

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

PEDRO FONTALVA FERREIRA

**Substituição de farinha de peixe por farinha de larvas da mosca
soldado negra (*Hermetia illucens*) em dietas de tilápia-do-nilo:
desempenho zootécnico e digestibilidade *in vitro***

Pirassununga

2021

PEDRO FONTALVA FERREIRA

Substituição de farinha de peixe por farinha de larvas da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) em dietas de tilápia-do-nylo: desempenho zootécnico e digestibilidade *in vitro*

(Versão corrigida)

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia e Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia do programa de pós graduação em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientadora: Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas.

Pirassununga

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F678s FERREIRA, PEDRO
Substituição de farinha de peixe por farinha de
larvas da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*)
em dietas de tilápia-do-nilo: desempenho zootécnico
/ PEDRO FERREIRA ; orientadora Elisabete Maria
Macedo Viegas . -- Pirassununga, 2021.
48 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Zootecnia. 2. Aquicultura. 3. Nutrição Animal.
4. Farinha de Insetos. I. Viegas , Elisabete Maria
Macedo, orient. II. Título.

PEDRO FONTALVA FERREIRA

Substituição de farinha de peixes por farinha de larvas da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) em dietas de tilápia-do-nilo: desempenho zootécnico e digestibilidade *in vitro*

Dissertação apresentada à
Faculdade de Zootecnia e Engenharia e
Alimentos da Universidade de São Paulo,
como parte dos requisitos para a obtenção
do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Data de aprovação: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora:

Prof. (a) Dr. (a) _____

Instituição _____

Presidente da Banca

Prof. (a) Dr. (a) _____

Instituição _____

Prof. (a) Dr. (a) _____

Instituição _____

Dedicatória

Aos meus pais Carlos e Vanda por todos os ensinamentos de vida, princípios e valores, além de toda a força, sacrifício e incentivo.

Aos meus irmãos Giovani e Talita também pela força e pelo apoio diário.

Aos meus sobrinhos Davi, Artur, Miguel e Luísa, pelo amor e pela alegria que trazem para minha casa e minha vida.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus pelo dom da vida, saúde e por me dar forças para persistir sempre até o fim.

A minha família, pais, irmãos, sobrinhos e avós, pelo auxílio, incentivo e compreensão em todos os momentos.

A Professora Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas pela orientação, oportunidade, paciência, dedicação, disponibilidade e compartilhamento de conhecimento durante todos esses anos de trabalho.

A Dra. Ligia Uribe Gonçalves pelo auxílio, dedicação e compartilhamento de conhecimento durante a reta final do experimento.

Ao Nelson Poli da empresa Sustente Eco Soluções pela doação das larvas de mosca soldado negra que foram utilizadas nesse estudo.

A equipe do projeto GIGAS do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia que processou as rações experimentais.

Ao Prof. Dr. José Eurico Possebon Cyrino que permitiu a utilização dos equipamentos do setor de piscicultura da ESALQ/USP para realizar o processo de extração de gordura das larvas de mosca soldado negra.

Aos funcionários Apolinário e Daflin do laboratório de Piscicultura da FZEA/USP pelo auxílio e dedicação durante todos os anos de experimento.

Aos meus colegas de laboratório pelo convívio, pelos trabalhos realizados e por todo o auxílio.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001A.

Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos pela oportunidade de realizar o mestrado.

**“Nunca saberemos o quão forte somos até
que ser forte seja a única escolha”
- Autor desconhecido**

RESUMO

FERREIRA, P. F. **Substituição de farinha de peixes por farinha de larvas da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) em dietas de tilápia-do-nylo: desempenho zootécnico e digestibilidade *in vitro***. 2021. 54 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

É emergente a necessidade de novos ingredientes proteicos para aquicultura devido a premente escassez de farinha de peixe, além do aspecto da preservação dos estoques pesqueiros utilizados em sua elaboração. A farinha de larva de mosca soldado negra pode ser uma alternativa interessante para rações para aquicultura devido ao seu alto teor de proteína. O objetivo do presente estudo foi avaliar o desempenho zootécnico de juvenis de tilápia alimentadas com rações formuladas com níveis crescentes de inclusão de farinha de insetos em substituição a farinha de peixes e a digestibilidade *in vitro* das rações experimentais. Foi realizado um experimento inteiramente casualizado constando de cinco tratamentos de níveis crescentes de inclusão de farinha desengordurada da mosca soldado negra (LMSN) em substituição à farinha de peixes (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) com quatro repetições de cada tratamento. Juvenis de tilápia ($43,66 \pm 4,52\text{g}$) foram alojados em tanques de fibra de vidro (100L; 5 peixes/tanque), em um sistema de recirculação, com aeração constante, temperatura e luminosidade controlados. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (08h e 16h) durante 75 dias. Durante o experimento foram realizadas duas biometrias, no início e ao fim do período experimental, a fim de avaliar o peso final e o ganho peso dos animais. Quanto a alimentação, a ração fornecida foi pesada para determinar parâmetros de consumo diário dos animais. Além disso, foram calculadas conversão alimentar (CA), taxa de eficiência proteica (TEP), taxa de crescimento específico (TCE) e taxa de sobrevivência (SOB). Para a composição corporal, foram separados três peixes por unidade experimental, congelados até o momento das análises, e avaliados os parâmetros de matéria seca, matéria mineral, extrato etéreo e proteína bruta das carcaças. A determinação da digestibilidade *in vitro* da proteína das rações experimentais foi realizada com a metodologia que utiliza a pepsina como responsável pela digestão ácida e a pancreatina pela digestão alcalina. Para as variáveis de desempenho zootécnico, o peso final, ganho de peso, conversão alimentar, taxa de eficiência proteica, taxa de crescimento específico e consumo diário não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$). O grupo de peixes alimentados com ração com 100% de LMSN apresentou menor taxa de sobrevivência ($p<0,05$). A matéria seca, a matéria mineral e o extrato etéreo não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) na carcaça

dos peixes. Porém, os peixes alimentados com ração 100% LMSN apresentaram menores teores de proteína bruta na carcaça ($p < 0,05$). Os coeficientes de digestibilidade para a proteína foram menores ($p < 0,05$) para as rações que continham 75% e 100% de LMSN. Portanto, a farinha de peixes pode ser substituída por farinha desengordurada da larva da mosca soldado negra em até 75% em rações extrusadas para juvenis de tilápia sem causar prejuízo no desempenho zootécnico.

Palavras-chave: alimentação, composição centesimal, ingredientes proteicos, farinha de insetos, nutrição, ração extrusada.

ABSTRACT

FERREIRA, P. F. **Dietary replacement of fish meal by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal for tilapia juveniles: growth performance and *in vitro* digestibility**. 2021. 54 f. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

There is an emergency need for new protein ingredients for aquafeed due to the continuous scarcity of fish meal, in addition to preserving the fishery stocks which are used in fish meal production. Black soldier fly larvae can be an interesting alternative to aquafeed due its high protein content. The aim of this study was to evaluate the growth performance of tilapia juveniles fed diets formulated with increasing levels of insect meal replacing fish meal and *in vitro* digestibility of experimental diets. A completely randomized experiment was carried out with five treatments of dietary increasing levels of black soldier fly larvae (BSFL) in replacement of fish meal (0%, 25%, 50%, 75% and 100%) with four repetitions each treatment. Tilapia juveniles ($43.66 \pm 4.52\text{g}$) were housed in fiberglass tanks (100L; 5 fish / tank), in a recirculation system, with constant aeration, controlled temperature and light. The fish were fed twice a day (8 am and 4 pm) for 75 days. During the experiment, two biometrics were performed, at the beginning and at the end of the experimental period, in order to assess the final weight and weight gain of the fish. The experimental feeds were weighed to determine the fish daily consumption parameters. In addition, feed conversion ratio (FCR), protein efficiency rate (PER), specific growth rate (SGR) and survival rate (SOB) were calculated. For body composition, three fish were separated per experimental unit, frozen until laboratory analyzes and the parameters of dry matter, mineral matter, ether extract and crude protein of the carcasses were evaluated. The determination of “*in vitro*” digestibility of protein in experimental diets was carried out with the methodology that uses pepsin as responsible for acid digestion and pancreatin for alkaline digestion. For the variables of growth performance: final weight, weight gain, feed conversion, protein efficiency rate, specific growth rate and daily consumption did not show significant difference ($p > 0.05$). The group of fish fed with diets with 100% BSFL showed a lower survival rate ($p < 0.05$). Dry matter, mineral matter and ether extract showed no significant difference ($p > 0.05$) in the fish carcass. However, fish fed with 100% BSFL showed lower levels of crude protein in the carcass ($p < 0.05$). The digestibility coefficients for protein were lower ($p < 0.05$) for diets that contained 75% and 100% BSFL. Therefore, dietary fish meal can be replaced by defatted meal from black soldier fly larvae up to 75% in extruded diets for juvenile tilapia with no damage to its growth performance.

Keywords: aquafeed, chemical composition, protein ingredients, insect meal, nutrition, extruded feed.

Lista de Figuras

Figura 1. Ciclo de vida da mosca Soldado Negra, <i>Hermetia illucens</i> à 25°.....	16
Figura 2. Processo de desenvolvimento da mosca Soldado Negra. Da fase inicial larval até a fase adulta	17
Figura 3. A) Larvas da mosca Soldado Negra secas; B) Larvas da mosca Soldado Negra secas e moídas; C) Larvas da mosca Soldado Negra secas, moídas e desengorduradas	22
Figura 4. A) Farinha de LMSN desengordurada; B) Ração formulada com 100% de farinha de peixe e 0% de farinha de LMSN; C) Ração formulada com 75% de farinha de peixe e 25% de farinha de LMSN; D) Ração formulado com 50% de farinha de peixe e 50% de farinha de LMSN; E) Ração formulada com 25% de farinha de peixe e 75% de LMSN; F) Ração formulada com 0% de farinha de peixe e 100% de farinha de LMSN	24
Figura 5. Análise de digestibilidade “in vitro”. A) processo de digestão ácida e alcalina em banho maria; B) resultado das 24 horas de digestão ácida e básica; C) material a ser analisado após a centrifugação; D) digestão da proteína bruta.....	26
Figura 6. A) unidades experimentais; B) Biometria dos peixes; C) Eutanásia com dose excessiva de anestésico.	28
Figura 7. Gráfico de regressão linear da relação entre a o peso vivo final dos animais e os tratamentos experimentais.....	32
Figura 8. Peixe apresentando sinais clínicos de disputa por dominância	34
Figura 9. Gráfico de regressão linear da relação entre a porcentagem de proteína bruta da carcaça e os tratamentos experimentais	348
Figura 10. Gráfico de regressão da relação entre a porcentagem de extrato etéreo da carcaça e os tratamentos experimentais.....	39
Figura 11. Gráfico de regressão linear da relação entre a Coeficiente de digestibilidade e os tratamentos experimentais.....	41

Lista de Tabelas

Tabela 1. Composição química das farinhas de peixe e de larva desengordurada da mosca soldado negra na matéria seca.....	23
Tabela 2. Formulação e composição química das dietas experimentais.....	25
Tabela 3. Valores médios \pm desvio padrão das variáveis de desempenho zootécnico de juvenis de tilápias alimentados com dietas formuladas com larvas de farinha de inseto em substituição à farinha de peixe.....	35
Tabela 4. Valores médios (\pm desvio padrão) da composição química das carcaças de juvenis de tilápias alimentados com dietas formuladas com de farinha de LMSN em substituição à farinha de peixe na base seca.....	37
Tabela 5. Valores médios \pm desvio padrão do coeficiente de digestibilidade da proteína (%) das dietas experimentais considerando os efeitos fixos de tratamento. Valores P, Coeficiente de Variação do Modelo (CV).....	40

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 TILÁPIA DO NILO	11
2.2 NUTRIÇÃO DE PEIXES	12
2.3 FARINHA DE PEIXES	14
2.4 FARINHA DE INSETOS	14
2.5 DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i>	20
3. OBJETIVOS E HIPÓTESES	21
3.1 OBJETIVO GERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3.3 HIPÓTESES	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS INGREDIENTES	22
4.2. FORMULAÇÃO E PROCESSAMENTO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS	23
4.3 EXPERIMENTO DE CRESCIMENTO – SUBSTITUIÇÃO DE FARINHA DE PEIXE POR FARINHA DE LARVAS DA MOSCA SOLDADO NEGRA EM DIFERENTES NÍVEIS NA DIETA DE TILÁPIAS DO NILO	26
4.4.1 Análise de composição centesimal	27
4.4 DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DA PROTEÍNA BRUTA	28
4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO	31
5.3 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS CARÇAÇAS	36
5.1 DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i>	39
6. CONCLUSÃO	42
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS	44

1. INTRODUÇÃO

Segundo publicação da Organização das Nações Unidas para a alimentação e aquicultura no ano de 2020, a produção global estimada de peixes atingiu cerca de 179 milhões de toneladas em 2018, com uma renda estimada US\$ 401 bilhões sendo que US\$ 250 bilhões foi proveniente da aquicultura (FAO, 2020). Em âmbito nacional, a produção brasileira de peixes apresentou um aumento de 4,9% no ano de 2019 (758.006 t) em relação ao ano anterior (722.560 t). Em 2019, a tilápia foi o peixe mais produzido, com 432.149 toneladas (ao redor de 57% de toda piscicultura brasileira), seguida pelos peixes nativos com 287.930 toneladas, ou seja, 38% da produção nacional (PEIXEBR, 2020).

Em uma produção aquícola, cerca de 40 a 60% do custo total é proveniente do insumo de ração, valor considerável quando comparado aos demais itens da produção. Dentro desse custo, os ingredientes proteicos são os que mais encarecem a fórmula da ração e dentre essas fontes, a de maior destaque é a farinha de peixe. A farinha de peixe é reconhecida pelo seu alto valor nutricional, com digestibilidade e palatabilidade elevadas para organismos aquáticos (SCORVO-FILHO et al., 2010), porém com o aumento da demanda e escassez no mercado, observa-se valores comerciais para farinha e óleo de peixe em constante ascensão.

O aumento crescente na produção animal expressa uma maior pressão quanto aos recursos alimentares, principalmente, dos ingredientes utilizados na formulação das rações. Assim, a busca por ingredientes alternativos se faz necessária, a fim de substituir alimentos convencionais como os farelos de soja e de trigo, farinha de peixes, entre outros, para diminuir a competição com a alimentação humana e apresentar maior sustentabilidade ambiental e econômica na produção animal (KHAN et al., 2016). Dentre os ingredientes alternativos disponíveis, a farinha de insetos se mostra interessante por sua palatabilidade, pela concentração de aminoácidos essenciais em sua composição e principalmente pelo alto teor proteico (FURUYA, 2010).

Em 2016, a FAO indicou a utilização do consumo de insetos para combater a fome, reduzir a poluição do ambiente e melhorar a nutrição animal. Deste modo, a criação de insetos para a produção de farinha se

mostra uma alternativa interessante para o fornecimento de nutrientes em dietas animais de forma segura, principalmente, como fonte proteica (VAN HUIS et al., 2016).

Na nutrição animal, os insetos entram na classificação como concentrado proteico, devido ao seu alto percentual de proteína na matéria seca, podendo assim, ser um substituto de ingredientes como as farinhas de carne e ossos, de peixe, de vísceras e farelo de soja (HENRY et al., 2015). Além de ser rica em proteínas e aminoácidos essenciais, a farinha de insetos fornece fibras, gordura e minerais, com destaque para o ferro, magnésio, selênio, zinco e cobre (HUIS et al., 2013). Em contrapartida, o teor de cálcio é baixo, havendo assim, a necessidade de suplementação deste elemento na dieta (MAKKAR et al., 2014).

Os insetos se reproduzem facilmente e suas larvas se alimentam de resíduos orgânicos e até inorgânicos (YANG et al., 2015). Dessa forma, reciclam os resíduos orgânicos produzindo proteína animal, cujas larvas vêm sendo utilizadas na alimentação tanto de aves, suínos e bovinos quanto para aquicultura (VELDKAMP et al., 2012). As espécies de insetos com maior potencial para produção em grande escala e que também apresentam grande volume de informações coletadas na literatura são: as larvas da mosca doméstica (*Musca domestica*) e da mosca soldado negra (*Hermetia illucens*), o bicho-da-seda (*Bombyx mori*) e o besouro (*Tenebrio molitor*). As larvas desses insetos, são reconhecidas por possuírem valores de proteína bruta elevados (30 a 50%), próximos aos valores da farinha de peixes e superior a proteína oriunda da soja (VAN HUIS, 2016). Dentre essas espécies, a que se mostra mais promissora para a confecção da farinha em grande escala é a larva da mosca soldado negra, pela sua fácil e rápida produção e pelos altos valores de proteína e energia digestível (VAN HUIS, 2016).

Para a aquicultura, pode ser uma ótima alternativa para substituir ingredientes tradicionais, uma vez que, além do alto valor nutritivo, o inseto está presente na alimentação natural dos peixes (principalmente os onívoros, como por exemplo a tilápia), não prejudicando assim a palatabilidade da dieta (VAN HUIS, 2016).

2. REVISÃO DE LITERATURA

A aquicultura tem como definição um sistema de produção de organismos aquáticos, incluindo peixes, moluscos, crustáceos e plantas aquáticas (TACON e METIAN, 2008). Consiste no setor de produção de proteína com maior crescimento nos últimos anos (FAO, 2020). O Brasil possui um enorme potencial para o desenvolvimento da aquicultura, devido aos seus recursos hídricos, condições climáticas e aos diversos ecossistemas, possibilitando o cultivo das mais variadas espécies (SEBRAE, 2015).

2.1 TILÁPIA DO NILO

Tilápia é a designação dada a um grupo de ciclídeos de origem africana. Esses peixes pertencem a família *Cichlidae*, da ordem *Peciformes*, maior ordem de animais vertebrados, contendo aproximadamente 70 espécies, com 100 subespécies; dentre elas as de maior destaque para a aquicultura são: *Sarotherodon*, *Tilapia* e *Oreochromis* (POPMA; MASSER, 1999; McANDREW, 2000). Originárias da África, Jordânia e Israel, as tilápias possuem a carne branca e ausente de espinhos intramusculares, por isso, apresenta grande procura no mercado consumidor. Além de suas qualidades organolépticas e nutricionais presentes em seus filés, esses animais são considerados rústicos, pois se adaptam a diferentes sistemas de produção, com boa resistência a variações nos parâmetros de qualidade de água, como por exemplo, águas com maior salinidade ou com temperaturas mais baixas (MEURER et al., 2002).

A tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) foi importada para o território nacional em 1971, pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS). É um peixe de hábito alimentar onívoro, com precocidade reprodutiva e que se reproduz facilmente (SILVA; LIMA; BLANCO, 2009). Sua criação é uma das maiores do mundo, sua produção atinge 135 países, estando presente em todos os continentes (FAO, 2020). Atualmente, o Brasil é um dos maiores produtores do mundo, ocupando a quarta posição, e isso se deve aos recursos disponíveis em seu território, como clima, disponibilidade de grãos, e capacidade hídrica (PEIXEBR, 2019).

Outros fatores que proporcionam um aumento no cultivo de tilápias são o melhoramento genético avançado para a espécie, sua fácil adaptação com alimentação artificial desde as fases iniciais, reversão sexual com alta confiabilidade, resistência ao manejo, possibilidade de cultivo nos mais diversos sistemas de produção, tais como extensivo, semi-intensivo, intensivo e *raceways* e tanques-rede (KUBITZA, 2015). Outro destaque em sua produção é a resistência a doenças e tolerância ao manejo em condições extremas, como por exemplo alta densidade ou escassez de alimentos (PONTES, 2011). Devido a esse potencial produtivo, a tilapicultura apresenta um aumento constante no Brasil, e por isso, é a espécie que vem sendo cada vez mais estudada (TACHIBANA et al., 2010).

2.2 NUTRIÇÃO DE PEIXES

Com o aumento da produtividade e o avanço da aquicultura com a agroindústria, a busca por ingredientes de qualidade se torna cada dia maior, para que a formulação de dietas seja mais viável economicamente, sem que haja diminuição na qualidade (CYRINO et al. 2010). A base das rações brasileiras produzidas para a aquicultura é composta por subprodutos da pesca e aquicultura, resíduos do processamento de animais terrestres ou da agricultura. Sendo assim, é constituída por produtos de origem animal, vegetal e até mineral (PASTORE et al. 2012).

O desenvolvimento dos peixes se dá basicamente pelo fornecimento dos nutrientes necessários em suas quantidades adequadas. Deste modo, a formulação de dietas que atendam às exigências quantitativas e qualitativas dos animais de acordo com a sua espécie e fase de vida são fundamentais para o sucesso na produção (ALMEIDA, 2014). Para os processos biológicos envolvidos para manutenção e produção de todos os organismos vivos é necessário o fornecimento de energia. Essa energia pode ser obtida por meio da oxidação de compostos orgânicos pós digestão e absorção de alimentos ou pela quebra de reservas corporais (glicogênio, gorduras e proteínas) (KAUSHIK; MÉDALE, 1994).

A composição básica dos nutrientes consiste em água, lipídios, carboidratos e proteínas e no caso de dietas formuladas para peixes, a

proteína e os lipídios são os principais pois são eles que fornecem energia e são os principais responsáveis pelo crescimento e desempenho dos peixes, uma vez que os peixes têm dificuldade em digerir carboidratos, porém os onívoros têm boa atividade da enzima amilase (PORTZ; FURUYA, 2013). Entretanto, para que esses nutrientes consigam servir de combustível para os animais é necessário que sejam assimilados pelo organismo, por meio da digestão e da absorção. Alguns componentes das dietas, apresentam resistência à digestão e então são excretados em forma de matéria fecal (BUREAU; KAUSHIK; CHO, 2002). Cada espécie tem uma exigência nutricional, uma vez que a morfologia, fisiologia digestiva e anatomia funcional são variáveis (GONÇALVES et al., 2013). Assim como outros peixes de água doce, a tilápia exige os mesmos dez aminoácidos essenciais, sendo que a proteína ideal depende de fatores como origem e qualidade da fonte proteica, tamanho e idade dos peixes. Para as larvas de tilápia-do-nilo com peso de 0,02 a 1g, preconiza-se a utilização de 45 a 50% de proteína na dieta, para alevinos com peso médio entre 1 e 10g de 35 a 40%, para juvenis de 10 a 25g de 30 a 35% e para adultos em fase de crescimento (>25g) de 28 a 30% (NRC, 2011).

A energia não é considerada um nutriente, porém é resultado da oxidação de nutriente no metabolismo podendo ser armazenada para ser utilizada em processos metabólicos do animal ou liberada como calor (NRC, 2011). Os peixes têm uma necessidade energética menor que a dos outros animais homeotérmicos, uma vez que são pecilotérmicos (sua temperatura varia de acordo com a temperatura ambiente), gastam pouca energia para locomoção (devido a água ser um facilitador) e precisam de uma quantidade menor de energia para a excreção do nitrogênio pois a maioria é excretado na forma de amônia (FERNANDES et al., 2001).

As tilápias utilizam bem gorduras e carboidratos como fonte energética, isso permite que a proteína das rações seja destinada predominantemente para o crescimento quando a mesma é bem formulada, com a relação energia/proteína adequada. A exigência estimada de energia digestível para tilápias é 3036 kcal/Kg para peixes com menos de 100g e de 3075 para peixes com mais de 100g. Deste modo, o balanço entre energia digestível e

proteína nas dietas é fundamental para que o crescimento e a conversão alimentar sejam maximizados (FURUYA, 2010).

2.3 FARINHA DE PEIXE

A farinha de peixe é classificada como uma fonte proteica de origem animal e é utilizada na indústria de rações para diversos animais, como animais de companhia, suinocultura, avicultura e aquicultura. No segmento da aquicultura, esse ingrediente tem grande potencial, tanto para peixes de água doce, quanto para peixes marinhos, em especial as espécies onívoras e carnívoras (NRC, 2011; MILLES, CHAPMAN, 2018). Esse ingrediente é proveniente do processamento do rejeito de produtos pesqueiros que não tem valor comercial e/ou de resíduos de filetagem, sendo que a maior parte é oriunda da pesca extrativista (FAO, 2016). Para sua produção são utilizadas várias espécies marinhas, porém atualmente existe certa diminuição na quantidade de organismos capturados, devido à fenômenos climáticos (como o “El Niño”), sua exploração da pesca extrativa, além da poluição e contaminação dos oceanos (FAO, 2016).

Além desse declínio na captura de pescado, a farinha de peixes é um ingrediente também utilizado em outros ramos da agroindústria, aumentando a sua demanda e conseqüentemente reduzindo o uso para a aquicultura (FAO, 2016). Por isso, torna-se uma fonte proteica de alto valor de mercado, sendo emergente a busca por ingrediente proteicos alternativos à farinha de peixe, com menor preço e que atendam às exigências nutricionais dos peixes (MONTROYA-CAMACHO et al. 2019).

O alto valor nutricional da farinha de peixe está relacionado com a sua composição em aminoácidos essenciais, fosfolipídios e ácidos graxos essenciais, os quais estão associados ao bom desenvolvimento larval, crescimento e reprodução dos organismos aquáticos (MILLES; CHAPMAN, 2018).

2.4 FARINHA DE INSETOS

Segundo a Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) são mais de 2000 espécies de insetos que podem ser utilizados na alimentação

animal, a maioria provinda de países tropicais, sendo os mais comuns das ordens: Orthoptera (gafanhotos, grilos, térmitas), Hymenoptera (abelhas, vespas, formigas), Hemiptera (cigarra, percevejos, insetos de escala), Odonata (libélulas), Coleoptera (besouro) e insetos da família Diptera (moscas).

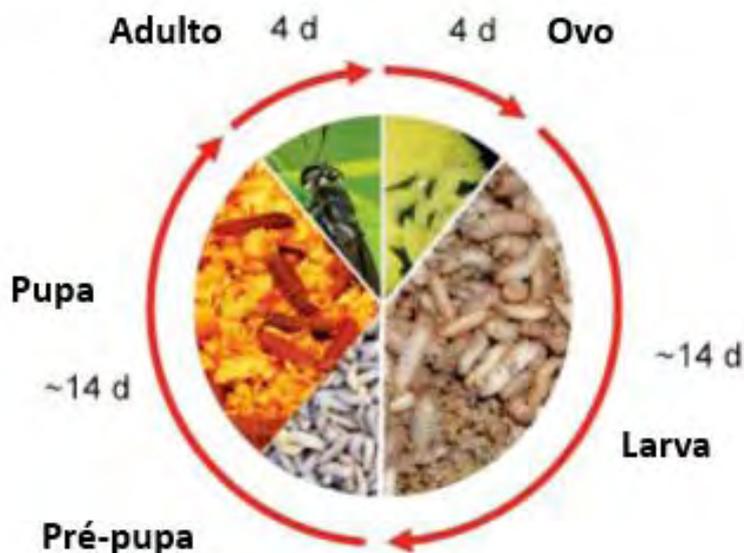
As principais espécies comerciais são o tenébrio (*Tenebrio molitor*), mosca comum (*Musca domestica*), mosca soldado negro (*Hermetia illucens*), grilo doméstico (*Acheta domestica*), grilo africano (*Gryllus bimaculatus*), gafanhotos (*Locusta migratoria*), bicho de seda (*Bombyx mori*), tenébrio gigante (*Zophobas morio*), cascudinho (*Alphitobius diaperinus*), entre outros (EFSA, 2015). Esses insetos possuem vantagens na produção pois se alimentam facilmente, apresentam ciclo de vida curto e podem ser criados em substratos simples como por exemplo alimentos em decomposição provenientes de feiras, refeitórios e afins, resultando em agilidade na produção e maior economia (EFSA, 2015).

A criação da mosca soldado negra tem sido realizada desde a década de 1990, como um método eficiente de utilizar resíduos orgânicos, diminuindo a quantidade de material poluente e produzindo uma fonte de proteína e gordura em potencial para a alimentação animal e produção de biodiesel (DIENER et al., 2011; VAN HUIS et al., 2013). Essa mosca tem como características a resistência e capacidade de sobreviver e se proliferar em condições adversas, como escassez de alimentos, baixos níveis de oxigênio e falta de água (DIENER et al., 2011). Uma vantagem importante sobre outras espécies de insetos criadas para produção é que o adulto não se alimenta, portanto não necessita de cuidados particulares e não é agente intermediário de doenças. Já a fase larval, se mostra de fácil secagem e armazenamento (VELDKAMP et al., 2012).

A mosca soldado negra é a espécie mais promissora para produção em alta escala, possuindo assim um grande potencial para a indústria de ração animal, pois as larvas (fase utilizada para a produção da farinha) apresentam alta taxa de crescimento; curto ciclo de desenvolvimento (em torno de 15 dias) (Figura 1); alta taxa de sobrevivência; grande número de oviposição; aumento elevado da biomassa diária; alta taxa de conversão alimentar; além

de viver bem em alta densidade e ser resistente a doenças (VAN HUIS., et al. 2013).

Figura 1 - Ciclo de vida da mosca Soldado Negra, *Hermetia illucens* à 25°.



Fonte: Revista **Investiga Tec.**, Ano 2, No. 4, janeiro 2009.

O ciclo de vida da mosca soldado negra vai de ovo até a fase adulta, passando pelos estágios de pupa e pré-pupa, quando as larvas têm uma mudança de cor característica (do branco ao preto), sendo que desse modo sabemos a hora correta da extração para a secagem e confecção da farinha (Figura 2) (VAN HUIS., et al. 2013). Outro fator determinante é que a produção de larvas da mosca soldado negra pode ser feita no substrato, reutilizando a matéria orgânica que seria descartada e diminuindo a poluição, pois os insetos produzem menor quantidade de gases causadores do efeito estufa, quando comparados a criação de outras espécies, além de se alimentar de resíduos e compostagem, aumentando assim a sustentabilidade (FAO, 2013).

Figura 2. Processo de desenvolvimento da mosca soldado negra, da fase inicial larval até a fase adulta



Fonte: Dos Santos, 2020.

Na dieta animal, os insetos entram na classificação como concentrado proteico, devido ao seu alto percentual de proteína na matéria seca (de 20 a 65%), podendo assim ser um substituto de ingredientes como farinha de carne e ossos, de peixe, de vísceras e farelo de soja (HENRY et al., 2015).

A farinha da larva mosca soldado negra tem uma alta concentração lipídica, sendo que a gordura proveniente de sua produção é rica em ácidos graxos poli-insaturados, especialmente, os ácidos graxos linolênico e linoleico. Porém, a sua gordura possui deficiência em ácidos graxos altamente insaturados, tanto da série ômega-3, quanto da série ômega-6 (HUIS et al. 2013). Esse ingrediente além de fonte proteica também possui grande valor biológico (quando utilizado na alimentação de peixes), alta palatabilidade e funciona como fonte de fibras, minerais e gordura, com destaque para o ferro, magnésio, selênio, zinco e cobre (VAN HUIS, 2016). Em contrapartida o índice de cálcio é baixo, havendo assim a necessidade de suplementação deste elemento na dieta (MAKKAR et al., 2014).

Quando comparado ao farelo de soja, a farinha de larvas da mosca soldado negra desengordurada tem níveis superiores de proteína, e quando a comparação é com a farinha de peixes, os níveis proteicos são equivalentes, mostrando então que a farinha de insetos é um bom substituto

para esses ingredientes (SANCHEZ-MUROS; BARROS; MANZANOAGUGLIARO., 2014).

Uma comparação entre a proteína oriunda de insetos e de outras espécies animais pode-se citar que a cada 100g da barata da espécie *Cinéria*, 60% é composto por proteína, a cada 100g de grilos 48%, é proteína. Enquanto a cada 100g de carne bovina ou de frango cerca de 20% é proteína (HUIS et al., 2013). Quanto às quantidades de aminoácidos essenciais, a farinha de larvas da mosca soldado negra possui níveis menores de histidina, tripofano e lisina, porém esses aminoácidos podem ser suplementados e possui níveis superiores em tirosina e metionina quando comparados a farinha de peixes e ao farelo de soja (VELDKAMP et al., 2012).

Por ser uma área em expansão, a maioria dos estudos com a introdução de proteínas de insetos encontra-se no setor de piscicultura pelo fato dos insetos já fazerem parte da cadeia alimentar dos peixes na natureza (HUIS; DICKE; VAN LOON., 2015). OGUNJI et al. (2008) estudaram a introdução de larvas de mosca doméstica como fonte proteica na alimentação de tilápias-do-nilo, obtendo taxa de crescimento de aproximadamente 3,76% ao dia e conversão alimentar de 1,05 (taxas consideradas boas para produção animal), resultados que provavelmente foram obtidos pelo bom nível de aminoácidos das larvas quando comparados a farinha de peixe, ingrediente substituído).

Na literatura pesquisada encontram-se alguns trabalhos nos quais a farinha de insetos foi utilizada como ingrediente em dietas para peixes. Quando a farinha de peixes foi substituída em 50-60% pela farinha de larvas de moscas domésticas na alimentação de alevinos de tilápias foi observado crescimento e desenvolvimento semelhantes dos animais ao tratamento com dieta controle (EZEWUDO, MONEBI e UGWUMBA, 2015). O mesmo aconteceu quando a substituição foi na alimentação da espécie *catfish* africano (*Clarias gariepinus*) (ANIEBO, ERONDU e OWEN 2009).

A substituição de 40% de farinha de peixes por farinha de tenébrio para o *catfish* africano não apresentou diferença significativa no crescimento e desenvolvimento quando comparados aos alimentados com dieta comercial (NG et al., 2001). Da mesma forma, PICCOLO et al. (2014) substituíram 25% da farinha de peixe por farinha de tenébrio na alimentação de juvenis da

dourada (*Sparus aurata*) e não foi observada diferença no ganho de peso e no peso final dos exemplares.

Devenic et al. (2014) em seu experimento com juvenis de tilápia-do-nilo (peso inicial 6g) substituiu a farinha de peixe por farinha desengordurada de LMSN em níveis de 30, 40 e 70% nas dietas e não se observou diferenças no desempenho dos peixes (ganho de peso, índice de eficiência proteica, taxa de crescimento específico, peso final, conversão alimentar e consumo de ração). Esses resultados foram confirmados por Tippayadara et al. (2021) que avaliaram a substituição de farinha de peixe por farinha LMSN em níveis de 10, 20, 40, 60, 80 e 100% em dietas de juvenis de tilápia-do-nilo (peso inicial de 14g) e o desempenho zootécnico também não apresentou diferença significativa para nenhum dos tratamentos (ganho de peso, conversão alimentar, consumo de ração e taxa de sobrevivência).

Por outro lado, em outro experimento com tilápias-do-nilo realizado por Muin et al. (2017) com níveis de substituição de 0, 25, 50, 75 e 100% de farinha de peixe por farinha desengordurada de LMSN, os peixes alimentados com ração com 50% de LMSN apresentaram melhores resultados nas variáveis de desempenho zootécnicos (ganho de peso, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica e conversão alimentar).

Já Kessler (2017) em dietas isonitrogênicas e isocalóricas substituiu farinha de peixes, farelo de soja e óleos por farinha de LMSN em dietas de tilápia-do-nilo. Três dietas foram formuladas para conter 32% de proteína bruta (PB) e 8% de lipídios, onde o controle derivou a maior parte de sua PB e lipídeo de farinha de peixes, farelo de soja, óleo de peixe e óleo de soja. A dieta teste um substituiu toda a farinha de peixes e a maior parte do farelo de soja por farinha de LMSN, a dieta teste dois foi idêntica a um, exceto pela substituição de óleo de soja por óleo de LMSN. Neste estudo, o autor não encontrou diferença significativa nas variáveis de taxa de crescimento específico e parâmetros sanguíneos relacionados a saúde, concluindo que a farinha de LMSN pode ser um substituto para farinha de peixes, farelo de soja e óleo de soja (KESSLER, 2017).

A utilização da mosca soldado negra permite criar um modelo de economia circular na aquicultura, tanto em modelos de negócios inclusivos para pequenos produtores com a utilização da larva fresca na alimentação

dos peixes na piscicultura familiar (CHIA et al., 2019), quanto para grandes indústrias com a utilização da farinha desengordurada de MSN na formulação e processamento de rações extrusadas. Assim, a criação de insetos, em especial a mosca soldado negra, apresenta-se como uma alternativa sustentável para reciclar resíduos orgânicos, contribuir para o desenvolvimento social e econômico regional e, ao mesmo tempo, produzir proteína de qualidade destinada para a nutrição animal. Por outro lado, os estudos com insetos na nutrição de peixes no Brasil são recentes e não há legislação específica para seu uso na produção animal. Por isso, estudos são necessários para avaliar o aproveitamento dos nutrientes provenientes dos insetos em fórmulas de rações com ingredientes brasileiros, nas espécies mais criadas no país, como é o caso da tilápia.

2.5 DIGESTIBILIDADE *IN VITRO*

A digestibilidade e a disponibilidade de nutrientes são essenciais para avaliação de alimentos, bem como para formulação de dietas isoenergéticas e isoproteicas e, geralmente, são resultantes de ensaios realizados *in vivo* em laboratórios de pesquisa (NRC, 2011). Porém, esse método utilizando animais se mostra complexo, de longa duração, alto custo e de difícil aplicação a níveis industriais (LEMOS E TACON, 2011). Isso motivou o desenvolvimento de métodos *in vitro* baseados na digestão de pequenas quantidades de amostras de alimentos. Esses métodos relatados de digestão de proteínas *in vitro* incluem o uso de digestivos enzimáticos que podem estar disponíveis em fontes comerciais (TIBBETTS et al., 2020). No entanto, diferentes resultados na digestão *in vitro* foram encontrados dependendo da origem da enzima, sugerindo uma característica específica da digestão de proteínas *in vitro* de acordo com a espécie (EZQUERRA et al., 1998; MOYANO E SAVOIE, 2001).

3. OBJETIVOS E HIPÓTESES

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o desempenho zootécnico e a digestibilidade *in vitro* de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com níveis crescentes de inclusão de farinha de insetos na dieta em substituição a farinha de peixe.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar parâmetros zootécnicos de peixes alimentados por 75 dias com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de farinha de insetos;
- Avaliar a digestibilidade *in vitro* das rações formuladas para tilápias-do-nilo;
- Avaliar a composição química da carcaça dos peixes após o experimento de alimentação.

3.3 HIPÓTESES

H0: A farinha de insetos na dieta de Tilápia do Nilo não promove diferenças de desempenho zootécnico e digestibilidade quando comparada com a farinha de peixe;

H1: A farinha de insetos na dieta de Tilápias do Nilo promove melhor desempenho e digestibilidade quando comparada com a farinha de peixe.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado em 27 de agosto de 2019, pelo Comitê de Ética em Experimentação e Pesquisa Animal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Pirassununga, São Paulo, Brasil (número de protocolo 5182270819).

O estudo foi realizado no Laboratório de Aquicultura da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA – USP), Pirassununga, SP.

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS INGREDIENTES

As larvas de mosca soldado negra (MSN) foram produzidas e doadas pela empresa Sustente Eco Soluções, localizada em Manaus, AM. As larvas de insetos foram secas em estufa a 55° por 24 horas (Figura 3A), moídas (Figura 3B) e desengorduradas com hexano (Figura 3C).

Figura 3. A) Larvas da mosca soldado negra secas; B) Larvas da mosca soldado negra secas e moídas; C) Larvas da mosca soldado negra secas, moídas e desengorduradas



Fonte: Dos Santos, 2020.

A farinha de peixe utilizada neste estudo, foi produzida a partir de resíduos do processamento do salmão, pois foi utilizada a farinha de peixe comercial ("Salmo Star"). Tanto a farinha desengordurada de MSN quanto a farinha de peixe foram analisadas quanto à composição centesimal (AOAC, 2005) (Tabela 1), previamente à formulação das rações experimentais.

Tabela 1. Composição química das farinhas de peixe e de larva desengordurada da mosca soldado negra na matéria seca

Composição Bromatológica (%)	Farinha de peixe	Farinha da larva
		LMSN
Matéria Seca	95,91	97,50
Proteína Bruta	54,55	54,90
Extrato Etéreo	8,24	3,35
Matéria Mineral	8,35	11,50

4.2. FORMULAÇÃO E PROCESSAMENTO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS

As rações foram formuladas para serem isoproteicas (30% PB) e isoenergéticas (4270 Kcal de EB/Kg) e para atenderem as exigências nutricionais de juvenis de tilápia (NRC, 2011). As cinco dietas experimentais foram formuladas com níveis crescentes de substituição da farinha de peixe pela farinha de LMSN (Figura 4A): 0% (Figura 4B), 25% (Figura 4C), 50% (Figura 4D), 75% (Figura 4E) e 100% (Figura 4F).

As rações foram processadas na fábrica de ração da Estação de Aquicultura do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Manaus, AM. A mistura de ingredientes de cada ração foi moída em moedor de martelos com malha de 1mm. Cada mistura foi extrudada à quente (100°C) utilizando-se energias térmica (40% de hidratação com água à 90 °C) e mecânica em granulometria de 3 mm em uma extrusora monorosca (INBRAMAQ, MX 80). Os pellets foram secos em estufa com circulação de ar forçada até que atingissem o teor de umidade inferior à 10%. As rações foram armazenadas em sacos plásticos pretos para evitar a foto oxidação e, transportadas para o Laboratório de Aquicultura da FZEA, onde permaneceram em freezer até o momento da utilização. Antes de começar a alimentação dos peixes, foi determinada a composição centesimal das dietas experimentais segundo a AOAC (2005) para comprovar que as mesmas supriam as exigências da espécie utilizada (Tabela 2).

Figura 4 - A) Farinha de LMSN desengordurada; B) Ração formulada com 100% de farinha de peixe e 0% de farinha de LMSN; C) Ração formulada com 75% de farinha de peixe e 25% de farinha de LMSN; D) Ração formulado com 50% de farinha de peixe e 50% de farinha de LMSN; E) Ração formulada com 25% de farinha de peixe e 75% de LMSN; F) Ração formulada com 0% de farinha de peixe e 100% de farinha de LMSN



Fonte: Própria Autoria

Tabela 2. Formulação e composição química das dietas experimentais

Ingredientes (%)	Níveis de inclusão da LSMN				
	0%	25%	50%	75%	100%
Farelo de soja	23,00	25,00	25,00	24,80	25,00
Farinha de sangue	3,60	3,10	3,50	4,00	4,50
Farinha de peixe	22,00	16,50	11,00	5,50	0,00
Farinha de LSMN	0,00	5,50	11,00	16,50	22,00
Milho	24,90	21,40	21,50	21,50	19,95
Quirera de arroz	15,00	13,90	13,90	13,90	13,80
Farelo de trigo	6,40	7,00	7,00	7,00	6,40
Óleo de soja	3,00	3,80	3,30	3,00	3,70
Fosfato bicálcico	1,00	2,65	2,65	2,65	3,55
Premix	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Lisina	0,10	0,15	0,15	0,15	0,10
Nutrientes e Energia					
Matéria Seca (%)	90,38	92,02	91,48	90,47	93,36
Extrato Etéreo (%)	4,68	4,02	3,98	2,82	2,81
Proteína Bruta (%)	29,84	30,82	32,00	32,89	32,51
Matéria Mineral (%)	13,21	13,37	13,50	12,83	12,86
Fibra Bruta (%)*	0,40	0,53	0,68	0,81	0,93
Energia Bruta (Kcal/kg)**	4280,00	4260,00	4270,00	4250,00	4240,00
Energia Digestível(Kcal/Kg)***	3882,00	3850,00	3852,00	3826,00	3812,00

Premix: suplemento vitamínico e mineral expressos em (g/kg): Cloreto de potássio 2,00; óxido de magnésio 0,60; Sulfato de ferro 7,50; Sulfato de cobre 1,00; Óxido de manganês 2,00; Selenito de sódio 0,07; Iodato de cálcio 0,25; Cloreto de colina 80,00; Vitamina K3 0,70; Ácido nicotínico 10,00; Ácido pantotênico 5,00; Ácido fólico 0,10; Biotina 0,05; Vitamina A 2.000.000.00 UI; Vitamina D3 600.000.00 UI; Vitamina E ; Vitamina B1 2,00; Vitamina B2 4,00; Vitamina B6 5,00; Vitamina B12 0,01; Vitamina C 80,00; Inositol 4,00; Etoxiquin 1,00; B.H.T 5,00.

*Valor calculado conforme os níveis de fibra bruta de cada ingrediente segundo ROSTAGNO (2017)

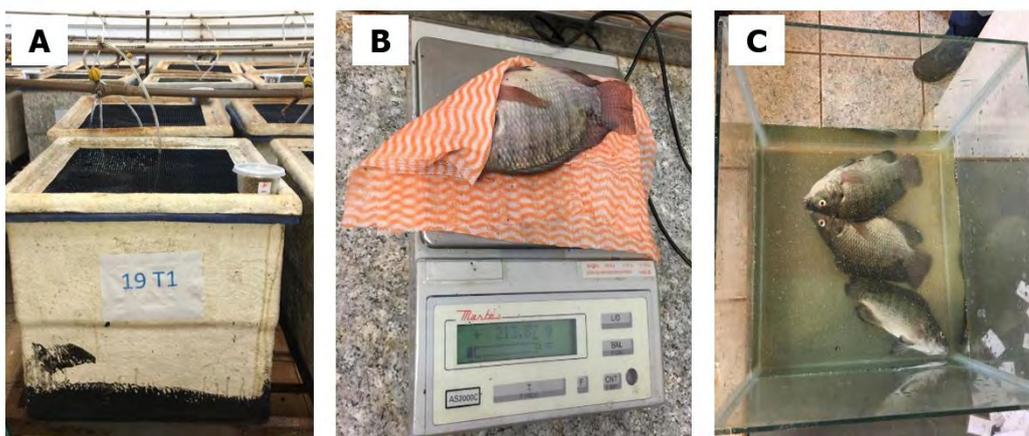
** Valor calculado segundo a fórmula EB (kcal/g) = (5,7 x g PB) + (9,4 x g EE) + [4,1 x (g ENN + g FB)] segundo NRC (2011)

*** Valor calculado segundo a fórmula ED (kcal/g) = EB x (CDE/100) segundo NRC (2011)

4.3 EXPERIMENTO DE CRESCIMENTO – SUBSTITUIÇÃO DE FARINHA DE PEIXE POR FARINHA DE LARVAS DA MOSCA SOLDADO NEGRA EM DIFERENTES NÍVEIS NA DIETA DE TILÁPIAS DO NILO

Foram adquiridos juvenis de tilápia ($43,66 \pm 4,52\text{g}$) selecionados de um mesmo lote e transportados até o Laboratório de Aquicultura da FZEA-USP. Os peixes permaneceram por um período de 15 dias para adaptação às instalações externas do Laboratório de Aquicultura. Após este período, 100 peixes foram acondicionados em tanques de fibra de vidro com 100 L de volume (Figura 5A) (5 peixes por tanque) em um desenho experimental inteiramente casualizado composto por 5 tratamentos (5 dietas experimentais) com 4 repetições por tratamento ($n=5$). As unidades experimentais fazem parte de um sistema de recirculação de água com filtro biológico, aeração forçada e temperatura controlada. Os peixes foram alimentados até aparente saciedade, duas vezes ao dia (08h00m e 16h00m) por 75 dias, com dietas experimentais. Após cada alimentação os parâmetros da água foram avaliados, onde a temperatura da água foi mantida com $28 \pm 0,5^\circ\text{C}$, o pH $7,0 \pm 0,2$, o nitrito $0,5 \pm 0,17 \text{ mg/L}$ e a amônia $<5 \text{ mg/l}$, valores que estão dentro dos ideais para a espécie (VERDOUW ET AL., 1978; BOYD E TUCKER, 1992).

Figura 5. A) unidades experimentais; B) Biometria dos peixes; C) Eutanásia com dose excessiva de anestésico.



Fonte: Própria Autoria

Ao final do experimento, os peixes foram eutanasiados (Figura 5C) com uma dose excessiva de benzocaína (300 mg/l) e pesados para a avaliação

(Figura 5B). Três animais por unidade experimental foram congelados para posterior análise de composição de carcaça.

O desempenho de crescimento foi avaliado calculando-se os seguintes parâmetros:

- Consumo de ração
- Peso Vivo Final
- Ganho de Peso (G.P.):
GP (g) = peso final – peso inicial

- Conversão Alimentar (CA):

CA = consumo de ração/ganho de peso

- Taxa de Eficiência Proteica (TEP):
TEP = ganho de peso/proteína bruta consumida

- Taxa de Crescimento Específico (TCE):
TCE (% dia-1) = 100 x [(ln peso final – ln peso inicial)/dias]

- Taxa de Crescimento Relativo (TCR)
TCR = (EXP(TCE)-1) x 100

- Sobrevivência (SOB)
SOB (%) = 100 x (número de peixes final/número de peixes inicial)

4.4.1 Análise de composição centesimal

A composição centesimal das dietas experimentais e das carcaças foi determinada conforme metodologia da AOAC (2005).

4.4 DETERMINAÇÃO DO COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DA PROTEÍNA BRUTA

Neste estudo foi realizado o teste de digestibilidade “in vitro” da proteína das rações experimentais com a metodologia descrita por Sgarbieri (1996), em que a pepsina é responsável pela digestão ácida e a pancreatina pela digestão alcalina (Figura 6A). Após a digestão de 24h (Figura 6B), o material digerido foi centrifugado (3000 rpm por 15 minutos) e separado o sobrenadante (Figura 6C) que foi utilizado para a digestão e destilação da proteína bruta (Figura 6D) (AOAC, 2005).

Para a obtenção dos resultados, foi utilizada a seguinte fórmula:

$CDP = (N_d - N_{ae}) / N_{ta}$, em que:

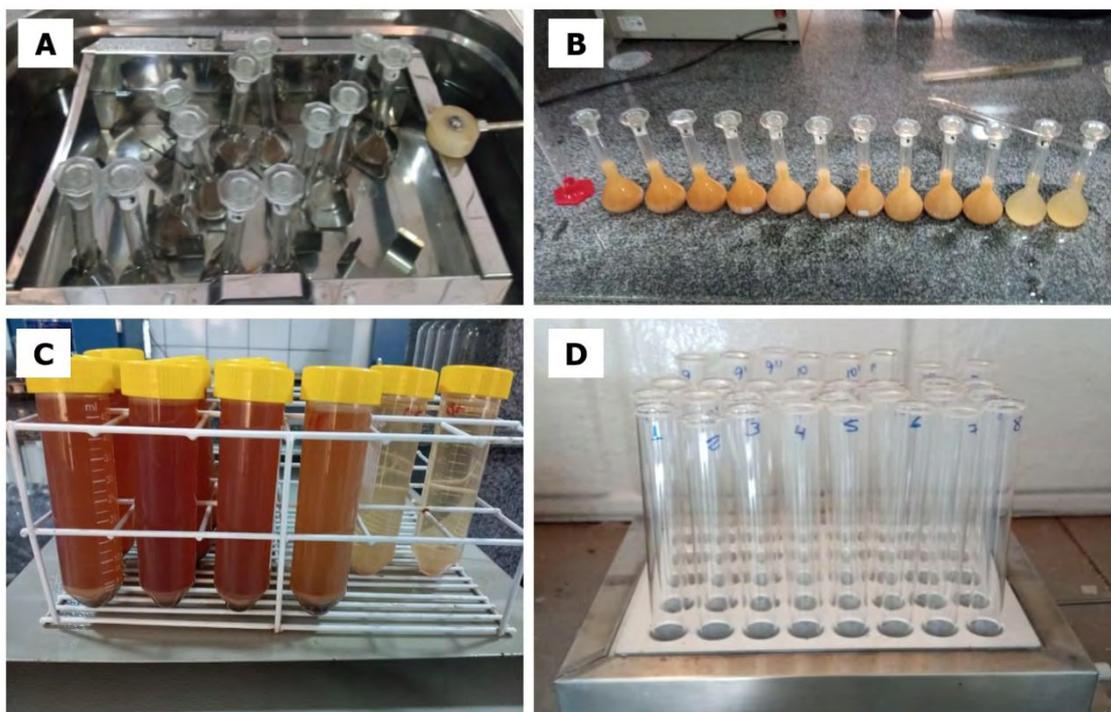
CDP = coeficiente de digestibilidade “in vitro” da proteína;

N_d = nitrogênio digerido;

N_{ae} = nitrogênio de auto digestão da amostra (branco);

N_{ta} = nitrogênio total da amostra.

Figura 6 - Análise de digestibilidade “in vitro”. A) processo de digestão ácida e alcalina em banho maria; B) resultado das 24 horas de digestão ácida e básica; C) material a ser analisado após a centrifugação; D) digestão da proteína bruta



Fonte: Própria Autoria

4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todas as análises estatísticas foram feitas utilizando-se software estatístico SAS 9,4 (SAS STATISTICAL ANALISYS SYSTEM, 2004). A homocedasticidade foi avaliada pelo teste de Levene (PROC GLM) e a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE) e, quando não verificada normalidade se usou transformação logarítmica ($\ln(\text{variável})$) se, ainda assim não se conseguiu normalidade dos resíduos usou-se um modelo generalizado, com distribuição log-normal e função de ligação identidade (PROC GLIMMIX). Quando verificada normalidade dos resíduos, as análises foram feitas via modelo linear clássico (PROC GLM). Foram considerados efeitos fixos de tratamento (0, 25, 50, 75, 100) e efeitos residuais aleatórios num delineamento inteiramente casualizado. A significância assumida foi de $\alpha = 0,05$ e, quando oportuno, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. A correlação de Pearson entre as variáveis em estudo foi obtida pelo PROC CORR (SAS STATISTICAL ANALISYS SYSTEM, 2004).

Os dados foram ainda analisados sob um modelo de regressão de polinômios ortogonais (apenas as variáveis que se ajustaram a esse modelo) a fim de se determinar o ponto ótimo de substituição, para isso os tratamentos foram utilizados como: 0,0; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0, no software e linguagem R (R CORE TEAM, 2020).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os insetos fazem parte da alimentação natural dos peixes na natureza (VAN HUIS, 2016). A farinha de insetos desengordurada derivada da larva da mosca soldado negra é uma das proteínas alternativas de insetos mais estudadas mundialmente na alimentação aquática, devido a fácil e rápida criação das larvas, além das possibilidades de aplicação de diferentes tecnologias no seu processamento e inclusão na formulação da ração devido as diferentes tecnologias de processamento. Porém, no Brasil é uma fonte proteica pouco ainda explorada (HENRY et al., 2015; MAKKAR et al., 2014). Para a tilápia do Nilo, as primeiras observações revelaram efeitos promissores (DEVIC et al., 2018).

A farinha de LMSN utilizada nesse estudo foi desengordurada com hexano e apresentou teores de 54,90% de proteína bruta e 3,35 % de lipídios. As empresas *Feed for Future* (localizada no Chile) e *Enterra Feed* (localizada no Canadá) comercializam a farinha de LSMN sem estar desengordurada com teores de 45% de proteína bruta e 25% de extrato etéreo e a farinha de LSMN desengordurada com 60% de proteína bruta e 15% de extrato etéreo (COSTA, 2019). Essa variação na composição centesimal da farinha de LMSN depende do estágio de desenvolvimento, pois há variação na quantidade de proteínas cuticulares e concentração de quitina corporal (BARROSO et al., 2014), e a qualidade do substrato em que ela foi criada (VAN HUIS, 2013), uma vez que a composição das larvas de MSN tende a refletir a composição do resíduo orgânico. Além disso, não se sabe qual método é utilizado para extração da gordura, uma vez que as empresas mantêm os seus processamentos de produção em sigilo.

Ao ser desengordurada, a farinha de LMSN utilizada nesse estudo apresentou teor de proteína muito similar ao da farinha de peixe (54,55% PB), o que permitiu a substituição dos ingredientes em proporções iguais nas fórmulas de rações. Apesar da farinha de peixe apresentar maior teor de lipídios (8,35%) do que a farinha de LMSN (3,35%) foi possível equilibrar os ingredientes para que as rações permanecessem isoenergéticas.

5.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

Os níveis de consumo médio diário por tanque, consumo médio diário por peixes e consumo médio durante todo o período experimental não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos ($p>0,05$) (Tabela 3), mostrando que a farinha da LMSN como fonte proteica não altera a qualidade e nem a palatabilidade da ração, uma vez que os animais não mostraram rejeição às dietas experimentais.

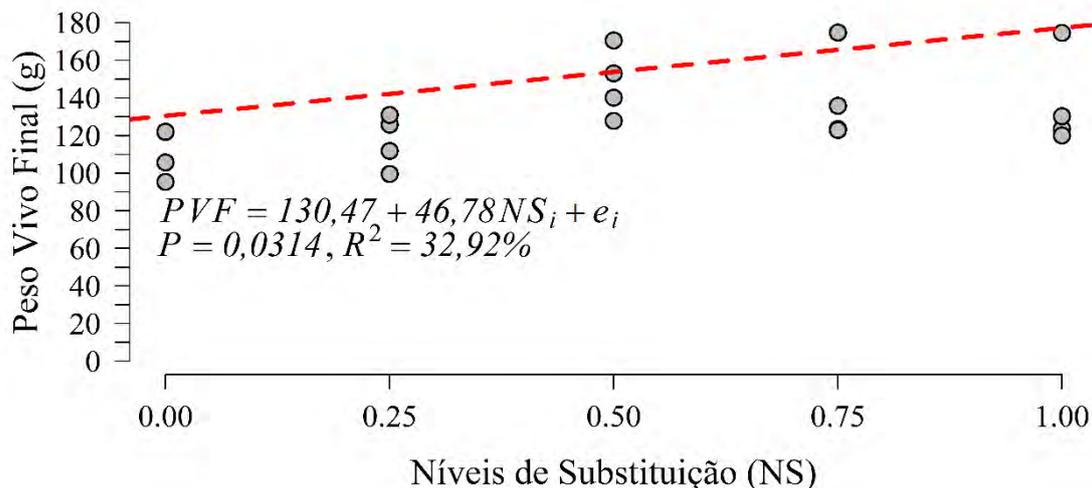
Em seu estudo com níveis de inclusão de 30%, 50% e 80% de farinha da larva da mosca Soldado Negra em substituição a farinha de peixes em dietas de tilápia, Devenic et al. (2018) também não observaram diferença significativa quanto ao consumo diário de ração durante todo o período experimental, o que reforça a ideia de que a farinha de insetos não altera a palatabilidade e nem a qualidade das dietas extrusadas. Por outro lado, Kroeckel et al. (2012), em seu estudo com *Psetta máxima*, observaram uma redução na aceitação de peixes alimentados com dietas contendo níveis de inclusão maiores que 33%, fator associado provavelmente a quitina presente na farinha desengordurada de LMSN.

O desempenho de crescimento dos peixes foi aceitável para tilápia cultivada em sistema de recirculação (aproximadamente 1,5g por dia) (EL-SAYED, 2013). Para os parâmetros de peso vivo médio individual ao final do experimento e ganhos de peso médio total e diário não houve diferença significativa ($p>0,05$) (Tabela 3), o que demonstra que a inclusão do ingrediente nas dietas não compromete o crescimento de juvenis de tilápia.

A relação entre o peso vivo final dos animais e os diferentes tratamentos foi diretamente proporcional (Figura 7), ou seja, quanto maior a porcentagem de farinha de insetos incluída nas dietas, maior o peso vivo final dos animais. Esse resultado demonstra que a inclusão da farinha de larvas da mosca Soldado Negra em valores crescentes, melhora o desempenho dos animais. Este resultado é comparável aos de outros estudos em que a farinha de larvas da mosca Soldado Negra foi utilizada como ingrediente alternativo em dietas de tilápia em substituição a farinha de peixes em diferentes níveis, o que comprova que o ingrediente não prejudica o desempenho dos animais, sendo que esses

alcançam o mesmo peso final, quando a dieta é corretamente formulada (EL-SAYED, 2013; SING ET AL., 2014).

Figura 7. Gráfico de regressão linear da relação entre o peso vivo final dos animais e os tratamentos experimentais



A conversão alimentar não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$) (Tabela 4), mostrando que a inclusão de farinha de larva da mosca soldado negra não influencia no aproveitamento do alimento. Assim como no presente estudo, Magalhães et al. 2017, relataram que juvenis de Robalo (*Dicentrarchus labrax*) alimentados com dietas substituindo 15, 30 e 45% de farinha de peixes por farinha de LMSN desengordurada não apresentaram diferença significativa na conversão alimentar, devido ao consumo e ganho de peso não terem sido diferentes entre os tratamentos, demonstrando que a farinha de LMSN desengordurada não afeta a palatabilidade da dieta. Os autores justificam essa diferença devido ao menor consumo de ração com maior inclusão de farinha de insetos, fato que não foi observado no presente estudo e, portanto, não apresentou diferença significativa na conversão alimentar.

Assim como na conversão alimentar, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para a taxa de eficiência proteica (Tabela 3). Devenic et al (2018) também não verificaram diferença na taxa de eficiência proteica em diferentes níveis de inclusão de LMSN. Esses resultados são compatíveis com outros estudos realizados utilizando a farinha de insetos em diferentes níveis de

inclusão (0, 30, 50 e 80%) (OGUNJI, et al., 2008; SING et al.,2014). Esse fator comprova a qualidade da proteína da farinha da LMSN quando comparada a proteína da farinha de peixe.

Compatível com os demais parâmetros de avaliação de desempenho, as taxas de crescimento específico e crescimento relativo não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($p>0,05$) (Tabela 3). Diferente do que foi encontrado no presente estudo, Eeusie et al. (2018) observaram maior crescimento de tilápias na fase inicial com 25% de inclusão nas dietas, quando comparados a 0, 50 e 75% de MSN. Essa diferença nos resultados pode ser explicada pela fase de vida dos peixes utilizada pelos autores, uma vez que a eficiência proteica difere durante as fases, mostrando que a farinha da LMSN é uma fonte proteica mais eficiente para juvenis em crescimento.

Avaliando as demais variáveis, a taxa de sobrevivência apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($p<0,05$), sendo que o tratamento com nível de inclusão de 100% apresentou menor porcentagem de sobrevivência (Tabela 3). Essa diferença provavelmente se deu pelo fato de que os peixes que estavam nas caixas do tratamento 5 apresentaram maior dominância (característica natural das tilápias-do-nilo), sendo que foi observada maior incidência de brigas (Figura 8) e os animais dominantes não permitiam que os submissos se alimentassem, o que acaba diminuindo a imunidade dos peixes, fazendo com que eles viessem a óbito.

Figura 8. Peixe apresentando sinais clínicos de disputa por dominância



Fonte: Própria Autoria

Assim como no presente estudo, Devenic et al. (2018) observaram taxa de sobrevivência significativamente menor em um de seus tratamentos (3% de farinha de larvas da mosca soldado negra). Essa diferença foi relacionada pelo autor ao estresse quanto a amostragem e manuseio e a disputa pela dominância dentro dos tanques, uma vez que o tratamento com substituição de 3% apresentava animais com peso inicial mais heterogêneos (apesar de não haver diferença significativa) (BOLIVAR ET AL.,2004; MACNIVEN, LITTLE, 2001).

Tabela 3. Valores médios \pm desvio padrão das variáveis de desempenho zootécnico de juvenis de tilápias alimentados com dietas formuladas com larvas de farinha de inseto em substituição à farinha de peixe

Variável	Níveis de Inclusão de Farinha de LMSN					P valor	CV	R ²
	0%	25%	50%	75%	100%			
Consumo Médio Diário (g)	10,98 \pm 1,56	8,34 \pm 1,30	10,54 \pm 2,32	8,19 \pm 1,01	7,22 \pm 2,21	0,5129 ^{ns}	38,78	18,56
Consumo Médio Diário/peixe (g)	2,21 \pm 0,28	1,78 \pm 0,30	2,08 \pm 0,42	1,82 \pm 0,11	2,07 \pm 0,46	0,7904 ^{ns}	41,68	10,11
Consumo Médio total (g)	149,95 \pm 18,78	121,14 \pm 20,25	141,35 \pm 28,38	123,59 \pm 7,57	140,76 \pm 31,30	0,7904 ^{ns}	5,82	10,11
Peso Vivo Final (g)	110,61 \pm 6,54	116,33 \pm 7,07	147,01 \pm 9,14	137,74 \pm 12,21	135,48 \pm 25,33	0,0608 ^{ns}	2,94	43,22
Ganho de peso Médio Diário (g)	1,61 \pm 0,21	1,08 \pm 0,12	1,49 \pm 0,33	1,24 \pm 0,17	1,48 \pm 0,28	0,5307 ^{ns}	34,02	17,99
Conversão Alimentar	1,28 \pm 0,04	1,53 \pm 0,15	1,37 \pm 0,06	1,41 \pm 0,19	1,37 \pm 0,15	0,7246 ^{ns}	18,61	12,12
Eficiência Proteica (%)	4,05 \pm 0,53	2,64 \pm 0,28	3,49 \pm 0,78	2,84 \pm 0,39	3,41 \pm 0,64	0,4235 ^{ns}	33,76	21,56
Taxa de Crescimento Específico (%)	1,92 \pm 0,15	1,53 \pm 0,10	1,80 \pm 0,24	1,66 \pm 0,15	1,81 \pm 0,21	0,5695 ^{ns}	20,07	16,78
Taxa de Crescimento Relativo (%)	1,94 \pm 0,15	1,54 \pm 0,10	1,82 \pm 0,24	1,67 \pm 0,15	1,82 \pm 0,21	0,5689 ^{ns}	20,24	16,80
Taxa de Sobrevivência (%)	95,00 \pm 5,00 ^b	85,00 \pm 5,00 ^b	90,00 \pm 5,78 ^b	85,00 \pm 9,76 ^b	60,00 \pm 20,1 ^a	0,0077 [*]	140,03	25,57

Médias seguidas por letra diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; CV = Coeficiente de variação do modelo; ns = não significativo

5.3 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS CARÇAÇAS

Para os dados de composição centesimal da carcaça, foi observada diferença significativa somente na proteína bruta (PB) do tratamento com 100% de inclusão de farinha desengordurada da mosca soldado negra ($p > 0,05$), sendo que os níveis foram menores nesse tratamento (Tabela 4). Essa diferença nos níveis de proteína se deu porque, provavelmente, os peixes alimentados com a dieta contendo 100% de farinha desengordurada da LMSN apresentaram maior teor de gordura.

Para os outros parâmetros analisados, matéria seca, matéria mineral e extrato etéreo não houve diferença significativa ($p < 0,05$) (Tabela 4), o que demonstra que a farinha de LMSN não interfere nesses parâmetros de composição corporal. Em estudo comparando a composição corporal de tilápias alimentadas com diferentes níveis de inclusão de farinha de insetos, não foi observada diferença significativa para matéria seca, matéria mineral, extrato etéreo e proteína bruta (DEVENIC et al., 2018).

Kroeckel et al (2012). observaram efeito significativo da inclusão de farinha da larva da mosca soldado negra na porcentagem de matéria seca e lipídios na composição corporal de pregado (*Psetta maxima*). O teor de lipídios diminuiu com o aumento do nível de inclusão do ingrediente, correlacionado ao teor de umidade, fato que o autor relaciona ao processo utilizado para desengordurar o ingrediente, de modo que a farinha de insetos acaba ficando com teores muito baixos de lipídios e conseqüentemente com maior porcentagem de matéria seca. Os conteúdos de proteína bruta e matéria mineral não diferiram entre os tratamentos porque não estão diretamente relacionados ao teor de gordura.

Tabela 4. Valores médios (\pm desvio padrão) da composição química das carcaças de juvenis de tilápias alimentados com dietas formuladas com de farinha de LMSN em substituição à farinha de peixe na base seca.

Variável	Níveis de Inclusão de Farinha de LMSN					P valor	CV	R ²
	0% ¹	25% ¹	50% ¹	75% ¹	100% ¹			
Matéria Seca	29,17 \pm 0,25	29,92 \pm 0,20	29,09 \pm 0,83	32,33 \pm 2,87	30,31 \pm 1,60	0,1527 ^{ns}	9,19	23,39
Matéria Mineral	17,14 \pm 2,45	16,09 \pm 0,62	15,44 \pm 1,51	15,41 \pm 1,33	15,60 \pm 0,75	0,9118 ^{ns}	18,62	5,99
Extrato Etéreo	27,84 \pm 1,07	27,41 \pm 1,20	28,99 \pm 1,67	29,47 \pm 2,15	33,07 \pm 1,83	0,1674 ^{ns}	11,13	33,32
Proteína Bruta	54,00 \pm 0,72 ^a	53,75 \pm 1,03 ^a	50,09 \pm 0,50 ^a	53,50 \pm 0,94 ^a	49,58 \pm 1,20 ^b	0,0057 [*]	3,50	59,97

Médias seguidas por letra diferentes nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; CV = Coeficiente de variação do modelo; ns = não significativo.

A fim de encontrar o melhor ponto de substituição dos ingredientes, foi realizada uma análise de regressão, obtendo-se os resultados apresentados nas Figuras 9 e 10, respectivamente para as variáveis de proteína bruta e extrato etéreo na carcaça:

Para os níveis de proteína bruta, os valores se apresentaram inversamente proporcionais (Figura 9), ou seja, quanto maior o valor de substituição dos ingredientes avaliados nas dietas, menor a deposição de proteína na carcaça. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que a farinha de insetos possui altos teores de quitina, que tem efeito negativo sobre o crescimento, desenvolvimento e valores de proteína da carcaça (HENRY et al. 2015).

Figura 9. Gráfico de regressão linear da relação entre a porcentagem de proteína bruta da carcaça e os tratamentos experimentais

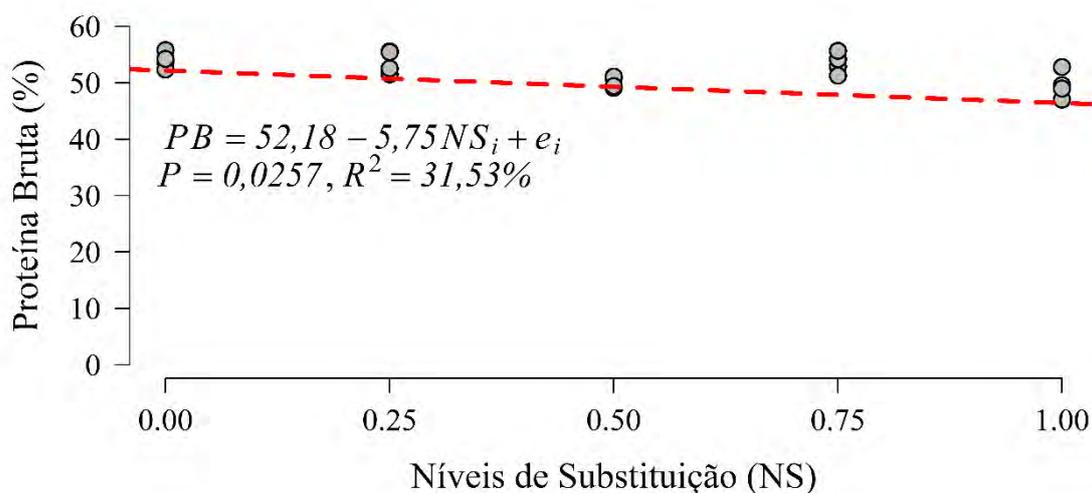
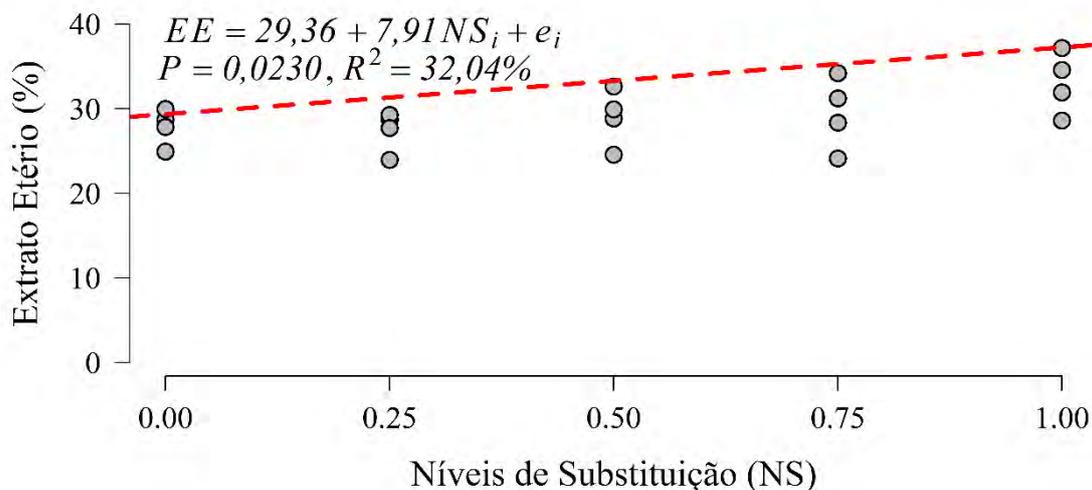


Figura 10. Gráfico de regressão da relação entre a porcentagem de extrato etéreo da carcaça e os tratamentos experimentais



A relação entre os tratamentos e a porcentagem de extrato etéreo mostrou-se diretamente proporcional (Figura 10), ou seja, quanto maior a quantidade de farinha de inseto incluída na dieta, maiores são os valores de extrato etéreo da carcaça.

5.1 DIGESTIBILIDADE *IN VITRO*

Observou-se diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$) (Tabela 5), em que os Coeficiente de Digestibilidade da Proteína das rações com 0%, 25% e 50% apresentaram valores significativamente maiores que os níveis de 75% e 100% de substituição da farinha de peixe.

Essa diferença pode ser explicada pelo fato da farinha desengordurada da LMSN possuir quitina, o que diminui comprovadamente a digestibilidade da proteína (LONGVAH et al., 2011). Altas concentrações de quitina contribuem, principalmente, para o aumento do volume, redução do tempo de retenção de fezes e redução da acessibilidade da enzima aos substratos, resultando assim em uma queda na digestibilidade de animais alimentados com dietas contendo maior quantidade de farinha desengordurada de LMSN (ZHANG et al., 2014b).

A ração formulada com 25% de LMSN apresentou 85% de coeficiente de digestibilidade para proteína, o que foi superior aos CDAs da PB das farinhas de barata cinérea (78,91%), tenébrio gigante (81,19%), barata de madagascar (65,34%), grilo (52,42%) e similar ao tenébrio comum (88,68%) quando avaliadas em ensaios de digestibilidade “in vivo” para alevinos de tilápia

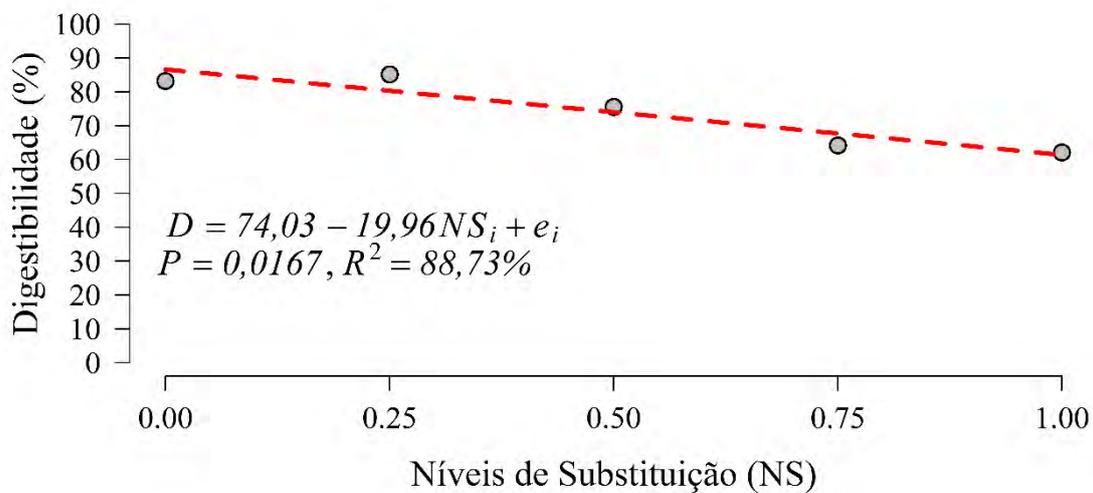
(FONTES et al., 2019). Porém, deve-se considerar que o presente estudo foi realizado “in vitro” com a utilização somente das enzimas pepsina (digestão ácida) e pancreatina (digestão alcalina). Apesar de atividade de quitinase ter sido detectada em algumas espécies de peixes, a digestão da quitina parece ser limitada para a maioria dos peixes (ABRO et al., 2014). KÖPRÜCÜ e ÖZDEMİR (2005) determinaram os coeficientes de digestibilidade aparente da quitina da tilápia do Nilo para farinha de crustáceos e farinha de diversos e demonstram que a espécie, possui atividade de quitinase e que, possivelmente, os resultados tanto dos nutrientes da farinha de larva de MSN, quanto de rações formuladas com esse ingrediente em ensaios “in vivo” serão ainda mais promissores.

Tabela 5. Valores médios \pm desvio padrão do coeficiente de digestibilidade da proteína (%) das dietas experimentais considerando os efeitos fixos de tratamento. Valores P, Coeficiente de Variação do Modelo (CV).

Dietas Experimentais	Coeficiente de Digestibilidade da Proteína (%)
Níveis de inclusão da LMSN	
0%	83,18 \pm 1,36 ^a
25%	85,15 \pm 2,06 ^a
50%	75,54 \pm 0,79 ^{ab}
75%	64,16 \pm 1,97 ^{bc}
100%	62,12 \pm 0,62 ^{bc}
Valor de P	0,0026**
CV (%)	3,02

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ¹Médias \pm erro padrão.

Figura 11. Gráfico de regressão linear da relação entre Coeficiente de digestibilidade e os tratamentos experimentais



O gráfico de regressão (Figura 11) comprova que quanto maior o nível de farinha de LMSN menor a digestibilidade aparente da ração, (devido ao teor de quitina), demonstrando que os valores são inversamente proporcionais.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que a farinha de larvas da mosca soldado negra é uma boa fonte proteica para substituir a farinha de peixes em rações extrusadas para juvenis de tilápia em até 75%. Os peixes alimentados com a ração com substituição total (100% de LMSN) apresentaram menor taxa de sobrevivência, e essa ração apresentou menor coeficiente de digestibilidade “in vitro” para a proteína bruta.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A farinha desengordurada da mosca soldado negra é um ingrediente com enorme potencial para substituir fontes proteicas tradicionais, como por exemplo o farelo de soja e a farinha de peixe, e o Brasil pode se tornar uma potência na produção de insetos, devido ao clima tropical e a grande quantidade de resíduos produzido no país. Porém para que isso seja consolidado deve ser realizada uma análise de viabilidade econômica para que esse ingrediente possa ser inserido na fabricação de rações em grande escala.

Além do fator econômico é necessário que sejam criadas legislações e normas para sua de criação, de modo que a produção seja padronizada e possa ser fiscalizada e o produto seja seguro para inclusão em rações na produção animal. As normas e legislações devem **se estender** a regular e fiscalizar a inclusão da farinha de inseto na fórmula e no processo da ração para aquicultura, com o intuito de garantir a segurança alimentar do consumidor final do pescado.

REFERÊNCIAS

- ABRO, R. et al. Evaluation of chitinolytic activities and membrane integrity in gut tissues of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) fed fish meal and zygomycete biomass. **Comp. Biochem. Physiol.** 175, 1–8, 2014.
- ALMEIDA, L.C.; Nutrição e Aspectos da Digestão de Peixe. In: BALDISSEROTTO. B; CYRINO, J.E.P.; URBINATI. E. C.; *Biologia e Fisiologia de Peixes Neotropicais de Água Doce*. Jaboticabal: **FUNEP**, p. 233-252. 2014.
- ANIEBO, A.O.; ERONDU E.S, OWEN, O.J. Replacement of fish meal with maggot meal in African catfish (*Clarias gariepinus*) diets. **Revista UDO Agrícola**, v.9, n.3, p.666-671, 2009.
- ANUÁRIO PEIXE BR**. 2020. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2020/>
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL (AOAC) (2005). **Official Methods of Analysis**, 15th edn (edited by. K. Helrich) Pp. 1028– 1039. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists Inc.
- BARROSO, F.G., et al. The potential of various insect species for use as food for fish. **Aquaculture**, 422(423), 193–201, 2014.
- Bolivar, R. B., et al. **Effect of stocking sizes on the yield and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)** on-grown in ponds. In: 6th International Symposium on Tilapia in Aquaculture Philippine International Convention Center Roxas Boulevard, Manila, Philippines September 12-16, 2004. pp. 574–583 2004.
- BOYD, C. E.; TUCKER C. S., **Water quality and pond soil analyses for aquaculture. Water quality and pond soil analyses for aquaculture**, 1992.
- BUREAU, D. P.; KAUSHIK, S. J.; CHO, C. Y. **Fish Nutrition**. Edited by John E. Halver and Ronald W. Hardy. Elsevier Science, Third edition, 824 p., 2002.
- COSTA, D.V. Insetos como alimento para a aquicultura: devaneio ou realidade?. **Panorama da aqüicultura**. Rio de Janeiro. v. 29 n. 171, p 50-57, 2019.
- CYRINO, J. E. P., et al. A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 39, Supl. Especial: 68-87, 2010.
- DEVIC, E. 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.
- DIENER, S., et al. Biological treatment of municipal organic waste using black soldier fly larvae. **Waste and Biomass Valorization**, v. 2, n. 4, p. 357-363, 2001.
- EFSA Scientific Committee. Scientific Opinion on a risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. **EFSA Journal**, v. 13, n. 10, p. 4257, 2015.

EL-SAYED, A. F. M. Tilapia feed management practices in sub-Saharan Africa. In M. R. Hasan & M. B. New (Eds.), *On-farm feeding and feed management in aquaculture* (pp. 377–405), FAO Fish. **Aquac. Tech.** Pap. No. 583, Rome, Italy: FAO, 2013.

OGUNJI, J., et al. Growth performance, nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed housefly maggot meal (magma) diets. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 147, 141–147, 2008.

FURUYA, W.M. **Tabelas brasileiras para nutrição de Tilápias**. 21 ed. Toledo: GFM, 2010. 100 p.

FERNADES, J.B.K.; CARNEIRO, D.J.; SAKAMURA, N.K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista brasileira de Zootecnia**. V. 30, n.3, p. 617-626, 2001.

EWUSIE, E. A. et al. Development of black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) in selected organic market waste fractions in Accra, Ghana. **Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology**, p. 1-16, 2018.

EZEWUDO, B.I.; MONEBI, C.O; UGWUMBA, A.A.A. Production and utilization of *Musca domestica* maggots in the diet of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fingerlings. **African Journal of Agricultural Research**, v.10, n.23, p.2363-2371, 2015.

EZQUERRA, J. M.; GARCIA-CARRENO, F. L.; CARRILLO, O. In vitro digestibility of dietary protein sources for white shrimp (*Penaeus vannamei*). **Aquaculture**, v. 163, n. 1-2, p. 123-136, 1998.

FAO. 2016. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome. 204p. 2016. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>.

FAO. 2020. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action**. Rome. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/ca9229en>

FERNANDES, B. M. M., et al. On some trematodes parasites of fishes from Paraná River. **Brazilian Journal of Biology**, v. 61, n. 3, p. 461-466, 2001.

FONTES, T.V. et al. Digestibility of Insect Meals for Nile Tilapia Fingerlings. *Animals*, 9: 181. 2019.

FURUYA, W.M. **Tabelas brasileiras para nutrição de Tilápias**. 21 ed. Toledo: GFM, 100 p. 2010.

GONÇALVES, L. U.; et al. Morfologia e Fisiologia do Sistema Digestório de Peixes. In: FRACALOSI, D. M.; CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua – Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. First edition. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Cap. 2, p. 9-36, 2013.

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

HUIS, A. V.; DICKE, M.; VAN LOON, J. J. A. Insects to feed the world. **Journal of Insects as Food and Feed**, v. 1, p. 3–5. 2015.

KAUSHIK, S. J.; MÉDALE, F. Energy requirements, utilization and dietary supply to salmonids. **Aquaculture**, v. 124, p. 81-97, 1994.

KESSLER, S. **Utilization of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) in Aquaculture Feed for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Bio-waste Recycling**. 2017.

KHAN, S., et al. Worm meal: a potential source of alternative protein in poultry feed. **World's Poultry Science Journal**, v.72, n.1, p.93-102, 2016.

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

KROECKEL, S. et al. Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute - Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture**, 364–365, 345–352.

KUBITZA, F. Aquicultura no Brasil: conquistas e desafios. **Panorama da Aquicultura**, v. 25, n. 150, julho-agosto, 2015.

LEMOS, D.; TACON, A. G. J. A rapid low-cost laboratory method for measuring the in vitro protein digestibility of feed ingredients and feeds for shrimp. **Aqua Culture Asia Pacific**, v. 7, n. 2, p. 18-21, 2011.

LONGVAH, T., MANGTHYA, K., RAMULU, P. 2011. Nutrient composition and protein quality evaluation of eri silkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae. **Food Chemistry**, 128(2), 400-403

MacNiven, A. M., & Little, D. C. (2001). Development and evaluation of a stress challenge testing methodology for assessment of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linn.) fry quality. **Aquaculture Research**, 32, 671–679.

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

MAKKAR, 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.

MCANDREW, B. J. Evolution, phylogenetic relationships and biogeography. In: BEVERIDGE, M. C. M.; MCANDREW, B. J. (Eds.). *Tilapias: Biology and exploitation*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. **Chapter one**, p. 1-32, 2000.

MEURER F. et al., Lipídios na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **R. Bras. Zootec.** 33(2):566-573,2002.

MILLES, R. D.; CHAPMAN, F. A. **The benefits of fish meal in aqua-culture diets**. Fisheries and Aquatic Sciences Department, UF/IFAS Extension. University of Florida Original publication date May 2006. Reviewed February 2018.

MONTOYA-CAMACHO, N. et al., Advances in the use of alternative protein sources for tilapia feeding. *Reviews in Aquaculture*, 11: 515-526. 2019.

MOYANO, F. J.; SAVOIE, L. Comparison of in vitro systems of protein digestion using either mammal or fish proteolytic enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 128, n. 2, p. 359-368, 2001.

NG, W.K.; et al. Potential of mealworm (*Tenebrio molitor*) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture Research*, v.32 (Suppl. 1), p.273-280, 2001.

NRC. Nutrient requirements of fish and shrimp. 3.ed. **National Academy Press**, Washington, D.C.2011.

OGUNJI, J.O.; et al. Effect of housefly maggot meal (magma) diets on the performance, concentration of plasma glucose, cortisol and blood characteristics of *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v.92, n.4, p.511-518, 2008.

PASTORE, S.C.G.; et al. Boas práticas de fabricação e formulação de rações para peixes. In: FRACALLOSSI, D.M. e CYRINO, J.E.P. (Eds.). **NUTRIAQUA: Nutrição e Alimentação de Espécies de Interesse para a Aquicultura Brasileira**. 1ª ed. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012. cap.16, p. 295-346. 2012.

PICCOLO, G.; et al. Use of *Tenebrio molitor* larvae meal in diets for gilthead sea bream *Sparus aurata* juveniles. In: **Insects to Feed the World**, The Netherlands, 14–17 May 2014. p.76. 2014.

PONTES, A. S. G. C. **Influência das propriedades fluidodinâmicas na matriz do biodiesel metílico e suas misturas dieleis: Biodiesel de óleo de peixe**. 2011. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

POPMA, T; MASSER, M. **Tilapia: Life history and biology**. Southern Regional Aquaculture Center, p. 1-4, 1999.

PORTZ, L.; FURUYA, W. M. Energia, Proteína e Aminoácidos. In: FRACALLOSSI, D. M.; CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua – Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. Firstedition. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Cap. 4, p. 65-77, 2013

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

SCORVO FILHO, J., et al. A tilapicultura e seus insumos, relações econômicas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, (suple. especial), p.112-118, 2010.

SEBRAE. **Aquicultura no Brasil**. Disponível em: <https://www.scribd.com/document/349296868/Aquicultura-no-Brasil-SEBRAE2015-pdf>

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradações, modificações.** São Paulo: Varela, 1996, p. 368-370.

SILVA, A.S.E.; LIMA, T.A.X.; BLANCO, B.S. Hematologia em Peixes. **Revista Centauro**, v.3, n.1, p.24-32. Versão On-line ISSN 178-7573, 2012.

SING, K.W., et al. Evaluation of Blowfly (*Chrysomya megacephala*) Maggot Meal as an Effective, Sustainable Replacement for Fishmeal in the Diet of Farmed Juvenile Red Tilapia (*Oreochromis sp.*). **Pakistan Veterinary Journal**, 8318, 85–92, 2014.

TACHIBANA, L. et al. Xilanase e β glucanase na digestibilidade aparente de nutrientes do triticale pela Tilápia-do-nilo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.2, p.445-452, 2010.

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

TIBBETTS, S. M. et al. Apparent digestibility of proximate nutrients, energy and fatty acids in nutritionally-balanced diets with partial or complete replacement of dietary fish oil with microbial oil from a novel *Schizochytrium sp.*(T18) by juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). **Aquaculture**, v. 520, p. 735003, 2020.

TIPPAYADARA, N. et al. Replacement of Fish Meal by Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Meal: Effects on Growth, Haematology, and Skin Mucus Immunity of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Animals**, v. 11, n. 1, p. 193, 2021.

VAN HUIS, A. Edible insects are the future?. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 75, n. 3, p. 294-305, 2016.

VAN HUIS, A., et al. Edible insects: future prospects for food and feed security. No. 171. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2013.

VELDKAMP, T., et al. Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets - a feasibility study. Rapport 638 - **Wageningen Livestock Research**, 2012.

VERDOUW, J. et al. Ammonia determination based on indophenol formation with sodium salicylate. **Water Research**, v. 12, n. 6, p. 399-402, 1978.

YANG, Y., et al. Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating mealworms: part 1. chemical and physical characterization and isotopic tests. **Environmental Science and Technology**, v.49, n.1, p.12080-12086, 2015.

ZHANG, Y., et al., 2014b. High-yield production of a chitinase from *Aeromonas veronii* B565 as a potential feed supplement for warm-water aquaculture. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 98, 1651–1662.