

RAFAEL RUSTH COSTA TEIXEIRA

**Uso de farinha de bsf, *Hermetia illucens*, em dietas de juvenis de tilápias-do-nilo,
Oreochromis niloticus.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Leandro Santos Costa

Coorientador (a): Ana Lúcia Salaro

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2024

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

T266u
2024
Teixeira, Rafael Rusth Costa, 1994-
Uso de farinha de bsf, *Hermetia illucens*, em dietas de
juvenis de tilápias-do-nilo, *Oreochromis niloticus* / Rafael Rusth
Costa Teixeira. – Viçosa, MG, 2024.
1 dissertação eletrônica (22 f.): il.

Orientador: Leandro Santos Costa.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Zootecnia, 2024.

Referências bibliográficas: f. 18-22.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.459>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Aquicultura. 2. Tilápia (Peixe) - Alimentação e rações.
3. Tilápia (Peixe) - Registros de desempenho. 4. Estresse
oxidativo. 5. Farinha de insetos. I. Costa, Leandro Santos, 1984-
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia.
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 639.3774


RAFAEL RUSTH COSTA TEIXEIRA

**Uso de farinha de bsf, *Hermetia illucens*, em dietas de juvenis de tilápias-do-nilo,
Oreochromis niloticus.**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 23 de fevereiro de 2024.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **RAFAEL RUSTH COSTA TEIXEIRA**
Data: 02/08/2024 10:44:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Rafael Rusth Costa Teixeira
(Autor)

Documento assinado digitalmente
 **LEANDRO SANTOS COSTA**
Data: 02/08/2024 10:24:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Leandro Santos Costa
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as conquistas e desafios superados.

Aos meus pais, Geovani Aparecido Braga Teixeira e Maria da Conceição Aparecida Costa, e à minha irmã, Fernanda Rusth Costa Teixeira, por acreditarem e me incentivarem nessa jornada. Apesar de todas as dificuldades, não deixaram de me apoiar.

A minha namorada, Kelma Saraiva, por ter me apoiado e incentivado nos momentos bons e ruins, tornando meus dias mais alegres e leves com a sua companhia.

Ao meu orientador professor Leandro Santos Costa, por ter me proporcionado várias oportunidades, tendo compartilhado seus conhecimentos e ajudado a me tornar um profissional melhor.

Ao professor Rodrigo Fortes por me acolher em seu laboratório, ter me oferecido diversas oportunidades e apoio nos momentos necessários.

A professora Ana Lúcia Salaro, pela coorientação e todos os ensinamentos.

A toda equipe do laboratório, desde os estagiários até os alunos de pós-graduação, por todos os ensinamentos, os momentos inesquecíveis e apoio ao longo dessa jornada.

A todos os amigos do Departamento de Zootecnia pelo apoio e amizade todo esse tempo, que estiveram disponíveis a ajudar quando necessário.

A Empresa Júnior de Zootecnia, EJZ consultoria, por todo aprendizado e experiência que me trouxeram.

Aos integrantes do grupo de estudos em piscicultura, GEPI, por terem acreditado nesse projeto e terem o tornado possível.

Ao CNPq pela concessão da minha bolsa e a Fapemig por financiar esse projeto de pesquisa (APQ-01516-22).

A empresa BSF Nutrição e Biotecnologia LTDA pela doação da farinha de mosca soldado negro usada nesse trabalho.

A empresa PATENSE pela doação da farinha de peixe usada nesse trabalho.

A Universidade Federal de Viçosa, a todos os professores, funcionários e colaboradores.

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

Resumo

A aquicultura tem apresentado grande crescimento no mundo, sendo a tilápia uma das espécies de maior destaque entre os peixes de cultivo. Dessa forma, a produção de ração tem acompanhado esse aumento e, com isso, surge a necessidade de recorrer a novos ingredientes. As farinhas insetos vêm ganhando a atenção de pesquisadores e produtores nos últimos anos, pelo fato dos insetos apresentarem um ciclo de vida muito curto e não necessitarem de grandes espaços para sua produção. Dentre os insetos utilizados para produção de farinha, a mosca soldado negro (BSF) apresenta grande destaque pelo fato de poder ser produzida com resíduos, se tornando um bioconversor muito interessante. Os resultados já encontrados no uso da BSF como ingrediente de rações de peixes ainda são bastante controversos. Isso se dá pelo fato da sua composição variar bastante de acordo com o método produtivo e o processamento. Nesse contexto, o objetivo com esse trabalho foi avaliar o uso da farinha de BSF em dietas de juvenis de tilápia, sobre os parâmetros de desempenho produtivo, estresse oxidativo e enzimas digestivas. Foram utilizados 300 tilápias ($20 \pm 0,05\text{g}$), distribuídas em 12 caixas, contendo 25 animais por caixa. O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 4 tratamentos e 3 repetições, sendo esses tratamentos 4 níveis de inclusão de farinha de BSF (0, 25, 50 e 75 g kg^{-1}). Ao final do período experimental, os animais foram pesados e contados para calcular as variáveis de desempenho produtivo; 5 animais por unidade experimental foram eutanasiados para coletar amostras de fígado e intestino, a fim de realizar as análises de estresse oxidativo e enzimas digestivas. O desempenho produtivo dos animais não diferiu estatisticamente entre os tratamentos. O estresse oxidativo apresentou diferenças significativas para a enzima Super Oxido Dismutase (SOD), o que indicou o melhor resultado para o nível calculado de $36,7 \text{ g kg}^{-1}$. As enzimas digestivas quimiotripsina, amilase e lipase apresentaram um aumento de atividade de acordo com o aumento na quantidade do ingrediente nas dietas, indicando que os animais tiveram dificuldades para digerir os ingredientes, já que o desempenho produtivo não apresentou melhoras. Portanto, podemos concluir que a de farinha de BSF pode ser usada na nutrição de tilápia até o nível de 75 g kg^{-1} , de acordo com os resultados encontrados nesse estudo.

Palavra-chave: Aquicultura; Desempenho produtivo; Enzimas digestivas; Estresse oxidativo; Farinha de insetos.

Abstract

Aquaculture has shown great growth in the world, with tilapia being one of the most prominent species among farmed fish. Therefore, feed production has followed this increase and, thus, the need to resort to new ingredients arises. Insect meals have been gaining the attention of researchers and producers in recent years, due to the fact that insects have a very short life cycle and do not require large spaces for their production. Among the insects used for meal production, the black soldier fly (BSF) stands out due to the fact that it can be produced with remains, becoming a very interesting bioconverter. The results already found in the use of BSF as an ingredient in fish feed are still quite controversial. This is due to the fact that its composition varies greatly depending on the production method and processing. In this context, the objective of this work was to evaluate the use of BSF flour in diets of juvenile Nile Tilapia, regarding the parameters of productive performance, oxidative stress and digestive enzymes. 300 tilapia ($20 \pm 0.05\text{g}$) were used, distributed in 12 boxes, containing 25 animals per box. The experiment was conducted in a completely randomized design (DIC) with 4 treatments and 3 replications, these treatments being 4 inclusion levels of BSF meal (0, 25, 50 and 75 g kg^{-1}). At the end of the experimental period, the animals were weighed and counted to calculate the productive performance variables; 5 animals per experimental unit were euthanized to collect liver and intestine samples in order to perform oxidative stress and digestive enzyme analyzes. The productive performance of the animals did not differ statistically between treatments. Oxidative stress showed significant differences for the Super Oxide Dismutase (SOD) enzyme, which indicated the best result for the calculated level of 36.7 g kg^{-1} . The digestive enzymes chymotrypsin, amylase and lipase showed a behavior of increasing activity according to the increase in the amount of the ingredient in the diets, indicating that the animals had difficulties digesting the ingredients, since the productive performance did not show any improvements. Therefore, we can conclude that BSF meal can be used in tilapia nutrition up to the level of 75 g kg^{-1} , according to the results found in this study.

Keywords: Aquaculture; Digestive enzymes; Growth performance; Insect meal; Oxidative stress.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	7
2. Objetivo	8
3. Material e métodos	8
3.1. Comitê de ética	8
3.2. Ingredientes e dietas experimentais	8
3.3. Delineamento e condições experimentais.....	9
3.4. Desempenho produtivo.....	10
3.5. Coleta de amostras biológicas	11
3.6. Estresse oxidativo	11
3.7. Enzimas digestivas	12
3.8. Análise estatística	12
4. Resultados.....	13
4.1. Desempenho produtivo.....	13
4.2. Estresse oxidativo	13
4.3. Enzimas digestivas	14
5. Discussão	16
6. Conclusão	18
7. Referências bibliográficas	18

1. Introdução

A aquicultura tem apresentado um crescimento significativo nos últimos anos e o potencial de desenvolvimento do setor ainda é muito grande. Dentre os principais produtos da aquicultura, os peixes são os mais produzidos, sendo a maior parcela de peixes de ambientes dulcícolas, onde a tilápia, *Oreochromis niloticus*, é a terceira espécie mais produzida no mundo (FAO, 2022).

Com tamanho crescimento da aquicultura, a demanda por ração cresceu bastante. As dietas de peixes, por muito tempo, foram baseadas no uso de farinha de peixe e óleo de peixe. Porém, esses ingredientes têm se tornado mais escassos, devido a estagnação do extrativismo (FAO, 2022). Dessa forma, o uso de outros ingredientes se tornou uma necessidade (TURCHINI et al., 2019).

Dentre os substitutos, os ingredientes vegetais passaram a ser muito utilizados devido à sua facilidade de produção e baixo custo. Como outra alternativa, as farinhas de insetos ganharam bastante destaque nos últimos anos graças à sua produção sustentável, visto que é possível produzir os insetos a partir de resíduos.

A produção mundial de insetos passa de 60 mil toneladas. A expectativa é que a produção escale ainda mais. As espécies mais produzidas no mundo são o grilo, *Grillus assimilis*, a larva da farinha, *Tenebrio molitor*, e a mosca soldado negro (BSF), *Hermetia illucens* (GASCO et al., 2020; ROWE, 2020). Entre essas, a BSF ganha destaque por ser muito produtiva e conseguir ser produzida a partir de resíduos, o que faz dela um ótimo bioconversor, trazendo grandes vantagens para sua produção como ingrediente animal (MOUSAVI et al., 2020; NAIRUTI et al., 2021; PÉREZ-PACHECO et al., 2022).

Porém a BSF como ingrediente precisa ser bem estudada, pois sua composição apresenta grande variação de acordo com o método produtivo (AGBOHESSOU et al., 2021; LU et al., 2022; NAIRUTI et al., 2021; PÉREZ-PACHECO et al., 2022) e isso pode trazer diferentes resultados na utilização da BSF em dietas de peixes (MOUSAVI et al., 2020). No entanto, esse aspecto também pode abrir oportunidades, pois é possível modular a composição das farinhas tendo em vista diferentes estratégias nutricionais (AGBOHESSOU et al., 2021; GASCO et al., 2020).

Quando avaliamos um ingrediente, não podemos nos restringir a avaliar seu efeito no desempenho produtivo dos animais; é importante entender como esse alimento afeta a saúde dos animais de forma integral (CHOWDHURY & SAIKIA, 2020; HOSEINIFAR et al., 2020; TANGA & EKESI, 2024).

Dessa forma, a hipótese com este trabalho é que a farinha de BSF usada em dietas de Tilápia melhora o desempenho produtivo, reduz o estresse oxidativo e aumenta a produção de enzimas digestivas.

2. Objetivo

O objetivo com esse estudo é avaliar o efeito da inclusão de farinha de mosca soldado negro em dietas de juvenis de tilápia sobre o desempenho produtivo, estresse oxidativo e enzimas digestivas.

3. Material e métodos

3.1. Comitê de ética

Este estudo foi realizado no Setor de Piscicultura, da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e foi aprovado pelo comitê de ética para uso de animais, CEUA, na mesma instituição sob protocolo n° 039/22.

3.2. Ingredientes e dietas experimentais

Os ingredientes foram obtidos e moídos em moinho de martelo utilizando uma peneira de 0,8 mm. A farinha de BSF foi obtida da empresa BSF Nutrição e Biotecnologia LTDA. Após pesados, os ingredientes foram misturados e as dietas extrusadas em extrusora (Imbramax40, Imbramaq Ltda., Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil), com pellets de 2 a 4mm. A ração foi produzida na fábrica de ração da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

As dietas experimentais (Tabela 1) foram formuladas baseadas na demanda nutricional da tilápia de acordo com as tabelas brasileiras de nutrição de tilápias (FURUYA, 2010), de forma que todos os tratamentos possuíssem as mesmas concentrações de proteína e energia.

Tabela 1: Formulação das dietas experimentais.

Ingredientes	0 g kg⁻¹	25 g kg⁻¹	50 g kg⁻¹	75 g kg⁻¹
BSF	0,00	25,00	50,00	75,00
Farelo de soja	317,02	281,30	245,59	209,86
Fubá de milho	250,00	250,00	250,00	250,00
Farelo de trigo	203,58	217,59	231,59	245,61
Farinha de peixe	100,00	100,00	100,00	100,00
Farinha de vísceras	70,00	70,00	70,00	70,00
Óleo de soja	44,20	40,04	35,88	31,72
Fosfato bicálcico	5,00	5,00	5,00	5,00
Sal	5,00	5,00	5,00	5,00
Premix	5,00	5,00	5,00	5,00
Celulose	0,00	0,87	1,74	2,61
BHT	0,20	0,20	0,20	0,20
Composição nutricional analisada (%)				
Matéria Seca	90,86	90,88	91,61	91,26
Proteína Bruta	29,98	28,48	28,79	29,43
Extrato Etéreo	3,21	3,12	3,13	3,12
Matéria Mineral	7,83	8,02	8,13	7,86
Energia bruta (Kcal kg ⁻¹)*	3000	3000	3000	3000

*Energia bruta calculada.

3.3.Delineamento e condições experimentais

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 3 repetições, sendo 4 níveis de inclusão de farinha de BSF (0, 25, 50 e 75 g kg⁻¹). Foram utilizados juvenis de tilápia (20 ± 0,05g), distribuídos em 12 caixas de fibra de vidro com capacidade de 150 litros, contendo 25 animais por caixa, e totalizando 300 animais. Foi utilizado um sistema de recirculação de água (RAS), dotado de filtro mecânico, biológico e esterilização UV.

O laboratório possui sistema de aeração e aquecimento que controla a temperatura por meio de uma sonda PT100, que está ligada em um termostato N540, o qual foi regulado para 28°C. Os animais foram tratados 2 vezes por dia até a saciedade aparente (8:00 e 14:00h) por 60 dias. O fotoperíodo foi controlado por timer analógico ligando às 7:00 horas e desligando automaticamente às 19:00 horas. Os parâmetros liminológicos foram monitorados diariamente.

O pH foi mensurado com um pHmetro digital portátil com duas casas decimais de precisão (Bernauer, F-1005). O oxigênio dissolvido foi medido com um oxímetro digital portátil (Bernauer, F-1550A). A amônia foi medida com kits colorimétricos (Labcon). Os parâmetros

de qualidade de água foram mantidos dentro da faixa ótima para a criação da espécie (ZIMMERMANN & FITZSIMMONS, 2004).

3.4. Desempenho produtivo

Ao final do período experimental, os animais passaram por um período de jejum de 24 horas para que fosse realizada a coleta de dados de desempenho produtivo. Os animais foram anestesiados com óleo de cravo, Eugenol 30 mg l⁻¹ (ZAHHRAN et al., 2021), pesados e contados.

A partir dos dados coletados os parâmetros de desempenho produtivo foram avaliados pelas fórmulas descritas abaixo:

Ganho em peso (GP):

$$GP = PF - PI$$

Taxa de crescimento específico (TCE):

$$TCE = \left(\frac{\ln PF - \ln PI}{T} \right) * 100$$

Eficiência alimentar (EA):

$$EA = \frac{GP}{CR}$$

Conversão alimentar aparente (CAA):

$$CAA = \frac{CR}{GP}$$

Taxa de eficiência proteica (TEP):

$$TEP = \frac{GP}{PC}$$

Taxa de sobrevivência (TS):

$$TS = \frac{NPF}{NPI} * 100$$

Onde:

PF = Peso final médio dos peixes (g);

PI = Peso inicial médio dos peixes (g);

CR = Consumo de ração (g);

T = Tempo (dias);

PC = Proteína consumida (g);

NPF = Número de peixes final;

NPI = Número de peixes inicial.

3.5. Coleta de amostras biológicas

Na coleta final, foram amostrados 5 peixes de cada unidade experimental, totalizando 60 animais ao fim do período experimental. Os animais foram eutanasiados com superdosagem de Benzocaína administrada via branquial, equivalente a 300 mg l⁻¹. A secção da medula espinhal foi realizada após observar-se sintomas de anestesia profunda, como falta de movimentos operculares e reflexos motores, de acordo MCFARLAND (1959) apud ROSS e ROSS (2009). Foram coletadas amostras de fígado e intestino proximal, com o intuito de realizar análises de estresse oxidativo e atividade enzimática, respectivamente. As amostras foram armazenadas em freezer até a realização das análises.

3.6. Estresse oxidativo

As análises de atividade enzimática foram realizadas no Laboratório de Enzimologia, localizado no Laboratório de Pesquisa Animal, da UFLA. Para a preparação do extrato bruto, amostras de fígado foram pesadas (Shimadzu AUW220D) e homogeneizadas (Ultra Turrax T18) em solução salina gelada (NaCl 0,138 M; KCl 0,0027 M; pH 7,2) na proporção de 1:5 (peso:volume). Após centrifugação (Beckman Coulter Microfuge® 20R) a 3300 g por 15 min a 4 °C, o sobrenadante foi separado e mantido a -80 °C para posterior análise.

A atividade da catalase (CAT; EC 1.11.1.6) foi medida avaliando a redução de H₂O₂ a 240 nm de acordo com AEBI (1984). A atividade da superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) foi determinada com base na autooxidação do pirogalol pelo método de MADESH e BALASUBRAMANIAN (1997) e leitura de absorbância a 570 nm. A atividade da glutathione peroxidase (GPX; EC 1.11.1.9) foi determinada medindo a taxa de oxidação do fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADPH) na presença de H₂O₂ usando glutathione reduzida (GSH) e glutathione redutase (GR) como substratos a 340 nm (GÜNZLER et al., 1984). A atividade da glutathione redutase (GR; EC 1.8.1.7) foi determinada medindo a oxidação do NADPH a 340 nm, conforme descrito por CARLBERG e MANNERVIK (1975). A atividade da glutathione-S-transferase (GST; EC 2.5.1.18) foi quantificada a 340 nm usando 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) como substrato de acordo com HABIG et al. (1974).

A peroxidação lipídica foi avaliada medindo a produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) a 530 nm (BUEGE e AUST, 1978). O conteúdo de proteína carbonila

(PCO) foi determinado após a derivação de 2,4-Dinitrofenilhidrazina (DNPH) (REZNICK e PACKER, 1994).

O método de Bradford foi utilizado para determinar os níveis de proteína dos extratos. Todas as amostras foram analisadas em triplicata utilizando um leitor de microplacas (Multiskan GO, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA). As atividades enzimáticas foram expressas como atividades específicas.

3.7. Enzimas digestivas

As análises de atividade enzimática foram realizadas no Laboratório de Enzimologia localizado no Laboratório de Pesquisa Animal, da UFLA. Os tecidos intestinais foram pesados em balança analítica (Shimadzu AUW220D) e homogeneizados (Ultra Turrax T18) em solução tampão gelada (tampão tris-HCl, pH = 7,5) na proporção de 1:5 (peso:volume). Posteriormente, as amostras foram centrifugadas (Beckman Coulter Microfuge® 20R) a 3300 g por 15 min a 4 °C e o sobrenadante foi separado e mantido a -80 °C por determinação subsequente de atividades enzimáticas.

As atividades de amilase (EC3.2.1.1) e lipase (EC 3.1.1.3) foram avaliadas utilizando kits comerciais (Gold Analisa Cat. 311 e 304, respectivamente) adaptados para amostras de intestino de peixes. A atividade da quimotripsina (EC 3.4.21.1) foi determinada usando éter etílico de N-benzoil-L-tirosina (BTEE) como substrato e a absorvância lida a 256 nm (WORTHINGTON BIOCHEMICAL CORPORATION, 1991). A atividade da tripsina (EC 3.4.21.4) foi determinada usando N α -benzoil-L-arginina-4-nitroanilida (BApNA) como substrato e a absorvância lida a 410 nm (ERLANGER et al., 1961).

O teor de proteína dos extratos brutos foi determinado pelo método de BRADFORD (1976). Todas as amostras foram analisadas em triplicata utilizando um leitor de microplacas (Multiskan GO, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA). Os resultados das enzimas digestivas são expressos como atividade específica (U mg proteína⁻¹).

3.8. Análise estatística

Os dados foram analisados usando análise de variância (ANOVA) usando o pacote estatístico SAS (Statistical Analysis System). Para se detectar diferenças significativas entres os níveis, as médias foram comparadas por regressão a 5% de significância. Os contrastes

ortogonais foram comparados para encontrar o que melhor se adequa, sendo avaliados os contrastes lineares, quadraticos e cúbicos. Interações que apresentaram interação quadrática foi calculado o ponto de mínimo ou de máximo, derivando e igualando a zero a equação.

4. Resultados

4.1. Desempenho produtivo

O desempenho produtivo dos animais não foi afetado pelos tratamentos (Tabela 2); o peso final dos animais foi de $102,87 \pm 3,89$ g (p -valor=0,9836); o ganho de peso dos animais foi de $82,86 \pm 3,93$ g (p -valor=0,5964); a taxa de crescimento específico foi de $2,72 \pm 0,06$ % dia⁻¹ (p -valor=0,6382); e o consumo de ração foi de $75,34 \pm 4,01$ g por animal (p -valor=0,8145). A eficiência alimentar e a conversão alimentar foram de $0,91 \pm 0,03$ g g⁻¹ (p -valor=0,5527) e $1,10 \pm 0,04$ g g⁻¹ (p -valor=0,6502), respectivamente, e a taxa de eficiência proteica foi de $1,70 \pm 0,07$ g g⁻¹ (p -valor=0,7364). Foi observada uma taxa de sobrevivência de 100% para todos os tratamentos.

Tabela 2: Desempenho produtivo de juvenis de tilápia alimentadas com dietas contendo farinha de BSF.

Parâmetros	0 g kg ⁻¹	25 g kg ⁻¹	50 g kg ⁻¹	75 g kg ⁻¹	CV	p -valor
PI (g)	20,00 ± 0,04	20,00 ± 0,08	20,01 ± 0,04	20,01 ± 0,06	0,2533	0,9836
PF (g)	105,64 ± 3,39	102,49 ± 2,58	102,24 ± 5,18	101,12 ± 4,64	3,7908	0,5908
GP (g)	85,64 ± 3,39	82,49 ± 2,65	82,22 ± 5,23	81,10 ± 4,71	4,7486	0,5964
TCE (% dia ⁻¹)	2,77 ± 0,05	2,72 ± 0,04	2,72 ± 0,08	2,70 ± 0,08	2,4277	0,6382
CR (g)	77,00 ± 3,98	73,74 ± 4,28	74,62 ± 5,72	75,99 ± 3,49	5,3242	0,8145
EA (g g ⁻¹)	0,90 ± 0,07	0,89 ± 0,03	0,91 ± 0,01	0,94 ± 0,01	4,2568	0,5527
CAA (g g ⁻¹)	1,11 ± 0,09	1,12 ± 0,03	1,10 ± 0,02	1,07 ± 0,01	4,3417	0,6502
TEP (g g ⁻¹)	1,67 ± 0,13	1,71 ± 0,05	1,73 ± 0,03	1,67 ± 0,02	4,1442	0,7364
TS (%)	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	0	

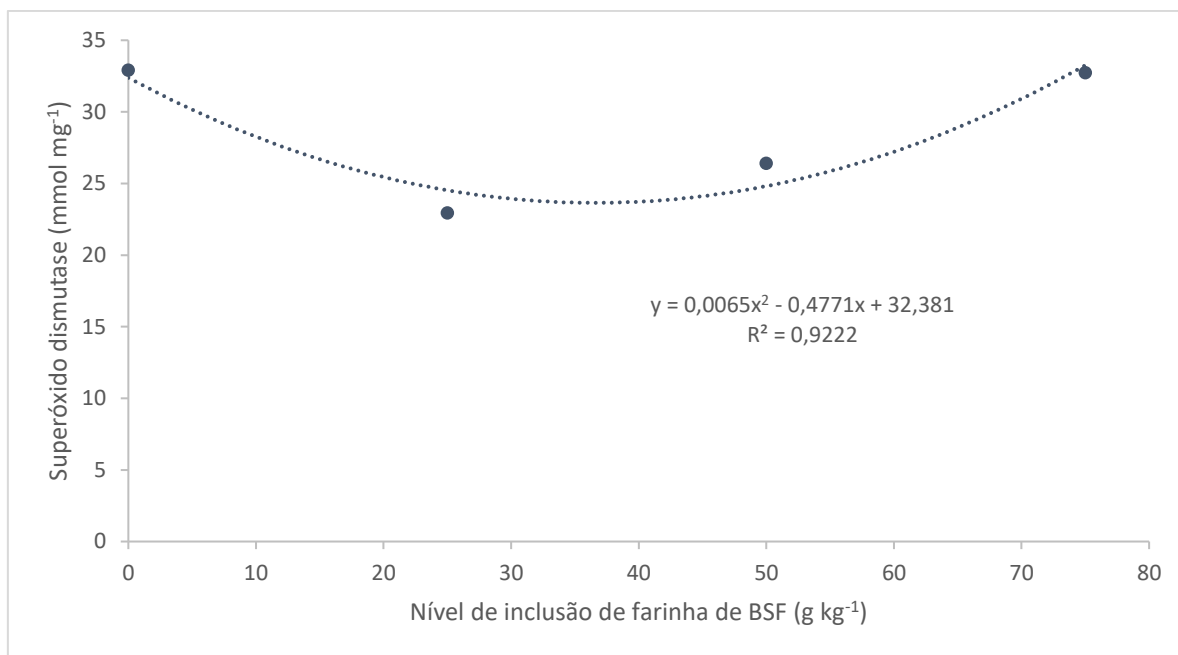
PI: Peso inicial, PF: Peso final, GP: Ganho de peso, CR: Consumo de ração, EA: Eficiência alimentar, CAA: Conversão alimentar aparente, TCE: Taxa de Crescimento específico, TEP: Taxa de eficiência proteica, TS: Taxa de sobrevivência.

4.2. Estresse oxidativo

A CAT e GST não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos, contendo os valores de $103,98 \pm 33,67$ mmol mg⁻¹ (p -valor=0,9794) e $28,88 \pm 9,50$ mmol mg⁻¹ (p -valor=0,1592), respectivamente. O TBAR também não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, com $4,41 \pm 1,02$ µmol ml⁻¹ (p -valor=0,6932).

Já a enzima superóxido dismutase apresentou diferença significativa entre os tratamentos (p -valor=0,0075), sendo a inteiração quadrática a mais adequada dentre os contrastes ortogonais avaliados (p -valor=0,0010 e $r^2=0,9222$). A parábola encontrada é convexa e o valor calculado para menor concentração de SOD foi de dietas com 36,7 g kg⁻¹.

Figura 1: Gráfico da interação da enzima superóxido dismutase (SOD) avaliada em juvenis de tilápia alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de farinha de BSF.



4.3. Enzimas digestivas

A tripsina não diferiu estatisticamente entre os tratamentos, sendo de 83,21 ± 49,97 U mg⁻¹ (p -valor=0,2283). A quimiotripsina diferiu entre os tratamentos com uma interação quadrática alta (p -valor=0,0124 e $r^2=0,9586$), onde o valor de menor concentração de enzimas encontrado foi de 26,61 g kg⁻¹.

A amilase também apresentou diferença estatística com interação linear (p -valor=0,0155 e $r^2=0,4981$). A lipase teve uma interação linear, com aumento da sua concentração com os tratamentos com maiores níveis de inclusão de farinha de BSF (p -valor=0,0118).

Figura 2: Gráfico da interação da enzima digestiva Quimiotripsina avaliada em juvenis de tilápia alimentados em diferentes níveis de farinha de BSF.

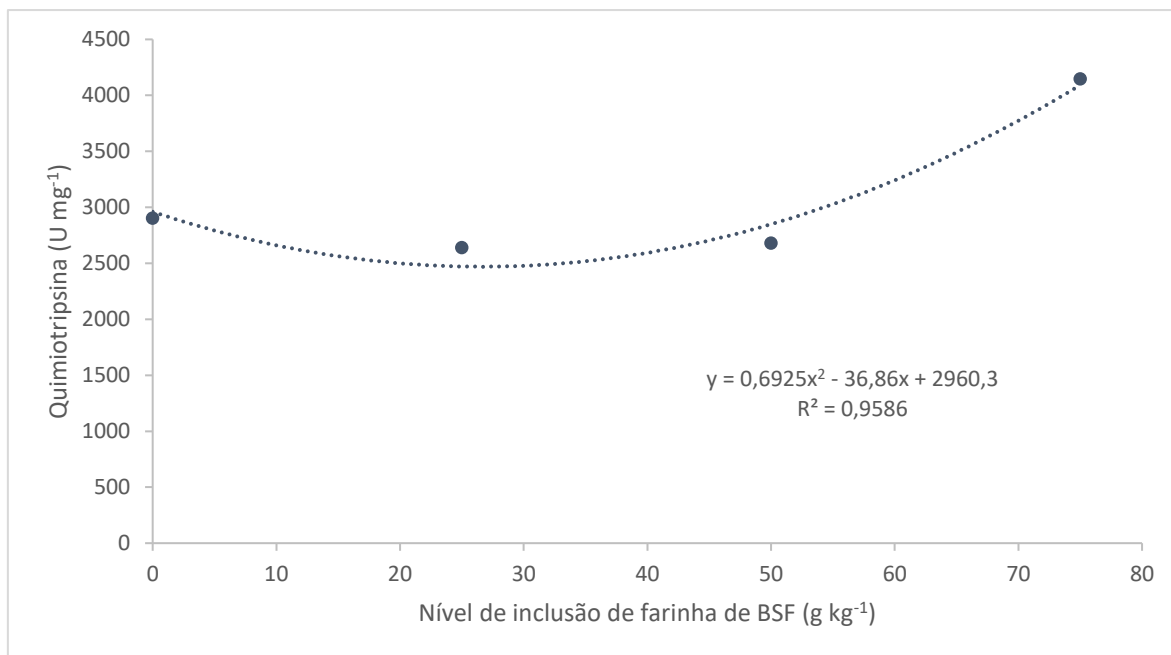


Figura 3: Gráfico da interação da enzima digestiva Amilase, avaliada em juvenis de tilápia alimentados em diferentes níveis de farinha de BSF.

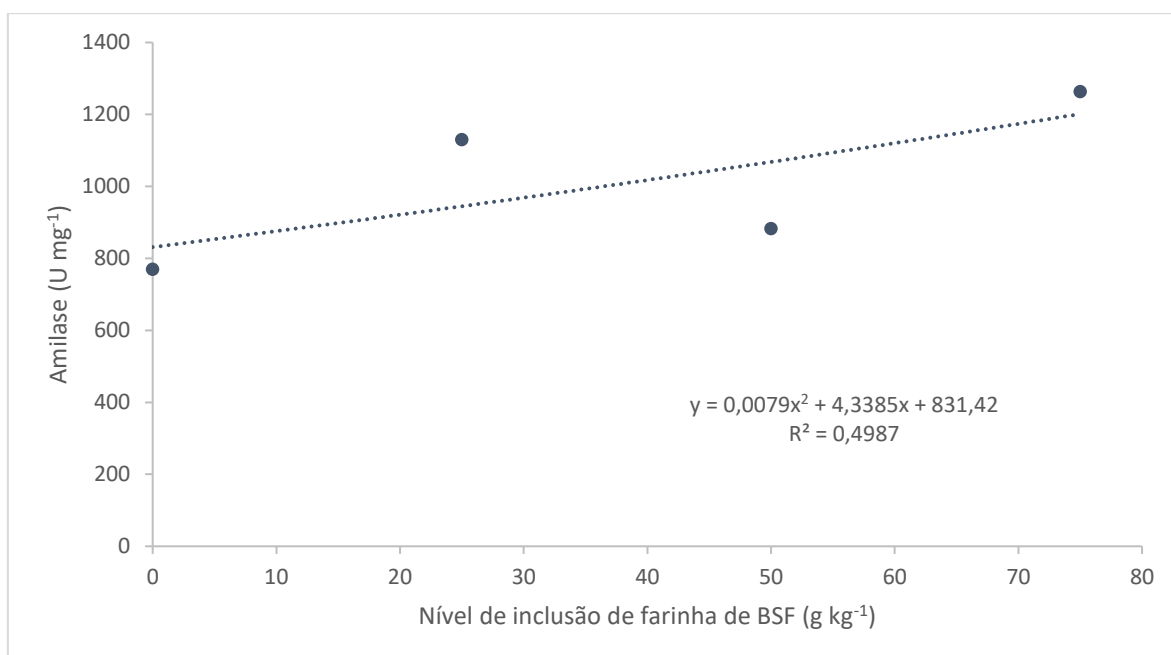
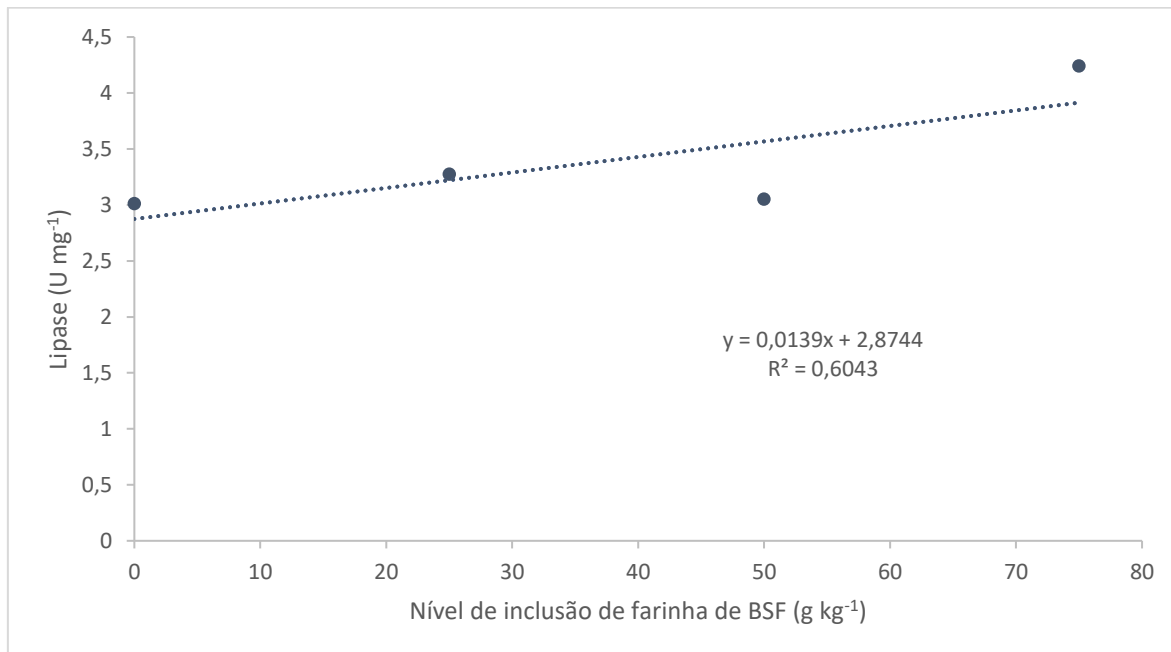


Figura 4: Gráfico da interação da enzima digestiva Lipase, avaliada em juvenis de tilápia alimentados em diferentes níveis de farinha de BSF.



5. Discussão

No presente estudo, os parâmetros de desempenho produtivo não foram afetados pelos tratamentos (Tabela 2), o que significa que segundo esse trabalho a BSF pode ser usada para tilápias até o nível de 75 g kg⁻¹ sem prejudicar o crescimento dos animais.

Os trabalhos com uso de farinha de BSF apresentam resultados muito controversos para desempenho produtivo, alguns autores não encontraram diferenças no desempenho produtivo dos peixes, como quando avaliado para carpas comum, *Cyprinus carpio*, carpa capim, *Ctenopharyngodon idellus*, dourada, *Spatus aurata*, tilápias, *Oreochromis niloticus*, tambaqui, *Colossoma macropomum*, com os respectivos níveis, 107 g kg⁻¹ (LI et al., 2017), 255 g kg⁻¹ (LU et al., 2020), 157 g kg⁻¹ (DI ROSA et al., 2023), 80 g kg⁻¹ (DEVIC et al., 2018) e 300 g kg⁻¹ (MONTEIRO DOS SANTOS et al., 2022).

Para o bagre amarelo, *Pelteobagrus fulvidraco*, níveis de 141 e 169 g kg⁻¹, prejudicaram o ganho de peso e peso final (HU et al., 2017). Com esturjão, *Acipenser baerii*, níveis de inclusão de 375 g kg⁻¹, prejudicaram o crescimento e níveis de 185 g kg⁻¹, prejudicaram o consumo de ração e a digestão de proteínas (CAIMI et al., 2020).

Outros trabalhos já apresentaram resultados positivos para o crescimento, como foi visto para esturjão, *Acipenser baerii*, e tilápia, *Oreochromis niloticus*, níveis entre 100 e 300 g kg⁻¹ e

282,1 e 423,3 g kg⁻¹, respectivamente, melhoraram o ganho de peso e conversão alimentar (RAWSKI et al., 2020; PEREZ-VELAZQUEZ et al., 2024).

Essa variação de resultados pode estar relacionada com a composição nutricional da BSF que varia bastante de acordo com o substrato utilizado como alimento, que vai apresentar diferentes proporções de ácidos graxos, aminoácidos e quitina (AGBOHESSOU et al., 2021; LU et al., 2022; NAIRUTI et al., 2021; PÉREZ-PACHECO et al., 2022). O método de preparo da farinha também é importante, na comparação da farinha integral com a desengordurada para Dourada, *Spatus aurata*, a farinha desengordurada em níveis até 116 g kg⁻¹, não prejudicou o desempenho, porém a BSF integral prejudicou o desempenho até nos menores níveis de inclusão (KARAPANAGIOTIDIS et al., 2023).

A CAT e GST não foram afetadas pela inclusão de BSF nos níveis avaliados no estudo. TBAR também não apresentou efeito significativo nesse trabalho. Alguns autores encontram efeitos negativos para inclusão de BSF na dieta de peixes sobre parâmetros de estresse oxidativo, porém, como MOUSAVI et al. (2020) indicam, em alguns trabalhos o efeito não está diretamente relacionado com o uso da BSF, mas sim com carências nutricionais não corrigidas na formulação das dietas.

A redução de enzimas antioxidantes pode ser correlacionada com um prejuízo para o animal, onde ele estaria com uma capacidade reduzida de se proteger de espécies reativas de oxigênio (JOMOVA et al., 2023; SIES, 2020). Porém nesse estudo, a SOD apresentou uma redução, mas também foi avaliado a concentração de TBARs, que são produtos secundários da oxidação lipídica (LUSHCHAK, 2011), onde os tratamentos não influenciaram nas concentrações encontradas.

Quando a concentração de uma enzima antioxidante reduz é esperado que a quantidade de radicais livres e seus subprodutos aumente no organismo (JOMOVA et al., 2023), se esses valores não foram afetados, algo impediu o desenvolvimento desses compostos. Então é possível correlacionar a maior resistência ao estresse oxidativo encontrado nesse estudo com a inclusão da BSF na dieta. Como já foi descrito por HUANG et al., (2024) o poder antioxidante da BSF como antioxidante in vivo e in vitro. É importante atentar que a BSF atuou promovendo a redução do estresse oxidativo, quando usado em baixos níveis de inclusão, sendo o melhor valor calculado para dietas de 36,7 g kg⁻¹.

O aumento dos teores de farinha de BSF na dieta, resultou em uma maior atividade das enzimas quimiotripsina, amilase e lipase. Uma maior atividade enzimática também foi relatada em Snakehead, *Channa striata* (MUSLIMIN et al., 2023), Mussum, *Monopterus albus* (HU et al., 2020), Garoupa, *Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*, (HUANG et al., 2022) e para Tilápia, *Oreochromis niloticus* (NAVEED et al., 2023).

Como a quantidade de enzimas digestivas aumentaram e o desempenho produtivo dos animais não foi melhorado, esse comportamento pode ter sido causado pelo efeito antinutricional da quitina presente na BSF, pois ela reduz a digestibilidade dos nutrientes (FONTES et al., 2019; EGGINK et al., 2022), então a maior produção de enzimas foi importante para que os animais conseguissem aproveitar melhor os nutrientes e conseguir manter o desempenho produtivo.

O que também pode ter favorecido a diferença na quantidade de enzimas digestivas, entre os tratamentos, é o uso do farelo de soja nas dietas, com o aumento dos teores de BSF, as concentrações de farelo de soja reduziram. A soja apresenta diversos fatores antinutricionais que já são bastante conhecidos (KOKOU & FOUNTOULAKI, 2018), entre eles a redução de enzimas digestivas já foi comprovada em tilápias (MA et al., 2022). Então a variação encontrada pode ter sido uma combinação entre os efeitos da soja e da BSF na nutrição dos animais.

Como a diferença encontrada para enzimas antioxidantes e a variação das enzimas digestivas não influenciaram o desempenho produtivo dos animais, a farinha de BSF pode ser usada até 75 g kg⁻¹ das dietas nas condições que foi realizado esse estudo.

6. Conclusão

Podemos concluir com o resultado desse estudo que a BSF pode ser usada para juvenis de Tilápias até o nível de 75 g kg⁻¹ das dietas, sem que ocorra prejuízo do desempenho produtivo dos animais.

7. Referências bibliográficas

AEBI, H. Catalase in vitro. **Meth. Enzymol.**, v. 105, p. 121-126, 1984.

AGBOHESSOU, Pamphile 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, 2021.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BUEGE, John A.; AUST, Steven D. [30] Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 52, p. 302-310, 1978.

CAIMI, Christian et al. First insights on Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal dietary administration in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt) juveniles. **Aquaculture**, v. 515, p. 734539, 2020.

CARLBERG, Incer; MANNERVIK, Bengt. Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. **Journal of biological chemistry**, v. 250, n. 14, p. 5475-5480, 1975.

CHOWDHURY, S.; SAIKIA, S. K. Oxidative Stress in Fish: A Review. **Journal of Scientific Research**, v. 12, n. 1, 2020.

DEVIC, Emilie et al. Growth performance, feed utilization and body composition of advanced nursing Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) larvae meal. **Aquaculture nutrition**, v. 24, n. 1, p. 416-423, 2018.

DI ROSA, Ambra Rita et al. Influence of *Hermetia illucens* larvae meal dietary inclusion on growth performance, gut histological traits and stress parameters in *Sparus aurata*. **Animals**, v. 13, n. 3, p. 339, 2023.

EGGINK, Kylian Manon et al. Chitin digestibility and intestinal exochitinase activity in Nile tilapia and rainbow trout fed different black soldier fly larvae meal size fractions. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 16, p. 5536-5546, 2022.

ERLANGER, Bernard F.; KOKOWSKY, Nicholas; COHEN, William. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 95, n. 2, p. 271-278, 1961.

FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>

FONTES, Táfanie Valácio et al. Digestibility of insect meals for Nile tilapia fingerlings. **Animals**, v. 9, n. 4, p. 181, 2019.

FURUYA, Wilson Massamitu et al. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. 2010.

GASCO, Laura et al. Insect and fish by-products as sustainable alternatives to conventional animal proteins in animal nutrition. **Italian Journal of Animal Science**, v. 19, n. 1, p. 360-372, 2020.

GÜNZLER, W. A. et al. The amino-acid sequence of bovine glutathione peroxidase. **Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie**, v. 365, p. 195-212, 1984.

HABIG, William H. et al. The identity of glutathione S-transferase B with ligandin, a major binding protein of liver. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 71, n. 10, p. 3879-3882, 1974.

- HOSEINIFAR, Seyed Hossein et al. Oxidative stress and antioxidant defense in fish: the implications of probiotic, prebiotic, and synbiotics. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, v. 29, n. 2, p. 198-217, 2020.
- HU, Junru et al. Effects of substitution of fish meal with black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal, in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) diets. **Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh**, v. 69, 2017.
- HU, Yajun et al. Effect of partial black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal replacement of fish meal in practical diets on the growth, digestive enzyme and related gene expression for rice field eel (*Monopterus albus*). **Aquaculture Reports**, v. 17, p. 100345, 2020.
- 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.
- HUANG, Wangxiang et al. Physicochemical, functional, and antioxidant properties of black soldier fly larvae protein. **Journal of Food Science**, v. 89, n. 1, p. 259-275, 2024.
- JOMOVA, Klaudia et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging. **Archives of toxicology**, v. 97, n. 10, p. 2499-2574, 2023.
- KARAPANAGIOTIDIS, Ioannis T. et al. Fishmeal replacement by full-fat and defatted *Hermetia illucens* prepupae meal in the diet of gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Sustainability**, v. 15, n. 1, p. 786, 2023.
- KOKOU, Fotini; FOUNTOULAKI, Eleni. Aquaculture waste production associated with antinutrient presence in common fish feed plant ingredients. **Aquaculture**, v. 495, p. 295-310, 2018.
- LI, Senlin 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.
- LU, Ronghua et al. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal can replace soybean meal in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) diets. **Aquaculture Reports**, v. 18, p. 100520, 2020.
- LU, Shengyong et al. Nutritional composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) and its potential uses as alternative protein sources in animal diets: A review. **Insects**, v. 13, n. 9, p. 831, 2022.
- LUSHCHAK, Volodymyr I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic toxicology**, v. 101, n. 1, p. 13-30, 2011.
- MA, Shifeng et al. Anti-Nutritional Factors and Protein Dispersibility Index as Principal Quality Indicators for Soybean Meal in Diet of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* GIFT), a Meta-Analysis. **Animals**, v. 12, n. 14, p. 1831, 2022.
- MADESH, M.; BALASUBRAMANIAN, K. A. Activation of liver mitochondrial phospholipase A2 by superoxide. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 346, n. 2, p. 187-192, 1997.

- MCFARLAND WN. A study of the effects of anaesthetics on the behaviour and physiology of fishes. **Pub Inst Mar Sci**, v. 6, p. 22–55, 1959.
- MONTEIRO DOS SANTOS, Driely Kathriny et al. Defatted black soldier fly larvae meal as a dietary ingredient for tambaqui (*Colossoma macropomum*): Digestibility, growth performance, haematological parameters, and carcass composition. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 18, p. 6762-6770, 2022.
- MOUSAVI, Seyedehlaleh; ZAHEDINEZHAD, Somayeh; LOH, Jiun Yan. A review on insect meals in aquaculture: The immunomodulatory and physiological effects. **International Aquatic Research**, v. 12, n. 2, p. 100-115, 2020.
- MUSLIMIN, Boby et al. Impact of black soldier fly (*Hermetia illucens*) fresh meal on the growth performance, digestive enzymes, hematology, and intestinal histology of corks fish (*Channa striata*). **Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences**, v. 47, n. 4, p. 324-333, 2023.
- NAIRUTI, Rita Nkirote et al. Utilization of black soldier fly (*Hermetia illucens* Linnaeus) larvae as a protein source for fish feed—a review. **Aquaculture Studies**, v. 22, n. 2, 2021.
- NAVEED, Muhammad et al. Efficacy of an Insect-Based Diet with Addition of Probiotics on Growth, Proximate Composition, Enzymatic Efficiency, and Immune Response of Nile Tilapia. **Aquaculture Nutrition**, v. 2023, 2023.
- PÉREZ-PACHECO, Rafael et al. Growth of the black soldier fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) on organic-waste residues and its application as supplementary diet for Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae). **Insects**, v. 13, n. 4, p. 326, 2022.
- PEREZ-VELAZQUEZ, M.; MILLANES-MORA, M. A.; GONZÁLEZ-FÉLIX, M. L. Assessment of hydrolysis of partially defatted black soldier fly larvae meal in diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 307, p. 115831, 2024.
- RAWSKI, Mateusz et al. Black soldier fly full-fat larvae meal as an alternative to fish meal and fish oil in Siberian sturgeon nutrition: The effects on physical properties of the feed, animal growth performance, and feed acceptance and utilization. **Animals**, v. 10, n. 11, p. 2119, 2020.
- REZNICK, A. Z.; PACKER, L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. **Methods in enzymology**, v. 233, p. 357-363, 1994.
- ROSS, Lindsay G.; ROSS, Barbara. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. John Wiley & Sons, 2009.
- ROWE, Abraham. **Insects farmed for food and feed—global scale, practices, and policy**. 2020.
- SIES, Helmut. Oxidative stress: Concept and some practical aspects. **Antioxidants**, v. 9, n. 9, p. 852, 2020.
- TANGA, Chrysantus Mbi; EKESI, Sunday. Dietary and Therapeutic Benefits of Edible Insects: A Global Perspective. **Annual Review of Entomology**, v. 69, p. 303-331, 2024.
- TURCHINI, Giovanni M.; TRUSHENSKI, Jesse T.; GLENCROSS, Brett D. Thoughts for the future of aquaculture nutrition: realigning perspectives to reflect contemporary issues related to judicious use of marine resources in aquafeeds. **North American Journal of Aquaculture**, v. 81, n. 1, p. 13-39, 2019.

Worthington Biochemical Corporation Worthington Enzyme Manual: Enzymes, Enzyme Reagents, Related Biochemical, 1991.

ZAHRAN, Eman; RISHA, Engy; RIZK, Awad. Comparison propofol and eugenol anesthetics efficacy and effects on general health in Nile Tilapia. **Aquaculture**, v. 534, p. 736251, 2021.

ZIMMERMANN, Sergio; FITZSIMMONS, Kevin. Tilapicultura intensiva. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical. São Paulo, SP: TecArt**, v. 1, p. 239-266, 2004.