apresentam durante este período é essencial para suprir as necessidades ao longo de seu desenvolvimento (NUTRIAQUA, 2016).

O manejo alimentar é influenciado por múltiplos fatores, que devem ser cuidadosamente planejados para que se tenha maior aproveitamento dos nutrientes fornecidos nas dietas, viabilizando assim a produção. A condição ambiental, oferta e estrutura física (granulometria), assim como a frequência da alimentação, influenciam no consumo de ração e na retenção de nutrientes e, conseqüentemente, no desempenho dos animais (NRC, 2011). Dentre os nutrientes as proteínas desempenham diversas funções essenciais no organismo, exercendo um papel fundamental na sobrevivência, desempenho, taxa de resistência ao estresse de larvas e alevinos de tilápia (LUZ *et al.*, 2012). As rações comerciais disponíveis para larvicultura de tilápia comumente possuem níveis de proteína em torno de 50% a 55% (SILVA *et al.*, 2019). Entretanto, os níveis recomendados de proteína dietética decrescem de acordo com o estágio de desenvolvimento dos animais (NRC, 2011). Considerando que a proteína é o componente mais oneroso na formulação de dietas, o desafio na nutrição de peixes baseia-se em formular dietas que sejam econômicas, que apresentem

máximo desempenho de crescimento dos animais e promova a sustentabilidade da aquicultura (SRISAKULTIEW *et al.*, 2022).

2.3 Fontes de proteína na aquicultura

A aquicultura é um dos setores de produção animal que está em constante crescimento, fornecendo metade de todos os peixes consumidos por humanos em todo o mundo (DANIEL, 2018). Essa expansão se deve ao rápido crescimento das indústrias produtoras de ração aquícola, no qual um dos desafios enfrentados é identificar alternativas ao uso de farinha de peixe (FM) e óleo de peixe (OF) (TRAN-NGOC *et al.*, 2019). A aquicultura pode obter insumos alimentares de diversos sistemas de produção, incluindo pesca marinha e cultivo terrestre (PELLETIER *et al.*, 2018). Contudo, as principais fontes proteicas utilizadas na formulação de rações para peixes são a farinha de peixe (FM) e o farelo de soja (SBM) (BRUNI *et al.*, 2021), representando até 70% do custo total de produção da aquicultura (ALFIKO *et al.*, 2022).

A farinha de peixe (FM) é um produto obtido a partir de pequenos peixes pelágicos marinhos inteiros ou aparas, como ossos e partes não comestíveis do peixe processado, geralmente após o cozimento e a moagem (JANNATHULLA *et al.*, 2019), e tem sido a principal fonte de proteína animal na alimentação da aquicultura. O teor de nutrientes da farinha de peixe é variável e depende do tipo de matéria-prima e dos métodos de processamento utilizados na sua produção (HUA *et al.*, 2019). De uma forma geral, possui elevado teor de proteína bruta, cerca de 65-72% e bom perfil aminoacídico (PELLETIER *et al.*, 2018), alta digestibilidade de nutrientes (BENDIKSEN *et al.*, 2011) e boa palatabilidade (JANNATHULLA *et al.*, 2019). Entretanto devido ao rápido desenvolvimento da aquicultura houve conseqüentemente uma sobrecarga dos recursos marinhos destinados à fabricação de ração, levando a escassez do produto e o aumento dos preços (RODHERMEL *et al.*, 2020). O aumento no preço está relacionado a múltiplos fatores, tais como: oferta e demanda; condições climáticas que afetam a produção e competição com o uso na alimentação humana (NOGALES-MÉRIDA *et al.*, 2019).

Contudo, a farinha de peixe tem sido substituída por fontes alternativas de proteína devido à carência de matérias-primas, custo de produção e impactos ambientais (MOHAN *et al.*, 2022). Sendo assim, os produtores reduziram o uso de farinha e óleo de peixe nas formulações de rações (NAYLOR *et al.*, 2021). Apesar de continuarem sendo ingredientes

imprescindíveis na alimentação de peixes, fornecendo nutrientes essenciais para contribuir com o desempenho e a sobrevivência de larvas e alevinos, ultimamente tem sido utilizados em porcentagens mais baixas em rações de engorda e terminação (NAYLOR *et al.*, 2021). Portanto, há a necessidade do desenvolvimento de pesquisas que busquem por fontes alternativas de proteína na alimentação animal.

Para garantir à expansão sustentável da aquicultura as indústrias tem adotado a utilização de insumos derivados da agricultura, visando substituir os peixes selvagens como fonte de proteína na alimentação (FRY *et al.*, 2016). Embora os insumos marinhos exerçam função indispensável na nutrição de peixes, o uso de ingredientes vegetais tem aumentado constantemente (NAYLOR *et al.*, 2021).

O Brasil é o maior produtor de soja do mundo, com uma produção de 125,55 milhões de toneladas de soja em grãos e 1,38 milhão de toneladas de farelo de soja (CONAB, 2023). O farelo de soja (SBM) é a principal fonte de proteína vegetal utilizada pelas indústrias de rações. É um insumo abundante, acessível e contém alto valor nutricional (KONG *et al.*, 2022), possui teor relativamente alto de proteína bruta (PB) cerca de 480 g/kg de matéria seca (ZHOU *et al.*, 2018). Entretanto os subprodutos da soja utilizada nas formulações de rações não pertencem à dieta natural dos peixes (NOGALES-MÉRIDA *et al.*, 2019). Estes subprodutos possuem alguns fatores limitantes, como fatores antinutricionais, deficiência aminoácidos contendo enxofre (metionina e lisina), menor biodisponibilidade de nutrientes (DANIEL, 2018), menor digestibilidade, palatabilidade reduzida e níveis inadequados de fósforo, os quais impactam negativamente a produção e podem reduzir o crescimento dos animais quando a farinha de peixe da dieta é substituída pelo farelo de soja (THOMPSON *et al.*, 2012).

Alguns estudos apontam os efeitos da substituição da farinha de peixe por farelo de soja no desempenho de peixe. HE (2020) demonstraram redução na taxa de crescimento de achigã (*Micropterus salmoides*) alimentados com as dietas contendo 45% e 60% de farelo de soja. Os insumos de origem vegetal também podem causar alterações na morfologia intestinal dos animais. O farelo de soja possui efeito negativo na espessura da submucosa, lâmina própria e no número de células caliciformes em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (TRAN-NGOC *et al.*, 2019). Thompson *et al* (2012) sugerem que os alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) não podem consumir dietas contendo níveis superiores a 75%

de farelo de soja, quando nenhum ingrediente de proteína animal for adicionado. Para melhorar a utilização da soja em rações para peixes, pesquisadores buscaram por alternativas nos métodos de processamento, tais como bioprocessamento, fermentação ou inclusões de enzimas como fitase (aumentando a absorção de minerais), hidrólise enzimática que tem o potencial de reduzir os níveis de muitos fatores antinutricionais e aumentar a utilização de nutrientes (ZHOU *et al.*, 2018). No entanto, esses métodos de tratamento acarretam em aumento no custo de produção, tornando inviáveis para a maioria das instalações de aquicultura (ZHOU *et al.*, 2018).

As rações usadas na aquicultura são formuladas com diversos ingredientes visando atender às necessidades nutricionais de cada espécie com o menor custo (PELLETIER *et al.*, 2018), e a escolha dos ingredientes utilizados pode impactar a sustentabilidade da produção aquícola (BELGHIT *et al.*, 2018). Deste modo, os avanços nas estratégias para formular rações concentram-se na substituição de recursos marinhos por recursos vegetais, incluindo também outros alimentos alternativos (ROQUES *et al.*, 2020). Visando garantir a sustentabilidade econômica e ambiental da aquicultura, ocorreu um interesse crescente em usar farinha de insetos como fonte de proteína em rações (HUA *et al.*, 2021).

Os maiores desafios para fontes alternativas de proteína em rações aquáticas incluem conteúdo de proteína variável, viabilidade de produção, custo, escalabilidade e aceitação do consumidor (HUA *et al.*, 2019). Para ser um alimento alternativo viável à farinha de peixe em rações aquáticas, o ingrediente deve possuir certas características, incluindo ampla disponibilidade, preço competitivo, facilidade de manuseio, transporte, armazenamento e uso na produção de ração (GATLIN *et al.*, 2007). Deste modo, as farinhas de insetos são consideradas uma alternativa viável e promissora à farinha de peixe (HUA *et al.*, 2019).

2.4 Farinha de Inseto

Uma das principais críticas à aquicultura é a dependência da utilização de farinha de peixe para a ração (ARRU *et al.*, 2019). No entanto, pesquisas voltadas para nutrição de peixes proporcionam o conhecimento necessário para a formulação de rações mais precisas, que atendam às necessidades nutricionais e que forneçam o uso de ingredientes alternativos para rações, reduzindo a dependência de recursos marinhos (HARDY *et al.*, 2022).

Muitos países têm como cultura a entomofagia, ou seja, o consumo de insetos como

alimento. Essa cultura pode contribuir para a expansão e aceitação do cultivo de insetos como ingrediente na alimentação de humanos e animais em todo o mundo. Existem aproximadamente cerca de 2.141 espécies de insetos comestíveis no mundo (MITSUHASHI *et al.*, 2016), e a produção de farinha de insetos tem se desenvolvido rapidamente na China, Europa, América do Norte, Austrália e países do Sudeste Asiático (ALFIKO *et al.*, 2022).

Os benefícios nutricionais e o baixo impacto ambiental impulsionam ainda mais a propensão da utilização de insetos na alimentação animal. Dentre as vantagens de se cultivar insetos como ingrediente proteico para rações aquáticas estão: não competição com as fontes convencionais de alimentos humanos (HUA *et al.*, 2019), fazem parte da dieta natural de animais como peixes e aves (IPIFF *et al.*, 2018), são ricos em proteína variando de 45% a 70%; lipídeos que varia de 8% a 35% (GASCO *et al.*, 2018); energia (762 Kcal/100g - 268,3 Kcal/100g) e apresentam grande quantidade de aminoácidos essenciais incluindo lisina, triptofano, tirosina e fenilalanina (ORDOÑEZ-ARAQUE *et al.*, 2021) e micronutrientes (ferro, zinco e magnésio) (WERU; CHEGE; KINYURU., 2021). Além de, serem fontes de vitaminas tais como riboflavina, ácido pantotênico e biotina (ORDOÑEZ-ARAQUE *et al.*, 2021). Apresentam melhor digestibilidade quando comparado com as fontes de proteínas vegetais (IPIFF., 2018) e boa palatabilidade, podendo substituir de 25 a 100% da farinha de soja ou de peixe, dependendo da espécie animal (MAKKAR *et al.*, 2014). Entretanto, os teores de nutrientes são variáveis e dependem da espécie, estágio de desenvolvimento e tipo de alimentação fornecida aos insetos (NOGALES-MÉRIDA *et al.*, 2019).

O cultivo em massa de insetos seria capaz de garantir uma produção constante em quantidade, com qualidade e estabilidade de oferta e preço (BAIANO *et al.*, 2020). Além disto, os insetos são eficientes na conversão de matéria orgânica em proteína (BERGGREN *et al.*, 2019), podem ser cultivados em espaço reduzidos sem a necessidade de grandes áreas de terra ou água, sobretudo quando comparados a culturas como a soja (SÁNCHEZ-MUROS *et al.*, 2016). Contribuem para a reciclagem de nutrientes (SÁNCHEZ-MUROS *et al.*, 2016), são um importante componente da agricultura sustentável (MORUZZO *et al.*, 2021), pois produzem menos gases de efeito estufa, principais responsáveis pelas mudanças climáticas (DOBERMANN; SWIFT; FIELD., 2017) e podem ser utilizados como fonte alternativa para o aumento da demanda por proteína animal (BERGGREN *et al.*, 2019), sendo assim, considerados fontes promissoras na nutrição de peixes (MIKOŁAJCZAK *et al.*, 2022).

Entretanto, os insetos também apresentam alguns fatores limitantes. Os insetos contêm composto como a quitina, que é considerada principalmente uma fibra (NOGALES-MÉRIDA *et al.*, 2019), o perfil lipídico dos insetos é composto principalmente de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, sendo escassos ácidos graxos poliinsaturados da série n-3 (BRUNI *et al.*, 2020). Geralmente as farinhas de insetos são deficientes em cálcio (MAKKAR *et al.*, 2014) e vitaminas A, C e E (ORDOÑEZ-ARAQUE *et al.*, 2021), sendo necessária a suplementação na dieta.

A composição nutricional variável dos insetos pode ser um desafio para a formulação de dietas (DUMAS *et al.*, 2018). Os insetos ainda podem apresentar variabilidade bacteriana em sua microbiota (FRIGERIO *et al.*, 2020), podendo ser reservatórios de microrganismos resistentes a antibióticos (GAROFALO *et al.*, 2019). Portanto, apresentam possíveis riscos microbianos, alergênicos e toxicológicos, que devem ser considerados, visto que, podem servir como vetores de microrganismos patogênicos para humanos e animais (SCHLÜTER *et al.*, 2017).

Outro fator importante é a dependência do trabalho manual, aumentando o custo de produção com mão de obra qualificada (DOBERMANN; SWIFT; FIELD., 2017). A aceitabilidade do consumidor também confere um obstáculo ao uso de insetos na alimentação animal (MOTOKI *et al.*, 2020). Por fim, as condições de manuseio e armazenamento das farinhas de insetos devem ser controladas, pois quando feitas de forma inadequada podem acarretar em contaminação por micotoxinas (BAIANO *et al.*, 2020). Os riscos devem ser limitados por meio da criação de insetos em um ambiente totalmente controlado, sendo que a contaminação externa deve ser minimizada adotando práticas de higiene durante os períodos de criação, manuseio, processamento, transporte e armazenamento dos insetos (GAROFALO *et al.*, 2019).

A União Europeia permitiu o uso de farinha de insetos para fabricação de ração aquática no Regulamento (UE) 2017/893 de julho de 2017 (HUA *et al.*, 2019). Entre as espécies permitidas, as mais comumente utilizadas são a larva da farinha amarela (*Tenebrio molitor*), a mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) e a mosca doméstica (*Musca domestica*) (ARRU *et al.*, 2019).

Esses insetos necessitam ser cultivados de acordo com os regulamentos da pecuária convencional, não podendo ser alimentados com qualquer tipo de resíduo (DOBERMANN;

SWIFT; FIELD., 2017). Os substratos utilizados devem ser de origem vegetal ou de origem animal, incluindo leite, ovos e seus derivados, no entanto, os produtos provenientes de matadouros, restos de carne, entre outros, não devem ser utilizados no cultivo de insetos [Regulamento (UE) n.º 2016/429] (MOHAN *et al.*, 2022). Além disto, é imprescindível que se estabeleça um protocolo de higienização e desinfecção, garantindo assim a segurança alimentar dos produtos derivados de insetos (ORDOÑEZ-ARAQUE *et al.*, 2021). De modo geral, a farinha de inseto apresenta bom potencial de utilização como fonte de proteína alternativa para rações na aquicultura.

2.5 Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*)

Os insetos representam uma fonte promissora de alimento, podem ser consumidos em diferentes estágios de desenvolvimento e são fontes de nutrientes indispensáveis para o bom desempenho dos animais. Entre as espécies de insetos que possuem potencial para produção em larga escala está a black soldier fly (*Hermetia illucens*) (SPRANGHERS *et al.*, 2017), correspondendo por 49% dos dados relatados na literatura (HUA *et al.*, 2019). A literatura relata uma ampla utilização de black soldier fly na alimentação de cães e gatos (VALDÉS *et al.*, 2022), leitões (SPRANGHERS *et al.*, 2018), aves (MOULA *et al.*, 2018), gado (DREWERY; LIU; WICKERSHAM.,2022) e peixes (TIPPAYADARA *et al.*, 2021).

A black soldier fly (*H. Illucens*) é uma mosca Díptera, pertencente à família Stratiomyidae (WANG; SHELOMI., 2017). São nativas das Américas, e foram introduzidas mundialmente em regiões subtropicais e tropicais (ČIČKOVÁ *et al.*, 2015). O ciclo de vida da black soldier fly (BSF) apresenta quatro estágios (larvas, pré-pupas, pupas, moscas) (SOETEMANS; UYTTEBROEK; BASTIAENS; 2020) e vem sendo amplamente utilizada na formulação de rações para a aquicultura.

Esta espécie tem atraído a atenção devido a algumas características que as tornam interessantes para produção. Apresentam potencial para produção em larga escala (SPRANGHERS *et al.*, 2017), são de fácil criação, podem ser cultivadas e colhidas em instalações simples (WANG; SHELOMI., 2017), possuem elevado teor de proteína bruta (37– 63%) e lipídeos (aproximadamente 49%), além de vários nutrientes importantes para o desenvolvimento animal (SMETANA; SCHMITT; MATHYS., 2019). Entretanto, os valores nutricionais dos insetos variam de acordo com os substratos utilizados para o cultivo (MOHAN *et al.*, 2022).

As larvas de black soldier fly (BSF) se alimentam de vários tipos de resíduos orgânicos (NAKAMURA *et al.*, 2016), tais como resíduos orgânicos de vegetais, frutas e subprodutos de vinícola (MENEGUZ *et al.*, 2018); farelo de trigo, soja e fubá de milho (SINGH *et al.*, 2022); subprodutos agroindustriais (CHIA *et al.*, 2020); algas marinhas (LILAND *et al.*, 2017) e resíduos de pesca (BARROSO *et al.*, 2019). Quando adultos, não possuem a necessidade de se alimentar, pois consomem as reservas da fase larval (SHEPPARD *et al.*, 2002). São eficientes na degradação de matérias orgânicas (MOHAN *et al.*, 2022), não se aproximam de humanos ou animais (ČIČKOVÁ *et al.*, 2015) e possuem atividade antibacteriana (HARLYSTIARINI *et al.*, 2019).

Contudo, as larvas de BSF não são economicamente competitivas com a farinha de peixe. Para ser de fato um ingrediente competitivo com as fontes convencionais de proteína, o preço de custo da produção e processamento deve ser ainda mais reduzido (VELDKAMP; BOSCH., 2015). No entanto, tem-se aumentado a escala de produção visando atender à crescente demanda por proteína e reduzir o custo da farinha de insetos. (YILDIRIM-AKSOY *et al.*, 2020). De acordo com um estudo realizado por Mulazzani *et al* (2021), as farinhas de insetos produzidas por empresas europeias apresentam custo de 3,5€ a 7€/kg, com teor de proteína entre 60–70%, enquanto as farinhas de insetos provenientes da África e Ásia apresentam preços entre 1,2€ e 2,5€/kg, com teor de proteína em torno de 55%. Entretanto, presumisse uma queda nos preços das farinhas de insetos em até 30% nos próximos anos, devido a avanços nas tecnologias (MULAZZANI *et al.*, 2021).

Pesquisas recentes destacam a utilização da farinha de BSF na alimentação de diversas espécies de peixes. Renna *et al* (2017), utilizando larvas de black soldier fly (*H. Illucens*) parcialmente desengordurada, obteve resultados positivos quanto a sobrevivência, desempenho de crescimento, índices somáticos, parâmetros de qualidade do filé e morfologia intestinal de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) com até 40% do nível de inclusão. Em um ensaio realizado observou-se que substituição de 45% de farinha de peixe por farinha de black soldier fly (*H. Illucens*), não afetou as características de qualidade e o teor total de ácido graxo poliinsaturado de cadeia (LC-PUFA) em filés de robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) (MOUTINHO *et al.*, 2021). A farinha de pré-pupa de black soldier fly (*H. Illucens*) também pode substituir até 19,5% da farinha de peixe em dietas para o robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) (MAGALHÃES *et al.*, 2017). Um estudo demonstrou que substituição total de farinha de peixe por farinha de black soldier fly (*H. Illucens*), não

apresentou efeitos negativos no desempenho de crescimento, digestibilidade de nutrientes e características da qualidade sensorial do filé, em dietas para salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (BELGHIT *et al.*, 2019).

Estudos comprovam que a farinha de black soldier fly (*H. Illucens*) tem potencial de substituir a farinha de peixe em rações aquáticas (ALFIKO *et al.*, 2022). A sustentabilidade econômica e ambiental da aquicultura está relacionada diretamente com a natureza e qualidade dos ingredientes utilizados na alimentação dos peixes (ARRU *et al.*, 2019). Portanto, a produção de black soldier fly (*H. Illucens*) como fonte alternativa de proteína, pode demonstrar ser a mais sustentável e ter um lugar de destaque no futuro, tanto como reciclador de resíduos quanto no uso na alimentação animal (WANG; SHELOMI., 2017).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Comissão de ética no uso de animais

O projeto foi realizado na Estação de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e no Laboratório Central de Pesquisa Animal (LCPA/ DZO), Lavras, MG. Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), protocolo número 0133/2019.

3.1 Dietas Experimentais

Foram formuladas quatro dietas experimentais, sendo uma dieta controle (farinha de peixe) e três dietas com níveis crescentes de proteína de black soldier fly (BSF) (*Hermetia illucens*) 33%; 66% e 100%. Todas as dietas foram extrusadas (Inbramaq®, modelo Labor PQ30), com peletes de 3 mm, posteriormente moídas e armazenadas a - 20°C até o uso. As dietas experimentais estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1. Ingredientes e composição das dietas experimentais

Ingredientes (g Kg ⁻¹)	Proteína de Black Soldier Fly (%)			
	0	33	66	100
Milho	257,50	211,30	165,00	118,70
Farinha de peixe	150,00	100,00	50,00	0,00
Farelo de soja	531,50	539,10	547,00	554,80
Farelo de trigo	10,00	10,00	10,00	10,00
Black soldier fly	0,00	93,20	186,50	279,70
Oléo de soja	35,00	30,20	25,40	20,60
Sal	5,0	5,0	5,0	5,0
Fosfato bicálcico	5,0	5,0	5,0	5,0
Suplemento vitamínico mineral ^a	5,0	5,0	5,0	5,0
Antioxidante (BHT) ^b	0,20	0,20	0,20	0,20
Composição analisada (% na matéria seca) ^c				
Proteína bruta	37,77	36,64	36,41	37,56
Energia bruta	20,27	20,71	20,98	21,92
Extrato etéreo	9,04	9,34	11,02	10,88

^a Composição do suplemento vitamínico e mineral: Ácido fólico (Min) 2500 mg kg⁻¹, Ácido pantotênico (Min) 3750 mg kg⁻¹, Biotina (Min) 125 mg kg⁻¹, Zinco (Min) 20 g kg⁻¹, Cobre (Min) 2000 mg kg⁻¹, Colina (Min) 125 g kg⁻¹, Ferro (Min) 15 g kg⁻¹, Iodo (Min) 125 mg kg⁻¹, Vit K (Min) 1000 mg kg⁻¹, Manganês (Min) 3700 mg kg⁻¹, Niacina (Min) 7800 mg kg⁻¹, Selênio (Min) 75 mg kg⁻¹, Vit A (Min) 2.000.000 UI kg⁻¹, Vit E (Min) 15000 UI kg⁻¹, Vit B1 (Min) 2500 mg kg⁻¹, Vit B12 (Min) 5000 mg kg⁻¹, Vit B2 (Min) 2500 mg kg⁻¹, Vit B6 (Min) 2000 mg kg⁻¹, Vit D3 (Min) 500.000 UI kg⁻¹; ^bBHT – Butil-hidroxi-tolueno; ^c Determinações segundo A.O.A.C. (2016).

3.2 Ensaio experimental

Após a reabsorção do saco vitelino, 960 larvas de tilápia sp. foram distribuídas em 32 aquários de vidro com capacidade de 15 L, na densidade de 30 peixes/aquário. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, com quatro tratamentos (dieta controle, 33%; 66% e 100% de farinha de black soldier fly) e oito repetições. Os animais foram mantidos em sistema fechado de recirculação de água, com temperatura da água monitorada por meio de termômetros e mantida em torno de 30 °C, os parâmetros limnológicos foram controlados através de kits comerciais. Os animais foram alimentados oito vezes ao dia, com intervalos de 1 hora entre cada alimentação (início as 08:00h e término as 15:00h), durante 30 dias e a quantidade de ração fornecida foi padronizada semanalmente

de acordo com a biomassa.

3.3 Coleta de amostras

Ao final do experimento, após um período de jejum de 4 horas seis animais por aquário foram eutanasiados com imersão em água e gelo de 0 a 4°C/10-20 minutos (DE FREITAS; ANTIORIO., 2016). Foram coletadas quatro amostras de peixe inteiro para análise de atividade enzimática (lipase, fosfatase, amilase, quimiotripsina e tripsina) e duas amostras de peixe inteiro para análise histológica, nas quais foram avaliadas altura total, altura das vilosidades, altura da lâmina própria, espessura das vilosidades e espessura da lâmina própria. As amostras de peixe inteiro foram pesadas e armazenadas em ultrafreezer.

3.4 Análise de atividade enzimática

No momento das análises, as amostras foram homogeneizadas (p/v 1:5) em ultraturrax, com tampão PBS, centrifugadas por 30 minutos a 4°C e o sobrenadante utilizado. Todas as atividades enzimáticas foram determinadas usando um espectrofotômetro Multiskan Go da Thermo Scientific.

Os ensaios de fosfatase alcalina, amilase e lipase foram realizados de acordo com o fabricante, através de kits comerciais bioclin. A atividade da quimiotripsina foi determinada seguindo Hummel (1959), usando BTEE (N-benzoil-L-tirosina etil éster) como substrato em Tris-HCl 41,4 mM e CaCl₂ 10,4 mM (pH 8,1) e a absorbância lida a 256 nm. A atividade da tripsina foi medida de acordo com Bergmeyer *et al.* (1974), usando Bapna (N α -Benzoyl-DL-arginine 4-nitroanilide hydrochloride) como substrato em Tris-HCl 41,4 mM e CaCl₂ 10,4 mM (pH 8,2) e a absorbância lida a 410 nm. As atividades enzimáticas foram expressas como atividade específica, definida como μ mol de produto gerado por minuto.

3.5 Histologia

Para esta análise amostras de peixe inteiro foram mantidas em formalina por 48 horas, após este período as amostras foram transferidas para uma solução de álcool 70%, onde permaneceram até o momento do processamento. Para o processamento as amostras foram clivadas e passaram por um processo de descalcificação. Em seguida, foram desidratadas em série ascendente de álcool e, posteriormente, direcionados para diafanização (mantidos durante 15 minutos em xilol). Os tecidos foram emblocados em parafina e o corte histológico (5 μ m de espessura) foi realizado em micrótomo (Microm HM), para confecção das lâminas.

Para a coloração, utilizou-se a técnica de hematoxilina-eosina. Foram selecionadas e medidas 10 vilosidades do intestino por amostra (Renna *et al.*, 2017), cujas alturas e larguras (comprimentos em linha reta, em μm) foram medidas com auxílio de microscópio (Nikon Eclipse 50i), com câmera acoplada (Moticam 2300), utilizando o programa Motic Imagens Plus 3.0. Para cada vilo adequado, foram coletados os seguintes dados: altura total, altura das vilosidades, altura da lâmina própria, espessura da vilosidade, espessura da lâmina própria. As variáveis foram medidas usando o software Image J (Institutos Nacionais de Saúde, Bethesda, Maryland, EUA).

3.6 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e as diferenças entre as médias determinadas através da aplicação de teste Tukey, com nível de significância 5% ($P < 0.05$).

4 RESULTADO

4.1 Enzimas Digestivas

Foi observado diferença significativa ($P < 0,05$) entre as larvas alimentadas com farinha de black soldier fly (BSF) e larvas que foram alimentadas com a dieta controle (FM). A substituição total da proteína de FM por proteína de BSF levou a maior atividade enzimática de fosfatase alcalina (39,26 $\mu\text{mol}/\text{min}$), amilase (756,11 $\mu\text{mol}/\text{min}$) e quimiotripsina (472,57 $\mu\text{mol}/\text{min}$) quando comparado com larvas que consumiram dieta controle (FM) e dieta com níveis de substituição menores (33 e 66%). Larvas alimentadas com 100% de proteína de BSF apresentaram maior atividade enzimática de tripsina (36,83 $\mu\text{mol}/\text{min}$) quando comparadas com larvas alimentadas com dieta controle (FM), e não apresentaram diferença significativa entre os diferentes níveis de substituição de FM por proteína de BSF (33; 66 e 100%). Entre a dieta controle e dietas contendo níveis crescentes de proteína de BSF (33; 66 e 100%) não foi observada diferença significativa para a atividade enzimática de lipase ($P > 0,05$) como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 – Atividade enzimática de larvas de tilápias sp. alimentadas com diferentes níveis de proteína de black soldier fly (BSF) (33; 66; 100%)

Tratamentos	Lipase μmol/min	Fosfatase μmol/min	Amilase μmol/min	Quimiotripsina μmol/min	Tripsina μmol/min
0	0.911037	13.587.384 ^b	376.799.298 ^c	262.128.448 ^b	22.521.943 ^b
33	1.007.326	15.159.685 ^b	488.839.086 ^{bc}	278.513.805 ^b	29.834.355 ^{a b}
66	1.057.267	16.280.067 ^b	551.288.770 ^b	288.106.718 ^b	30.597.263 ^{a b}
100	1.178.472	39.260.214 ^a	756.115.417 ^a	472.573.251 ^a	36.828.027 ^a

Enzimas digestivas: Lipase, Fosfatase, Amilase, Quimiotripsina e Tripsina

Letras que se diferem na mesma coluna indicam diferenças entre os tratamentos ($p < 0,05$) e ausência de letras indica que os valores na mesma coluna não diferem estatisticamente ($p > 0,05$).

4.2 Histologia

Foi observado diferença significativa ($P < 0,05$) entre as larvas alimentadas com farinha de black soldier fly (BSF) e larvas que foram alimentadas com a dieta controle (FM). A substituição total da proteína de FM por proteína de BSF levou a redução de hTF (163.03 μm), hF (144.50 μm) e hLP (108.20 μm) quando comparado com larvas que consumiram dieta controle e dieta com níveis de substituição mais baixos (33 e 66%). Quanto a wF, larvas alimentadas com níveis de proteína de BSF (33%; 66% e 100%) não apresentaram diferença significativa entre os diferentes níveis, entretanto houve uma redução de wF quando comparadas com larvas alimentadas com dieta controle (93.213 μm). Houve também uma redução na wLP entre larvas alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de proteína de BSF (39.5226 μm; 45.6146 μm; 45.9018 μm respectivamente), quando comparadas com larvas alimentadas com dieta controle (FM) (56.4248 μm) como apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 – Análise histológica de larvas tilápias sp. alimentadas com diferentes níveis de proteína de black soldier fly (BSF) (33; 66; 100%)

Tratamento	hTf (μm)	hF(μm)	hLP(μm)	wF(μm)	wLP(μm)
0	235.06 ^a	206.96 ^a	151.80 ^a	93.2213 ^a	56.4248 ^a
33	192.30 ^b	168.10 ^b	132.85 ^b	70.4199 ^b	39.5226 ^c
66	215.67 ^a	194.33 ^a	153.52 ^a	74.4607 ^b	45.6146 ^b
100	163.03 ^c	144.50 ^c	108.20 ^c	74.9067 ^b	45.9018 ^b

hTf (altura total), hF(altura da vilosidade), hLP (altura da lâmina própria), wF(espessura da vilosidade), wLP(espessura da lâmina própria). Letras que se diferem na mesma coluna indicam diferenças entre os tratamentos ($p < 0,05$) e ausência de letras indica que os valores na mesma coluna não diferem estatisticamente ($p > 0,05$).

5 DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que a substituição total da proteína de farinha de peixe por proteína de black soldier fly influenciou a atividade de enzimas digestivas, acarretando em aumento das enzimas fosfatase, amilase, quimiotripsina e tripsina, enquanto a lipase não foi influenciada pelos níveis de inclusão de farinha de inseto (33%; 66% e 100%) na dieta.

Resultados semelhantes foram encontrados por Huang *et al.* (2022) onde a substituição dietética de até 30% de farinha de peixe por farinha de black soldier fly (BSF), aumentou a atividade da enzima digestiva tripsina em dietas para garoupa-genciana (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*). A substituição total da farinha de peixe (FM) pela farinha de black soldier fly (BSF) cultivadas a partir de sementes torradas de soja e fubá de milho, apresentou maior atividade enzimática da tripsina e fosfatase, em dietas para tilápia do Nilo (*O. niloticus*), quando comparada com peixes que receberam dieta controle (FM) (AGBOHESSOU *et al.*, 2021). Segundo os autores o aumento da atividade de enzimas proteolíticas em peixes alimentados com dietas contendo farinha de inseto pode estar relacionado à menor digestibilidade das proteínas. Cara *et al.* (2007) observou-se que o aumento da atividade de tripsina e quimiotripsina em larvas de robalo (*Centropomus undecimalis*) está diretamente relacionada à melhora no desempenho e sobrevivência das larvas, devido a maior produção de proteases ocasionando uma melhor digestão da proteína. Um ensaio realizado para avaliar o efeito da substituição parcial da farinha de peixe (FM) por farinha de black soldier fly (BSF) em dietas para juvenis de robalo-europeu

(*Dicentrarchus labrax*), demonstrou aumento da atividade enzimática de lipase quando a substituição foi de 45% de FM, quando comparado com substituição em níveis menores (15%) (MAGALHÃES *et al.*, 2017). Li *et al.* (2019), avaliando o efeito da substituição de farinha de peixe (FM) por farinha de mosca doméstica (*Musca domestica*) em dietas para rã touro (*Lithobates*) observou aumento na atividade enzimática de lipase e amilase, com níveis de substituição de 50-75% de FM. Os autores associam o aumento da atividade das enzimas digestivas em resposta ao aumento do nível de farinha de inseto, podendo considerar uma estratégia de adaptação da espécie, de maneira a aproveitar melhor os nutrientes da dieta em razão da redução da disponibilidade, devido ao aumento do teor de quitina na dieta.

A capacidade dos peixes em digerir uma determinada dieta e absorver seus nutrientes está diretamente associada à presença de enzimas digestivas (Kumar *et al.*, 2007). Em geral, as atividades das enzimas digestivas, particularmente as enzimas proteolíticas confirmam os impactos potenciais da biodisponibilidade de macronutrientes no processo de digestão de proteínas (HOSSEINI; MEHRGAN; BANAVREH., 2021).

Os resultados mostraram que a substituição total da proteína de farinha de peixe por proteína de black soldier fly influenciou de forma negativa as vilosidades intestinais, acarretando em redução da altura total (hTF), altura da vilosidade (hF) e altura da lâmina própria (hLP) quando comparado com larvas que consumiram dieta controle e dieta com níveis de inclusão mais baixos (33 e 66%).

Resultados semelhantes foram encontrados na literatura, corroborando com nosso ensaio. Em estudo realizado para avaliar o uso de farinha de bicho-da-farinha (*Tenebrio molitor*) em substituição a farinha de peixe (FM), em dietas para alevinos de truta marinha (*Salmo trutta m. trutta*, L.), os peixes que receberam dieta com teores maiores de farinha de inseto (30%) apresentaram uma diminuição da espessura de vilosidade, quando comparados com peixes que receberam dieta controle (FM) (HOFFMANN *et al.*, 2021). A redução da altura das vilosidades também foi observada em trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), quando os peixes consumiram dieta com níveis de substituição de 50% de farinha de peixe (FM) por farinha de black soldier fly (BSF) (CAIMI *et al.*, 2021). Avaliando o efeito da substituição parcial da farinha de peixe (FM) por farinha de black soldier fly (BSF) em dietas para dourada (*Sparus aurata*), foi observado uma redução na densidade e espessura das vilosidades do intestino proximal, em animais que receberam dieta com 10% de BSF, em

comparação com peixes que receberam a dieta controle (FM) (BOSI *et al.*, 2021). De acordo com os autores a substituição parcial da FM pela farinha BSF também afetou a função motora gastrointestinal da dourada, reduzindo o trânsito gastrointestinal.

A altura das vilosidades é um dos parâmetros mais comumente analisados, sendo associado à saúde intestinal e ao desempenho do crescimento (MELENCHÓN *et al.*, 2022). Na literatura as alterações histológicas do intestino foram atribuídas principalmente à quitina, conteúdo do exoesqueleto dos insetos (ELIA *et al.*, 2018). A quitina é um biopolímero composto por N-acetil-D-glicosamina interligadas por ligações glicosídicas β -1,4 (ZHU *et al.*, 2016), é um composto hidrofóbico, não solúvel em água e em muitos solventes orgânicos (AL- ROOQI *et al.*, 2022). Os teores de quitina em black soldier fly variam entre 8% e 24% de acordo com os estágios do ciclo de vida (SOETEMANS; UYTTEBROEK; BASTIAENS; 2020).

A utilização de farinha de black soldier fly (*Hermetia illucens*) em dietas para peixes é uma forma de atender os problemas da indústria aquícola relacionados a dependência de farinha de peixe, bem como promover a expansão sustentável da aquicultura.

6 CONCLUSÃO

Com os resultados deste trabalho foi possível concluir que é viável substituição da proteína de farinha de peixe por proteína de black soldier fly (*Hermetia illucens*) para larvas de tilápia, em níveis de até 66% sem causar alterações nas vilosidades intestinais e aumentando a atividade enzimática.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-AZIZ, Mohamed Fathy Aid et al. Assessing the effect of different feeding frequencies combined with stocking density, initial weight, and dietary protein ratio on the growth performance of tilapia, catfish and carp. **Scientific African**, v. 12, p. e00806, 2021.

AGBOHESSOU, Pamphile S. et al. Intestinal histopathology and immune responses following *Escherichia coli* lipopolysaccharide challenge in Nile tilapia fed enriched black soldier fly larval (BSF) meal supplemented with chitinase. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 128, p. 620-633, 2022.

AGBOHESSOU, Pamphile S. et al. Total replacement of fish meal by enriched-fatty acid *Hermetia illucens* meal did not substantially affect growth parameters or innate immune status and improved whole body biochemical quality of Nile tilapia juveniles. **Aquaculture Nutrition**, v. 27, n. 3, p. 880-896, 2021.

ALFIKO, Yuzer et al. Insects as a feed ingredient for fish culture: Status and trends. **Aquaculture and Fisheries**, v. 7, n. 2, p. 166-178, 2022.

AL-ROOQI, Munirah M. et al. Advancement of chitin and chitosan as promising biomaterials. **Journal of Saudi Chemical Society**, p. 101561, 2022.

ARRU, Brunella et al. The introduction of insect meal into fish diet: The first economic analysis on European sea bass farming. *Sustainability*, v. 11, n. 6, p. 1697, 2019.

BAIANO, Antonietta. Edible insects: An overview on nutritional characteristics, safety, farming, production technologies, regulatory framework, and socio-economic and ethical implications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 100, p. 35-50, 2020.

BARROSO, Fernando G. et al. Production of n-3-rich insects by bioaccumulation of fishery waste. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 82, p. 103237, 2019.

BARROSO, Renata Melon; MUÑOZ, Andrea Elena Pizarro; CAI, Junning. Social and economic performance of tilapia farming in Brazil. FAO, 2019.

Becker, Petra M., and Peiqiang Yu. "What makes protein indigestible from tissue-related, cellular, and molecular aspects?." *Molecular nutrition & food research* 57, no. 10 (2013): 1695-1707.

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

BENDIKSEN, EldarÅsgard, Chris André Johnsen, Hanne Jorun Olsen, and Malcolm Jobling. "Sustainable aquafeeds: progress towards reduced reliance upon marine

ingredients in diets for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)." **Aquaculture** 314, no. 1-4 (2011): 132-139.

BENNETT, A. et al. Recognize fish as food in policy discourse and development funding. *Ambio*, v. 50, n. 5, p. 981-989, 2021.

BERGGREN, Åsa; JANSSON, Anna; DOWN, Matthew. Addressing ecological sustainability in the emerging food insect industry. **Trends in ecology and evolution**, v. 34, no. 2, pg. 132- 138, 2019.

BOONANUNTANASARN, Surintorn et al. Adaptation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to different levels of dietary carbohydrates: new insights from a long-term nutritional study. **Aquaculture**, v. 496, p. 58-65, 2018.

BOSI, Annalisa et al. Effect of partial substitution of fishmeal with insect meal (*Hermetia illucens*) on gut neuromuscular function in Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2021.

BROEK, L. A.; BOERIU, Carmen G.; STEVENS, C. V. Chitin and chitosan: properties and applications. 2019.

BRUNI, Leonardo 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.

BRUNI, Leonardo et al. Is it possible to cut down fishmeal and soybean meal use in aquafeed limiting the negative effects on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet quality and consumer acceptance. **Aquaculture**, v. 543, p. 736996, 2021.

BRUNI, Leonardo et al. Total replacement of dietary fish meal with black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae does not impair physical, chemical or volatile composition of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 3, p. 1038-1047, 2020.

BUSH, Simon R. et al. Emerging trends in aquaculture value chain research. **Aquaculture**, v. 498, p. 428-434, 2019.

CAIMI, Christian et al. Dietary inclusion of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larva meal in low fishmeal-based diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of animal science and biotechnology**, v. 12, p. 1-15, 2021.

Cara, B., F. J. Moyano, J. L. Zambonino, and Chloé Fauvel. "Trypsin and chymotrypsin as indicators of nutritional status of post-weaned sea bass larvae." **Journal of Fish Biology** 70, no. 6 (2007): 1798-1808.

CHATTERJEE, Cynthia; GLEDDIE, Stephen; XIAO, Chao-Wu. Soybean bioactive peptides and their functional properties. **Nutrients**, v. 10, n. 9, p. 1211, 2018.

CHEN, Jiali et al. A critical review on the health benefits of fish consumption and its bioactive constituents. **Food Chemistry**, v. 369, p. 130874, 2022.

CHIA, Shaphan Y. et al. Nutritional composition of black soldier fly larvae feeding on agro-industrial by-products. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 168, n. 6-7, p. 472-481, 2020.

ČIČKOVÁ, Helena et al. The use of fly larvae for organic waste treatment. *Waste management*, v. 35, p. 68-80, 2015.

CONAB - Companhia Nacional De Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 10, safra 2022/23, n. 4 quarto levantamento, janeiro 2023.

DANIEL, N. A review on replacing fish meal in aqua feeds using plant protein sources. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 6, n. 2, p. 164-179, 2018.

DAWOOD, Mahmoud AO et al. Fruit processing by-products in the aquafeed industry: A feasible strategy for aquaculture sustainability. **Reviews in Aquaculture**, 2022.

DE FREITAS, Ana Paula Pauloni; ANTIORIO, Ana Tada Brasil; SEABRA, Denise Isoldi. EUTANÁSIA HUMANITÁRIA.

DOBERMANN, Darja; SWIFT, J. A.; FIELD, L. M. Opportunities and hurdles of edible insects for food and feed. **Nutrition Bulletin**, v. 42, n. 4, p. 293-308, 2017.

DOS SANTOS, José Cláudio E.; LUZ, Ronald K. Effect of salinity and prey concentrations on *Pseudoplatystomacorruscans*, *Prochiloduscostatus* and *Lophiosilurus alexandri* larviculture. **Aquaculture**, v. 287, n. 3-4, p. 324-328, 2009.

DREWERY, M. L.; LIU, X.; WICKERSHAM, T. A. Black soldier fly larvae (BSFL) as a feed for beef cattle: a hedonic pricing model. **Journal of Insects as Food and Feed**, p. 1-10, 2022.

DUMAS, André et al. The oil fraction and partially defatted meal of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) affect differently growth performance, feed efficiency, nutrient deposition, blood glucose and lipid digestibility of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 492, p. 24-34, 2018.

ELIA, Antonia Concetta 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.

EL-SAYED, Abdel-Fattah M. Tilapia culture. Academic Press, 2019.

FAO Fisheries and Aquaculture Department food and agriculture organization of the unitednations Rome, 2010.

FAO. 2018. The future of food and agriculture –Alternative pathways to 2050. Rome. 224 pp. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action.

Rome.

FRIGERIO, Jessica et al. Tasting the differences: Microbiota analysis of different insect-based novel food. **Food Research International**, v. 137, p. 109426, 2020.

FRY, Jillian P. et al. Environmental health impacts of feeding crops to farmed fish. *Environment International*, v. 91, p. 201-214, 2016.

GAROFALO, Cristiana et al. Current knowledge on the microbiota of edible insects intended for human consumption: A state-of-the-art review. **Food Research International**, v. 125, p. 108527, 2019.

GASCO, Laura et al. Fishmeal alternative protein sources for aquaculture feeds. *Feeds for the aquaculture sector: current situation and alternative sources*, p. 1-28, 2018.

GASCO, Laura et al. Fishmeal alternative protein sources for aquaculture feeds. In: *Feeds for the aquaculture sector*. Springer, Cham, 2018. p. 1-28.

GATLIN III, Delbert M., Frederic T. Barrows, Paul Brown, Konrad Dabrowski, T. Gibson Gaylord, Ronald W. Hardy, Eliot Herman et al. "Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review." **Aquaculture research** 38, no. 6 (2007): 551-579.

GOLDEN, Christopher D. et al. Aquatic foods to nourish nations. *Nature*, v. 598, n. 7880, p. 315-320, 2021.

GUERREIRO, Inês et al. Digestive enzyme activity and nutrient digestibility in meagre (*Argyrosomus regius*) fed increasing levels of black soldier fly meal (*Hermetia illucens*). **Aquaculture Nutrition**, v. 27, n. 1, p. 142-152, 2021.

HARDY, Ronald W. et al. Fish nutrition—history and perspectives. In: *Fish Nutrition*. Academic Press, 2022. p. 1-16.

HARLYSTIARINI, Harlystiarini et al. In vitro antibacterial activity of black soldier fly (*Hermetia Illucens*) larva extracts against gram-negative bacteria. *Buletin Peternakan*, v. 43, n. 2, p. 125-129, 2019

HE, Ming et al. An evaluation of replacing fish meal with fermented soybean meal in the diets of largemouth bass (*Micropterus salmoides*): Growth, nutrition utilization and intestinal histology. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 10, p. 4302-4314, 2020.

HOFFMANN, Lilianna et al. Mealworm meal use in sea trout (*Salmo trutta m. trutta*, L.) fingerling diets: effects on growth performance, histomorphology of the gastrointestinal tract and blood parameters. **Aquaculture Nutrition**, v. 27, n. 5, p. 1512-1528, 2021.

HOSSEINI SHEKARABI, Seyed Pezhman; SHAMSAIE MEHRGAN, Mehdi; BANAVREH,

Akbar. Feasibility of superworm, *Zophobas morio*, meal as a partial fishmeal replacer in fingerling rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, diet: growth performance, amino acid profile, proteolytic enzymes activity and pigmentation. **Aquaculture Nutrition**, v. 27, n.

4, p. 1077- 1088, 2021.

HUA, Katheline et al. The future of aquatic protein: implications for protein sources in aquaculture diets. *One Earth*, v. 1, n. 3, p. 316-329, 2019.

HUA, Katheline. A meta-analysis of the effects of replacing fish meals with insect meals on growth performance of fish. *Aquaculture*, v. 530, p. 735732, 2021.

HUANG, Bocheng et al. Effects of fishmeal replacement by black soldier fly on growth performance, digestive enzyme activity, intestine morphology, intestinal flora and immune response of pearl gentian grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀× *Epinephelus lanceolatus*♂). *Fish & Shellfish Immunology*, v. 120, p. 497-506, 2022.

IPIFF. The European insect sector today: challenges, opportunities and regulatory landscape. 2018.

JANNATHULLA, Rajabdeen et al. Fishmeal availability in the scenarios of climate change: Inevitability of fishmeal replacement in aquafeeds and approaches for the utilization of plant protein sources. *Aquaculture Research*, v. 50, n. 12, p. 3493-3506, 2019.

KONG, Feng et al. Effect of Steam Explosion on Structural Characteristics of β -Conglycinin and Morphology, Chemical Compositions of Soybean Meal. *Frontiers in Nutrition*, v. 9, 2022.

KUMAR, S., F. L. Garcia-Carreno, R. Chakrabarti, M. A. N. Toro, and J. H. Cordova-Murueta. "Digestive proteases of three carps *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Hypophthalmichthys molitrix*: partial characterization and protein hydrolysis efficiency." *Aquaculture Nutrition* 13, no. 5 (2007): 381-388.

LI, Xiao et al. Substituting fish meal with housefly (*Musca domestica*) maggot meal in diets for bullfrog *Rana (Lithobates) catesbeiana*: Effects on growth, digestive enzymes activity, antioxidant capacity and gut health. *Aquaculture*, v. 499, p. 295-305, 2019.

LILAND, Nina S. et al. Modulation of nutrient composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae by feeding seaweed-enriched media. *PloS one*, v. 12, n. 8, p. e0183188, 2017.

LUZ, Ronald Kennedy et al. Performance and stress resistance of Nile tilapias fed different crude protein levels. *Revista brasileira de zootecnia*, v. 41, p. 457-461, 2012.

MAGALHÃES, Rui 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, Harinder PS et al. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal feed science and technology*, v. 197, p. 1-33, 2014.

MELENCHÓN, F. et al. Potential use of black soldier fly (*Hermetia illucens*) and mealworm (*Tenebrio molitor*) insectmeals in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, v. 27, n. 2, p. 491-505, 2020.

MELENCHÓN, Federico 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.

MENEGUZ, Marco et al. Effect of rearing substrate on growth performance, waste reduction efficiency and chemical composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 15, p. 5776-5784, 2018.

MIKOŁAJCZAK, Z. et al. The first insight into black soldier fly meal in brown trout nutrition as an environmentally sustainable fish meal replacement. **Animal**, v. 16, n. 5, p. 100516, 2022.

MITSUHASHI, Jun. Edible insects of the world. CRC press, 2016.

MOHAN, Kannan et al. Use of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry: A review of past and future needs. **Aquaculture**, p. 738095, 2022.

MOHAN, Kannan et al. Use of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry: A review of past and future needs. **Aquaculture**, p. 738095, 2022.

MORUZZO, Roberta; MANCINI, Simone; GUIDI, Alessandra. Edible insects and sustainable development goals. **Insects**, v. 12, n. 6, p. 557, 2021.

MOTOKI, Kosuke et al. Contextual acceptance of insect-based foods. **Food Quality and Preference**, v. 85, p. 103982, 2020.

MOULA, Nassim et al. Performances of local poultry breed fed black soldier fly larvae reared on horse manure. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 1, p. 73-78, 2018.

MOUTINHO, S. et al. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae larvae meal in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles: Effects on liver oxidative status and fillet quality traits during shelf-life. **Aquaculture**, v. 533, p. 736080, 2021.

MULAZZANI, Luca et al. Acceptance of insect meal in aquaculture feeding: A stakeholder analysis for the Italian supply chains of trout and seabass. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 52, n. 2, p. 378-394, 2021.

NAKAMURA, Satoshi et al. Small-scale rearing of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae), in the laboratory: low-cost and year-round rearing. **Applied entomology and zoology**, v. 51, p. 161-166, 2016.

NAYLOR, Rosamond L. et al. A 20-year retrospective review of global aquaculture. **Nature**, v. 591, n. 7851, p. 551-563, 2021.

NOGALES-MÉRIDA, Silvia et al. Insect meals in fish nutrition. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 4, p. 1080-1103, 2019.

ORDOÑEZ-ARAQUE, Roberto; EGAS-MONTENEGRO, Erika. Edible insects: A food alternative for the sustainable development of the planet. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 23, p. 100304, 2021.

PELLETIER, Nathan et al. Nutritional attributes, substitutability, scalability, and environmental intensity of an illustrative subset of current and future protein sources for aquaculture feeds: Joint consideration of potential synergies and trade-offs. **Environmental science & technology**, v. 52, n. 10, p. 5532-5544, 2018.

RENNA, Manuela 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. 1-13, 2017.

RINAUDO, Marguerite. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in polymer science*, v. 31, n. 7, p. 603-632, 2006.

ROQUES, Simon et al. Metabolomics and fish nutrition: a review in the context of sustainable feed development. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 1, p. 261-282, 2020.

SÁNCHEZ-MUROS, M^AJ et al. Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 5, p. 943- 955, 2016.

SCHLÜTER, Oliver et al. Safety aspects of the production of foods and food ingredients from insects. **Molecular nutrition & food research**, v. 61, n. 6, p. 1600520, 2017.

SHEPPARD, D. Craig, Jeffery K. Tomberlin, John A. Joyce, Barbara C. Kiser, and Sonya M. Sumner. "Rearing methods for the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae)." **Journal of medical entomology** 39, no. 4 (2002): 695-698.

SILVA, W. S. et al. Gene expression, enzyme activity and performance of Nile tilapia larvae fed with diets of different CP levels. *animal*, v. 13, n. 7, p. 1376-1384, 2019.

SINGH, Anshika et al. Effect of Different Organic Substrates on Selected Life History Traits and Nutritional Composition of Black Soldier fly (*Hermetia illucens*). **Environmental Entomology**, v. 51, n. 1, p. 182-189, 2022.

SMETANA, Sergiy; SCHMITT, Eric; MATHYS, Alexander. Sustainable use of *Hermetia illucens* insect biomass for feed and food: Attributional and consequential life cycle assessment. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 144, p. 285-296, 2019.

SOETEMANS, Lise; UYTTEBROEK, Maarten; BASTIAENS, Leen. Characteristics of chitin extracted from black soldier fly in different life stages. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 3206-3214, 2020.

SOETEMANS, Lise; UYTTEBROEK, Maarten; BASTIAENS, Leen. Characteristics of chitin extracted from black soldier fly in different life stages. **International journal of biological macromolecules**, v. 165, p. 3206-3214, 2020.

SPRANGHERS, Thomas 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.

SPRANGHERS, Thomas et al. Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 8, p. 2594-2600, 2017.

SRISAKULTIEW, Nattanan et al. Short initial period of high carbohydrate feeding improves nutrient utilisation in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed a high carbohydrate diet. **Aquaculture**, v. 561, p. 738661, 2022.

THOMPSON, Kenneth R., Alejandro Velasquez, Joshua T. Patterson, Linda S. Metts, Carl D. Webster, Yolanda J. Brady, Ann L. Gannam, Ron G. Twibell, and Susan L. Ostrand. "Evaluation of plant and animal protein sources as partial or total replacement of fish meal in diets for Nile tilapia fry and juvenile stages." **North American Journal of Aquaculture** 74, no. 3 (2012): 365-375.

TIPPAYADARA, Nisarath 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.

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

TRAN-NGOC KT, Haidar MN, Roem AJ, Sendão J, Verreth JA, Schrama JW. Effects of feed ingredients on nutrient digestibility, nitrogen/energy balance and morphology changes in the intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Research**. 2019 Sep;50(9):2577-90.

VALDÉS, Fabrizzio et al. Insects as Feed for Companion and Exotic Pets: A Current Trend. **Animals**, v. 12, n. 11, p. 1450, 2022.

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

VELDKAMP, Teun; BOSCH, Guido. Insects: a protein-rich feed ingredient in pig and poultry diets. **Animal Frontiers**, v. 5, n. 2, p. 45-50, 2015.

WAN, Alex HL et al. Macroalgae as a sustainable aquafeed ingredient. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 3, p. 458-492, 2019.

WANG, Guoxia 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.

WANG, Kaidong et al. Effect of replacement of fish meal with cricket meal on growth performance, proximate composition, digestive enzyme activities, serum biochemical indices, and antioxidant capacity in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Aquaculture Research**, v. 53, n. 15, p. 5354-5364, 2022.

WANG, Yu-S.; SHELOMI, M. Review of black soldier fly (*Hermetia illucens*) as animal feed and human food. *Foods*, v. 6, n. 10, p. 91, 2017.

WANG, Yu-Shiang; SHELOMI, Matan. Review of black soldier fly (*Hermetia illucens*) as animal feed and human food. *Foods*, v. 6, n. 10, p. 91, 2017.

WERU, Johnson; CHEGE, Pedro; KINYURU, John. Potencial nutricional de insetos comestíveis: uma revisão sistemática de dados publicados. *International Journal of Tropical Insect Science*, v. 41, n. 3, pág. 2015-2037, 2021.

WU, You et al. Generation of fast growth Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by myostatin gene mutation. *Aquaculture*, p. 738762, 2022.

XU, Hao et al. Transcriptome analysis reveals increases in visceral lipogenesis and storage and activation of the antigen processing and presentation pathway during the mouth-opening stage in zebrafish larvae. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 18, n. 8, p. 1634, 2017.

YILDIRIM-AKSOY, Mediha et al. Use of dietary frass from black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, in hybrid tilapia (Nile x Mozambique, *Oreochromis niloticus* x *O. mozambique*) diets improves growth and resistance to bacterial diseases. *Aquaculture Reports*, v. 17, p. 100373, 2020.

ZARANTONIELLO, Matteo et al. Partial dietary inclusion of *Hermetia illucens* (Black Soldier Fly) full-fat prepupae in zebrafish feed: biometric, histological, biochemical, and molecular implications. *Zebrafish*, v. 15, n. 5, p. 519-532, 2018.

ZHANG, Le et al. Partial replacement of soybean meal by yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal influences the flesh quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animal Nutrition*, v. 12, p. 108-115, 2023.

ZHOU, Z., E. Ringø, R. E. Olsen, and S. K. Song. "Dietary effects of soybean products on gut microbiota and immunity of aquatic animals: a review." *Aquaculture Nutrition* 24, no. 1 (2018): 644-665.

ZHU, Kun Yan et al. Biosynthesis, turnover, and functions of chitin in insects. *Annual review of entomology*, v. 61, p. 177-196, 2016.