

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Joziane Soares de Lima

USO DE LARVAS DE *Tenebrio molitor* NA NUTRIÇÃO DO JUNDIÁ

Santa Maria, RS
2022

Joziane Soares de Lima

USO DE LARVAS DE *Tenebrio molitor* NA NUTRIÇÃO DO JUNDIÁ

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Produção Animal**.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Lazzari

Santa Maria, RS
2022

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Soares de Lima, Joziane
Uso de larvas de *Tenebrio molitor* na nutrição do
jundiá / Joziane Soares de Lima.- 2022.
104 p.; 30 cm

Orientador: Rafael Lazzari
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Campus de Palmeira das Missões, Programa de Pós
Graduação em Zootecnia, RS, 2022

1. Farinha de insetos 2. Ecofriendly 3. Fonte
proteica 4. Piscicultura I. Lazzari, Rafael II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

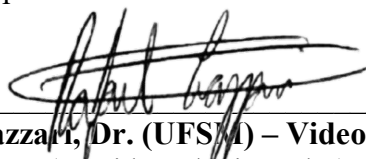
Declaro, JOZIANE SOARES DE LIMA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Joziane Soares de Lima

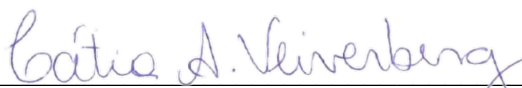
USO DE LARVAS DE *Tenebrio molitor* NA NUTRIÇÃO DO JUNDIÁ

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Produção Animal**.

Aprovada em 28 de abril de 2022.



Rafael Lazzari, Dr. (UFSM) – Videoconferência
(Presidente/Orientador)



Cátia Aline Veiverberg, Dr^a. (UNIPAMPA) – Videoconferência

Débora Machado Fracalossi, Dr^a. (UFSC) – Videoconferência

Santa Maria, RS
2022

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e saúde, por me proteger em todos os momentos da minha vida.

À minha mãe e a minha irmã, por me apoiarem incondicionalmente em todas minhas decisões, amo vocês!!!

Ao meu orientador Prof. Rafael Lazzari, pela oportunidade e disponibilidade em ajudar.

À Prof. Nilce e à Alexandra por me ajudarem incansavelmente nas análises, e pela amizade construída. Meu muito obrigada, vocês são demais.

Ao Prof. Rodrigo e a Laura por encararem o desafio e pela amizade construída.

As minhas colegas da pós-graduação Luiza e Thamara, pela amizade, ajuda e apoio em todas as etapas, pelos momentos de diversão e pelas experiências compartilhadas.

A Prof. Naglezi e ao Bruno pela ajuda e orientações, que salvaram vidas...Hahaha

As meninas da iniciação científica pela ajuda, amizade e momentos de distração.

Ao meu pai (*in memorian*) e a minha avó (*in memorian*) pelo apoio que sempre me deram, vocês foram o alicerce para a minha conquista de hoje.



O que não te desafia, não te transforma.

Crescer dói e dá trabalho!

Caio Fernando

RESUMO

USO DE LARVAS DE *Tenebrio molitor* NA NUTRIÇÃO DO JUNDIÁ

AUTORA: Joziane Soares de Lima

ORIENTADOR: Rafael Lazzari

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão de farinha de larvas de *Tenebrio molitor* parcialmente desengordurada (TMD) como fonte proteica alternativa em dietas para juvenis de jundiá sob as respostas hematológicas, metabólicas, antioxidantes, parâmetros de desempenho, deposição de nutrientes e atividade das enzimas digestivas. Foram avaliados quatro níveis de inclusão de farinha de larvas de *T. molitor* em dietas mistas, além de uma dieta controle sem a inclusão da farinha. A TMD teve aumento no teor de proteína bruta e matéria mineral, e uma redução no teor de gordura. A maioria dos aminoácidos essenciais presentes na TMD foi superior aos da farinha de peixe e aos do farelo de soja. Os parâmetros de desempenho não foram afetados pelos tratamentos testados. Houve aumento na deposição de gordura, no HSI, no teor de matéria seca e na matéria mineral dos peixes. A atividade da protease foi maior no grupo alimentado com 30% de TMD e a lipase teve maior atividade nos animais alimentados com 40% de TMD. Ocorreu aumento da atividade da tripsina com a inclusão de TMD em relação a dieta controle. A atividade da quimotripsina não foi influenciada. Após análise estatística foi possível observar que a inclusão de TMD reduziu todos os parâmetros hematológicos, exceto o VCM. A concentração sérica de aminoácidos aumentou significativamente, enquanto a de glicose e de triglicerídeos séricos reduziram. A concentração de amônia e lactato e a atividade das transaminases foram significativas. Os níveis de aminoácidos e de glicogênio no tecido hepático e muscular aumentaram. A proteína teve suas quantidades reduzidas no plasma, fígado e músculo. A atividades das enzimas antioxidantes aumentou e a produção de radicais livres diminuiu nos tecidos dos peixes. Conclui-se que a TMD pode ser incluída até 40% da dieta dos jundiás sem afetar seu desempenho e que para a manutenção dos parâmetros sanguíneos, melhor atividade de enzimas antioxidantes e redução da produção de radicais livres a TMD deve ser incluída até 30% da dieta em juvenis de jundiá.

Palavras-chave: Farinha de insetos. Ingrediente *ecofriendly*. Peixes. Fonte proteica.

ABSTRACT

USE OF *Tenebrio molitor* LARVAES IN THE NUTRITION OF SILVER CATFISH

AUTHOR: Joziane Soares de Lima

ADVISOR: Rafael Lazzari

The present study aimed to evaluate the effects of including partially defatted *Tenebrio molitor* larvae meal (TMd) as an alternative protein source in diets for juvenile silver catfish on hematological, metabolic, antioxidant responses, performance parameters, nutrient deposition and digestive enzyme activity. Four inclusion levels of *T. molitor* larvae meal in mixed diets were evaluated, as well as a control diet without the inclusion of the meal. The TMd had an increase in crude protein and mineral matter, and a reduction in fat content. Most of the essential amino acids in TMd were higher than those in fishmeal and soybean meal. Performance parameters were not affected by the treatments tested. There was an increase in fat deposition, HSI, dry matter and mineral matter content of the fish. Protease activity was higher in the group fed 30% TMd and lipase activity was higher in the animals fed 40% TMd. Trypsin activity increased with the inclusion of TMd compared to the control diet. The chymotrypsin activity was not influenced. After statistical analysis it was possible to observe that the inclusion of TMd reduced all hematological parameters except the MCV. The concentration of serum amino acids increased significantly, while that of serum glucose and triglycerides decreased. Ammonia and lactate concentration and transaminase activity were significant. The levels of amino acids and glycogen in liver and muscle tissue increased. Protein was reduced in plasma, liver and muscle. The activities of antioxidant enzymes increased and free radical production decreased in fish tissues. It is concluded that TMd can be included up to 40% of the diet in the fry without affecting their performance and that for the maintenance of the blood parameters, better activity of antioxidant enzymes and reduction of free radical production TMd should be included up to 30% of the diet in juvenile silver catfish.

Keywords: Insect meal. Ecofriendly ingredient. Fish. Protein source.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- Figura 1 – Exemplar de juvenil de jundiá (*Rhamdia quelen*)..... 16
- Figura 2 – Exemplar da larva e besouro da espécie *Tenebrio molitor* 17
- Figura 3 – Ciclo de vida do besouro (*Tenebrio molitor*)..... 18

ARTIGO I – “FARINHA DE LARVAS DE *Tenebrio molitor* EM DIETAS PARA JUVENIS DE JUNDIÁ, *Rhamdia quelen*”

- Figura 1 – Composição química da farinha de larvas integral e da farinha de larvas desengordurada em % da matéria seca..... 59
- Figura 2 – Composição de aminoácidos essenciais presente na farinha de peixe (66% PB), farelo de soja (45% PB) e na farinha de larvas de *T. molitor* parcialmente desengordurada (70% PB)..... 60
- Figura 3 – Concentração de aminoácidos no plasma de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de TMd: 0, 10, 20, 30 e 40%61
- Figura 4 – Concentração de glicogênio no fígado (4A) e no músculo (4B) de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de TMd: 0, 10, 20, 30 e 40%. Letras diferentes na figura representam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)62

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I – “FARINHA DE LARVAS DE *Tenebrio molitor* EM DIETAS PARA JUVENIS DE JUNDIÁ, *Rhamdia quelen*”

Tabela 1 – Formulação e composição centesimal das dietas experimentais.....	51
Tabela 2 – Composição dos aminoácidos da dieta.....	52
Tabela 3 – Desempenho de crescimento de jundiás (peso corporal inicial $7,20 \pm 0,12$ g) alimentados com dietas experimentais contendo diferentes níveis de inclusão de TMd.....	53
Tabela 4 – Índices somáticos de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de TMd	54
Tabela 5 – Composição corporal e deposição de nutrientes de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de TMd.....	55
Tabela 6 – Parâmetros plasmáticos de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de TMd	56
Tabela 7 – Atividade das enzimas digestivas em jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de TMd.....	57

ARTIGO II – “EFEITOS DA FARINHA DE LARVA DE *Tenebrio molitor* EM DIETAS PARA JUNDIÁ SOBRE O ESTADO DE SAÚDE”

Tabela 1 – Formulação e composição centesimal de dietas experimentais	84
Tabela 2 – Composição dos aminoácidos da dieta.....	85
Tabela 3 – Valores eritrocitários de jundiás (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com diferentes níveis de inclusão de TMd na dieta.....	86
Tabela 4 – Parâmetros hepáticos e musculares de jundiás (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com diferentes níveis de inclusão de TMd na dieta	87
Tabela 5 – Determinação da atividade das enzimas antioxidantes e dos indicadores de estresse oxidativo em jundiás (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com diferentes níveis de inclusão de TMd na dieta	88

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
1.1.	OBJETIVOS	15
1.1.1	Objetivo Geral	15
1.1.2	Objetivos Específicos	15
2.	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1.	JUNDIÁ, <i>Rhamdia quelen</i>	16
2.2.	BESOURO-DA-FARINHA, <i>Tenebrio molitor</i>	17
2.3.	IMPORTÂNCIA DA PROTEÍNA NA NUTRIÇÃO DE PEIXES.....	19
2.4.	FARINHA DE LARVAS DE <i>Tenebrio molitor</i> COMO FONTE PROTEICA	Erro!
	Indicador não definido.	
3.	ARTIGO I	23
	RESUMO	24
	INTRODUÇÃO	25
	MATERIAL E MÉTODOS	27
	RESULTADOS	33
	DISCUSSÃO	35
	CONCLUSÃO	41
	REFERÊNCIAS	41
4.	ARTIGO II	65
	RESUMO	66
	INTRODUÇÃO	67
	MATERIAIS E MÉTODOS	69
	RESULTADOS	72
	DISCUSSÃO	74
	CONCLUSÃO	76
	REFERÊNCIAS	77
5.	CONCLUSÃO GERAL	87
6.	REFERÊNCIAS	87
	ANEXO A – Certificado de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA UFSM	95
	ANEXO B – Normas da revista Aquaculture	96
	ANEXO C – Normas da revista Anais da Academia Brasileira de Ciências	102

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação está escrita da seguinte forma: primeiramente estão apresentados a

INTRODUÇÃO, os **OBJETIVOS** e a **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**.

A seguir estão apresentados os resultados, os quais foram separados em dois **ARTIGOS**. No

final encontra-se o item **CONCLUSÕES GERAIS** sobre o estudo em questão.

1. INTRODUÇÃO

Em 2021, a piscicultura brasileira produziu 841 mil toneladas de peixes cultivados, um crescimento de 4,7% em relação ao ano anterior. Entre as regiões com grande influência no setor, a piscicultura no Sul do Brasil teve maior expansão, aproximadamente, 17% nos últimos dois anos (PEIXE BR, 2022). Mundialmente, os peixes e frutos do mar constituem a terceira maior fonte de proteína dietética consumida pelos humanos, ficando atrás somente de cereais e leite (FAO, 2020). Por apresentarem uma proteína de alta qualidade, sendo fonte importante de aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais e ácidos graxos poli-insaturados, os organismos aquáticos oferecem uma fonte alimentar mais saudável do que produtos cárneos terrestres (BOGARD et al., 2015; FAO, 2018; ZHONG et al., 2020).

O uso de fontes proteicas alternativas é priorizado em estudos nutricionais devido ao alto custo de rações com alto teor proteico. Os requisitos em proteína para peixes carnívoros estão entre 45 e 55% de proteína bruta (PB), já para espécies onívoras este valor varia de 35 a 45% de PB (WILSON, 2002). Entre os custos de produção dentro da piscicultura, mais de 70% perfazem os custos com a alimentação, pois o preço da ração está ligado principalmente ao teor de proteína desta (FERREIRA et al., 2013; CNA, 2017). A maior produção de peixes aumentará, conseqüentemente, a demanda quantitativa e qualitativa de rações, que normalmente ocorre pela elevação dos teores proteicos das dietas, quando comparada a outras espécies produtoras de carne.

Como forma de atender às necessidades nutricionais dos peixes, a farinha de peixe e o farelo de soja se tornaram as principais fontes de proteína dietética (NOGALES-MÉRIDA et al., 2019). A farinha de peixe é utilizada em rações aquícolas e na criação de animais terrestres, bem como em ingredientes e suplementos alimentares para consumo humano. Atualmente, cerca de 70% da farinha de peixe é usada como alimento na aquicultura (OECD/FAO, 2019). A matéria prima utilizada para a obtenção da farinha de peixe é advinda, em maior volume, da pesca extrativa de peixes pelágicos, principalmente de anchovetas. No entanto, a alta demanda global por esse ingrediente e a concorrência com outros setores, como alimentos para animais de companhia, tem causado a redução dos estoques naturais de peixes, levando à escassez de oferta e a elevação de preços (TACON et al., 2010; BOYD et al., 2020).

O farelo de soja é a fonte de proteína vegetal mais utilizada devido ao seu teor elevado de proteínas e perfil de aminoácidos (GATLIN et al., 2007; FONTES et al., 2019). A soja é uma *commodity*, cujo preço é vinculado às oscilações do dólar, assim, em determinados

períodos tem seu custo elevado (CONAB, 2021). Nos últimos cinco anos, o preço da saca de 60 kg teve uma valorização de 41,91% (CEPEA, 2022). A elevação de preço pode trazer problemas à cadeia produtiva, como atrasos na terminação dos animais e redução dos índices de desempenho, devido à necessidade da troca por eventuais substitutos. Além disso, é um ingrediente competitivo por ser amplamente utilizado na alimentação humana e animal, principalmente na cadeia produtiva da suinocultura e avicultura (BOYD et al., 2020; ABPA, 2021), somado a outras demandas externas. Também está sujeito ao sub ou superprocessamento, apresentando fatores antinutricionais que podem causar danos à mucosa intestinal, interferindo na absorção de nutrientes e no crescimento, ou ainda, acarretando perdas no valor nutricional que levam a quedas no desempenho dos animais (HERTRAMPF; PIEDAD-PASCUAL, 2000; HEIKKINEN et al., 2006; GATLIN et al., 2007).

Para garantir o sucesso da expansão da piscicultura, no campo da nutrição, são necessárias alternativas viáveis que atendam tanto às exigências nutricionais dos peixes quanto à crescente demanda do mercado consumidor (OECD/FAO, 2019). Com isso, há uma busca quase incessante por ingredientes e fontes proteicas alternativas em todo o mundo. Neste contexto, as larvas de certos insetos representam uma fonte alimentar rica em proteínas de alta qualidade, bem como outros nutrientes benéficos como lipídios, minerais e vitaminas (RUMPOLD; SCHLÜTER, 2013; FAO, 2013). Os insetos não competem com fontes alimentares humanas, têm o ciclo de vida curto e possuem a capacidade de aproveitar resíduos vegetais de baixo custo convertendo-os em nutrientes de alta qualidade (IPIFF, 2018; BERGGREN; JANSSON; LOW, 2019). A produção em larga escala de larvas de insetos abre a possibilidade de reduzir os custos das rações na piscicultura, alcançando a viabilidade econômica na substituição de ingredientes como a farinha de peixe e o farelo de soja (KHAN et al., 2016), além de ser considerada uma alternativa na busca pela sustentabilidade ambiental do setor produtivo (LIMA et al., 2021).

1.1. OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar a inclusão da farinha de larvas de *Tenebrio molitor* (TMd) parcialmente desengordurada como fonte proteica alternativa à farinha de peixe em dietas para juvenis de jundiá.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a composição química da farinha de larvas de *Tenebrio molitor* antes e após o processo de extração de gordura;
- Avaliar a farinha de larvas de *Tenebrio molitor* (TMd) parcialmente desengordurada em dietas para juvenis de jundiá sobre:
 - Parâmetros de crescimento;
 - Índices somáticos, composição corporal e deposição de nutrientes;
 - Parâmetros hematológicos e metabólitos plasmáticos;
 - Metabolismo hepático e muscular;
 - Atividade das enzimas digestivas;
 - Atividade de enzimas antioxidantes e indicadores de estresse oxidativo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

Pertencente a ordem dos Suliformes, família Heptapteridae, o jundiá (*Rhamdia quelen*) (Figura 1) é um bagre de grande importância ecológica e econômica no Sul do Brasil (BALDISSEROTTO; RADÜNZ, 2004; BALDISSEROTTO, 2009), estando distribuído desde o sudeste do México ao centro da Argentina (BALDISSEROTTO, 2010). O jundiá é conhecido por ser um peixe de couro, com coloração acinzentada-escura e ventre branco. Ambientes de águas mais calmas, são os seus preferidos. Esta espécie apresenta barbilhões localizados junto à boca, os quais possuem receptores gustativos que ajudam na localização do alimento e na percepção da qualidade da água (BALDISSEROTTO; RADÜNZ, 2004).

Figura 1. Exemplar de jundiá (*Rhamdia quelen*)



Fonte: Arquivo pessoal.

O cultivo da espécie tem aumentado especialmente nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (BARCELLOS et al., 2004). Possui hábito alimentar onívoro com tendência carnívora, indicada por estudos onde o jundiá teve melhor digestão dos ingredientes proteicos comparado aos energéticos, de modo semelhante ao que ocorre em alguns peixes onívoros e principalmente carnívoros (OLIVEIRA-FILHO; FRACALOSI, 2006). Devido ao hábito onívoro e, dependendo da disponibilidade, a espécie tem capacidade para se alimentar de uma grande variedade de alimentos (GOMIERO; SOUZA; BRAGA, 2007), apresentando potencial para desfrutar de dietas de diferentes fontes proteicas animais e/ou vegetais (LOUREIRO et al., 2019). A adaptação a uma ampla faixa de temperatura (3 a 32°C), com temperatura de conforto térmico entre 18 e 23°C (CHIPPARI-GOMES; GOMES; BALDISSEROTTO, 1999; ESQUIVEL, 2005), demonstra o potencial de produção da espécie (BALDISSEROTTO;

RADÜNZ NETO, 2005), principalmente no Sul do país. Apresenta bom desenvolvimento nos primeiros anos de vida, seu comprimento aproxima-se de 66,5 cm nas fêmeas e 52 cm nos machos. A maturidade sexual ocorre logo no primeiro ano e o período reprodutivo compreende os meses de agosto a março (GOMES et al., 2000). Quando cultivado em densidades de 2 a 4 peixes/m² pode alcançar de 600 a 800 g em oito meses (BARCELLOS et al., 2004).

Sua carne saborosa, com ausência de espinhas intramusculares (BARCELLOS, 2004), baixo teor de gordura e sabor agradável, tem boa aceitação pelos consumidores. Sua boa adaptação a diferentes ambientes, bem como fácil indução a reprodução (DIEMER et al., 2011), chamam a atenção dos aquicultores. Além disso, na última década, o jundiá tem sido utilizado como modelo experimental para o desenvolvimento de novos ingredientes alimentares e de exigências quanto a nutrição da espécie (LAZZARI et al., 2008, 2010; LOVATTO et al., 2018; DALCIN et al., 2018; MOMBACH et al., 2019; FREITAS; SILVA; FRACALOSSO, 2021). Neste contexto, estudos com a inclusão de farinha de insetos na dieta da espécie são importantes para a obtenção de resultados a respeito deste novo ingrediente na alimentação de peixes.

2.2. BESOURO-DA-FARINHA, *Tenebrio molitor*

Pertencente a ordem Coleoptera, família Tenebrionidae, o besouro da espécie *Tenebrio molitor* (LINNAEUS, 1758) é nativo da Europa e atualmente está distribuído pelo mundo todo. Se alimenta de grãos, farinhas e seus subprodutos, sendo suas larvas reconhecidas e comumente chamadas de larvas da farinha (RAMOS-ELORDUY et al., 2002) (Figura 2).

Figura 2. Exemplar da larva e besouro da espécie *Tenebrio molitor*



Fonte: Arquivo pessoal.

A fase larval é a mais indicada para uso como alimento, por apresentar menor conteúdo de quitina, a qual é indigestível. Além disso, as larvas da farinha são de fácil produção e possuem um valioso perfil proteico. Por isso, são produzidas industrialmente para serem utilizadas em rações de animais de companhia e animais de zoológico, além de aves, répteis,

anfíbios, pequenos mamíferos e peixes (AGUILAR-MIRANDA et al., 2002; HARDOUIN; MAHOUX, 2003; VELDKAMP et al., 2012). Outra vantagem da espécie é apresentar ciclo produtivo curto, aproximadamente 120 dias, para a produção das larvas (Figura 5).

Figura 3. Ciclo de vida do besouro (*Tenebrio molitor*)



Fonte: Formataada pela autora no Canva®, com imagens do arquivo pessoal e texto de SUPERIOR HEALTH COUNCIL (2014).

A criação de insetos em larga escala depende de diversos fatores, principalmente os fatores relacionados à fisiologia do inseto, como a adaptabilidade à dieta, potencial reprodutivo, fecundidade e fertilidade (PARRA, 2009; JUNIOR et al., 2018). Os fatores ambientais tais como temperatura, umidade, estresse, alimentação e a presença de patógenos também são importantes, pois influenciam no crescimento do *T. molitor*. A temperatura (ideal 25 a 27°C) e a umidade relativa (ideal 70%) são considerados fatores limitantes para produção e desenvolvimento da espécie (SPANG, 2013; RIBEIRO, 2019).

A dieta padrão fornecida aos tenebrios tem como base o farelo de trigo, o qual promoveu o melhor desempenho produtivo (SOUZA; TELES, 2011; MENEZES et al., 2014). A fonte proteica e lipídica presente nas larvas de insetos depende diretamente da qualidade do substrato ingerido pelo mesmo (ST-HILAIRE et al., 2007; KROECKEL et al., 2012). Dados de literatura evidenciaram que larvas de *T. molitor* alimentadas com farelo de trigo podem fornecer 56% de

proteína, 35% de lipídeos, 2,6% de cinzas e 6% de fibras (CAVENAGHI et al. 2016). Já as larvas desenvolvidas em dieta à base de milho forneceram 32% de proteína, 5,3% de lipídeos e 1,3% de cinzas (SÁNCHEZ; BURGOS, 2014).

O besouro também mostrou que possui habilidade em transformar resíduos de baixa qualidade em alimento de alta qualidade, rico em energia, proteína e gordura, em curto espaço de tempo. Além disso, têm capacidade de metabolizar a micotoxina zearalenona produzida por fungos do gênero *Fusarium*, em alfa-zearalenol, sem acumulá-lo em seu organismo, de forma que não acometa os animais que vierem a se alimentar de produtos fabricados a partir de suas larvas (VILELLA, 2018). As larvas adultas de *T. molitor* são onívoras e também podem se alimentar de materiais com menor digestibilidade, como penas (RAMOS-ELORDUY et al., 2002; FINKE, 2002). A composição integral das larvas de *T. molitor* é rica em proteínas (47-60%) e lipídios (31-43%) e, seus perfis de aminoácidos e ácidos graxos são adequados para inclusão em alimentos para animais (MAKKAR et al., 2014), e em torno de 5,4% de quitina (SANKIAN et al., 2018).

Após o aparecimento da primeira pupa, entre 8 e 10 semanas de cultivo, as larvas prontas são peneiradas e separadas do substrato e, colocadas em jejum por 24 h para eliminação do conteúdo intestinal (SUPERIOR HEALTH COUNCIL, 2014). As larvas poderão ser utilizadas vivas, resfriadas, congeladas, desidratadas ou na forma de farinha (RIBEIRO, 2019). Diante da crescente demanda mundial por fontes proteicas alternativas, os insetos representam uma alternativa promissora de alimento com potencial de substituir a farinha de peixe na alimentação de peixes (RUMPOLD; SCHLÜTER, 2013; FAO, 2013), se fazendo necessária a investigação de sua composição nutricional.

2.3. IMPORTÂNCIA DA PROTEÍNA NA NUTRIÇÃO DE PEIXES

Para o bom crescimento dos peixes, é fundamental que se estabeleça uma adequada qualidade dos nutrientes da dieta através do conteúdo adequado de aminoácidos, visando garantir a presença dos mesmos nos locais de síntese, otimizando a eficiência da proteína ingerida (RIBEIRO et al., 2012). As proteínas são os principais constituintes orgânicos do tecido dos peixes, correspondendo de 65 a 75% do total de matéria seca corporal, sendo responsáveis pela estrutura (músculo, colágeno e queratina), regulação do metabolismo (enzimas e hormônios), transporte (hemoglobina) e defesa (anticorpos) (PORTZ; FURUYA, 2013). Proteínas são constituídas por 20 aminoácidos, sendo que destes, dez são essenciais na alimentação de peixes: arginina, histidina, isoleucina, leucina, metionina, valina, fenilalanina,

treonina, lisina e triptofano (NRC, 2011). O consumo de proteínas pelos peixes tem por fim a obtenção de aminoácidos, pois a proteína ingerida é digerida, liberando aminoácidos, os quais são absorvidos pelo trato intestinal e distribuídos pelo sangue para todos os órgãos e tecidos (HALVER; HARDY, 2002).

Dietas deficientes em proteína e aminoácidos podem retardar o crescimento, comprometer a eficiência alimentar e gerar depressão do sistema imune, mobilizando a proteína de alguns tecidos para a manutenção de outras funções vitais (OLIVA-TELES, 2012). Por outro lado, a proteína em excesso será convertida em energia de armazenamento ou simplesmente eliminada na forma de nitrogênio amoniacal (amônia) no ambiente, o que é indesejável, pois este é o nutriente mais oneroso da dieta (MILLWARD, 1989). Diferentemente dos carboidratos e lipídeos, os aminoácidos não podem ser estocados. Com isso, o catabolismo de proteínas endógenas e aminoácidos é reduzido ao máximo quando se tem carboidratos e lipídeos dietéticos disponíveis para satisfazer as necessidades energéticas dos peixes (BEITZ, 1996).

Em comparação à outras espécies monogástricas, a elevada exigência proteica na dieta de peixes pode ser explicada pelo fato destes apresentarem uma exigência comparativamente inferior em energia, principalmente por não precisarem manter a regulação da temperatura corpórea. Além disso, peixes são mais eficientes em utilizar a proteína como fonte energética, uma vez que a excreção de subprodutos do metabolismo dos aminoácidos é feita passivamente pelas brânquias, com reduzido gasto energético (PEZZATO et al., 2004). Dessa forma, caso a dieta não possua quantidades ideais de energia, os peixes irão utilizar preferencialmente a degradação da proteína ingerida na forma de alimento para suprir suas exigências energéticas (PORTZ; FURUYA, 2013).

As exigências em aminoácidos essenciais para o jundiá são: arginina (4,6%), histidina (1,8%), isoleucina (4,6%), leucina (7,7%), lisina (4,5%), metionina (3,7%), fenilalanina (5,4%), treonina (4,3%), triptofano (0,8%) e valina (4,6%), através do conceito de proteína ideal, utilizando-se de regressão segmentada (MONTES-GIRAO; FRACALOSSO, 2006). A farinha de peixe é o ingrediente mais utilizado na elaboração de dietas para organismos aquáticos, devido ao excelente perfil de aminoácidos e ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais, e ótima palatabilidade (TEIXEIRA et al., 2006; NUNES et al., 2011; LIU et al., 2012). Em maior proporção, a farinha de peixes é obtida da pesca extrativa de peixes pelágicos do grupo da espécie de anchovetas, sendo a quantidade deste ingrediente regulada conforme a pesca desta espécie (SOARES, 2014). No entanto, a disponibilidade do ingrediente tem se reduzido, principalmente, devido à demanda global e a concorrência com outros setores, levando à escassez de oferta e a elevação de preços (TACON et al., 2010; BOYD et al., 2020). Contudo,

alternativas à redução ou substituição da farinha de peixe por fontes de proteína de boa qualidade nutricional podem ser encontradas com o uso de farinha de larva de insetos.

2.4. FARINHA DE LARVAS DE *Tenebrio molitor* COMO FONTE PROTEICA

A maior demanda por proteínas de origem animal implica na procura por fontes proteicas alternativas com potencial para substituí-las em dietas para organismos aquáticos. Atualmente, o uso da farinha de larvas de insetos vem ganhando destaque entre as fontes com potencial de utilização na nutrição animal. Várias são as pesquisas dedicadas à sua utilização como ingrediente alternativo e viável à substituição das fontes proteicas de origem animal na nutrição de peixes.

A caracterização e determinação de nutrientes biodisponíveis em ingredientes alimentares são cruciais para a formulação adequada de dietas para peixes, como para atender as exigências nutricionais das espécies (BASTO, MATOS; VALENTE, 2020). A disponibilidade de nutrientes em um ingrediente é geralmente avaliada através dos valores *in vivo* do coeficiente de digestibilidade aparente (CDA), que indica a proporção de nutrientes ingeridos que não são excretados nas fezes e podem ser utilizados pelo organismo (GLENCROSS et al., 2007; PICCOLO et al., 2014; BASTO, MATOS; VALENTE, 2020). O CDA da matéria seca fornece a indicação geral da digestibilidade de um ingrediente, refletindo a fração digestível da matéria orgânica e inorgânica, que são altamente variáveis de acordo com seus carboidratos insolúveis e composição mineral, respectivamente (NRC, 2011; BASTO, MATOS; VALENTE, 2020).

A quitina, componente presente no exoesqueleto de insetos, pode afetar a digestibilidade dos nutrientes dos alimentos, porém, estudos mostram que o efeito depende do nível de inclusão. Piccolo et al. (2017), em estudo com dourada (*Sparus aurata*) alimentada com 25% de inclusão de farinha integral de larvas de *T. molitor* na dieta, observaram melhora no desempenho dos peixes. Os autores sugeriram que a melhoria pode ser atribuída à atividade prebiótica da quitina em baixas concentrações (SAKAI et al., 1992; ESTEBAN et al., 2001; PICCOLO et al., 2017), que aumentou a produção de butirato no ceco (KHEMPAKA et al., 2011; BOVERA et al., 2016; LOPONTE et al., 2016) tendo um efeito positivo no desenvolvimento intestinal (BOVERA et al., 2016). Fontes et al. (2019), em estudo com alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), observaram que dietas com 20% de farinhas integrais de larvas de tenebrio (*Tenebrio molitor* e *Zophobas morio*) apresentaram CDA da matéria seca próximo aos valores relatados por KÖPRÜCÜ e ÖZDEMİR (2005) para farinha

de peixe e farelo de soja. Sánchez-Muros et al. (2015) indicaram que a farinha de larvas de *T. molitor* tem uma composição comparável ao farelo de soja e que a substituição parcial da farinha de peixe ou substituição total do farelo de soja pela farinha de larvas de *T. molitor* não afeta a ingestão alimentar e a digestibilidade proteica *in vitro*. No estudo de Gasco et al. (2016), a inclusão de 25% de farinha integral de larvas de *T. molitor* com adição de enzimas exógenas reduziu a digestibilidade de carboidratos e proteínas. Neste caso, a suplementação com enzimas digestivas pode ter prejudicado a viabilidade da microbiota intestinal, a qual auxilia na atividade digestiva dos peixes (RINGØ et al., 2015).

A diminuição da ingestão voluntária pela truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentada com dietas contendo farinha integral de larvas de *T. molitor* (25 e 50% de inclusão) proporcionou a melhora na conversão alimentar, taxa de eficiência proteica e taxa de crescimento específico (BELFORTI et al., 2015). Como mencionado por Henry et al. (2015), a farinha integral de larvas de *T. molitor* apresenta excesso de lipídios brutos (30 a 35% na MS), portanto, é necessário um processo de extração para obter uma composição alimentar adequada. Ido et al. (2019) observaram que a inclusão da farinha de larvas de *T. molitor* desengordurada aumentou o crescimento e a ingestão alimentar de goraz (*Pargus major*) em comparação com a dieta contendo a farinha com a fração lipídica. Rema et al. (2019) descobriram que a farinha de larvas de *T. molitor* desengordurada pode substituir até 100% da farinha de peixe na dieta de juvenis de truta-arco-íris (*O. mykiss*), com resultados positivos nos índices de desempenho e retenção de nutrientes. Basto, Matos e Valente (2020) em estudo com robalo (*Dicentrarchus labrax*), avaliaram a digestibilidade da farinha de larvas de insetos (integrais e desengorduradas): Mosca soldado negro (*Hermitia illucens*) Larva da farinha (*Tenebrio molitor*) e farinha de gafanhoto. Segundo os autores, o processo de extração da gordura proporcionou um aumento no teor de proteína, conforme já relatado por Teh et al. (2013) e Choi, Wong e Auh (2017). Devido à elevada digestibilidade da proteína (> 89%) e à elevada quantidade de aminoácidos essenciais digestíveis, sugere-se que a farinha de larvas de *T. molitor* é a fonte de proteína mais promissoras para o robalo europeu, com potencial para substituir a farinha de peixe (BASTO; MATOS; VALENTE, 2020). Portanto, o método de extração da gordura é importante para garantir maior armazenamento e processamento, uma vez que o ingrediente é altamente suscetível à oxidação lipídica (GHOSH et al., 2017; LENAERTS et al., 2018).

3. ARTIGO I

Farinha de larvas de *Tenebrio molitor* em dietas para juvenis de jundiá, *Rhamdia quelen*

Joziane Soares de Lima^{a*}, Luiza Beatriz Hermes^a, Alexandra Pretto^b, Laura de Godoy^a, Rodrigo Borille^a, Rafael Lazzari^a

^aDepartamento de Zootecnia e Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Independência, 3751, Bairro Vista Alegre, Palmeira das Missões, Rio Grande do Sul, CEP: 98300-000, Brasil.

^bCentro de Tecnologia em Pesca e Aquicultura, Universidade Federal do Pampa, BR 472 – Km 585, Uruguaiana, Rio Grande do Sul, CEP: 97501-970, Brasil.

* Autor correspondente: jozianesoaresdelima@gmail.com (J.S. Lima).

* O artigo será submetido à revista Aquaculture.

Resumo

Neste estudo foi avaliada a inclusão da farinha de larvas de *Tenebrio molitor* parcialmente desengordurada (TMd) sobre o desempenho, metabolismo plasmático, glicogênio hepático e muscular, e atividade das enzimas digestivas em juvenis de jundiá ($7,20 \pm 0,12$ g). Durante seis semanas, os peixes foram alimentados com cinco dietas: controle (0% TMd) e quatro níveis de inclusão de TMd (10, 20, 30 e 40%), até a saciedade aparente. Ao final do período experimental os animais foram pesados, medidos e órgãos foram coletados para avaliação de índices somáticos, deposição de nutrientes, glicogênio hepático e muscular, e atividade da protease, lipase, tripsina e quimotripsina, além dos parâmetros de desempenho. Também foi coletado uma alíquota de sangue para análises de metabólitos plasmáticos. Os dados foram submetidos a teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e modelos de regressão polinomial até terceira ordem foram testados. Para as variáveis que não se enquadraram na regressão polinomial, os dados foram submetidos à ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). A extração de gordura elevou o percentual de proteína e cinzas da TMd. A inclusão de TMd não afetou o crescimento dos peixes, no entanto, houve aumento na deposição de gordura, no HSI, no teor de matéria seca e cinzas dos peixes. A atividade da protease foi maior no grupo alimentado com 30% de TMd e a lipase teve maior atividade nos animais alimentados com 40% de TMd. Ocorreu aumento da atividade da tripsina com a inclusão de TMd em comparação a dieta controle. A atividade da quimotripsina não foi influenciada. Conclui-se que é possível incluir até 40% de TMd em dietas práticas para juvenis de jundiá, sem afetar o crescimento dos peixes.

Palavras-chave: farinha desengordurada de insetos; nutrição de peixes; fonte proteica alternativa; desempenho produtivo; enzimas digestivas.

1. Introdução

Os peixes, diferentemente de outros animais de produção, possuem alta exigência em aminoácidos, o que leva à necessidade de rações com altos teores deste nutriente, sendo um dos fatores de encarecimento da mesma (Ferreira *et al.*, 2013). Diante da alta exigência proteica desses animais, a farinha de peixe e o farelo de soja se tornaram as principais fontes utilizadas (Nogales-Mérida *et al.*, 2019) por possuírem um perfil de nutrientes que se aproxima das exigências nutricionais da maioria das espécies aquáticas cultivadas (NRC, 2011). No entanto, o uso destes ingredientes vem se tornando insustentável de forma econômica e ambiental.

Nos últimos 30 anos, a pesca marinha extrativista atingiu seus limites sustentáveis, reduzindo os estoques naturais de muitas espécies de peixes, não havendo perspectivas realistas de aumento da produção para o futuro (FAO, 2020). As causas são atribuídas a efeitos ambientais como o El Niño, que em certos períodos pode causar impacto severo limitando a oferta, mas também à crescente competição para o consumo humano direto (Tacon e Metian, 2009) e principalmente para a alimentação animal. Isto, elevou o preço e a disputa por esse ingrediente (Tacon *et al.*, 2010).

A produção de grãos é ainda mais dependente das condições climáticas, podendo causar oscilações no preço destes insumos e risco de desabastecimento. No caso do farelo de soja, commodity que tem o preço atrelado às oscilações do dólar, o que leva em determinados períodos, a elevação do custo frente à desvalorização da moeda brasileira (CONAB, 2021). Além disso, o setor de aquicultura compete com outras cadeias produtivas pela aquisição de ingredientes para rações, incluindo o setor de alimentos para animais de companhia, que apresenta franco crescimento e índices lucrativos (Boyd *et al.*, 2020) e ainda, as cadeias de suinocultura e avicultura (CONAB, 2021).

Em 2021, a produção mundial de rações para a aquicultura teve um crescimento de 3,7%, com a América Latina liderando essa expansão (8,9%) (Alltech[®], 2022). No âmbito nacional, o Brasil produziu 1,47 milhões de toneladas, um crescimento de 6,8% no ano de 2020 (SINDIRAÇÕES, 2021). Em 2017, este insumo já representava entre 65 e 80% dos custos totais de produção na aquicultura (CNA, 2017). Na atualidade, não se discute se a produção aquícola deve ser conduzida de forma ambientalmente responsável e sustentável (Engle e D'Abramo, 2018), isto passou a ser o mínimo para a permanência e expansão do setor.

Diante desse cenário, a busca por ingredientes alternativos na alimentação animal vem ganhando espaço, a fim de reduzir custos, ter constância e padrão de qualidade na oferta, alto valor nutricional e minimizar disputas com outros mercados. Nesse sentido, os insetos têm demonstrado alto potencial para serem utilizados em dietas animais, devido seu alto percentual de proteína e aminoácidos, principalmente na farinha desengordurada (Ido *et al.*, 2019; Nogales-Mérida *et al.*, 2019; Hawkey *et al.*, 2021), podendo competir com as atuais fontes de proteína utilizadas. Além disso, a produção de insetos apresenta outras vantagens como: ciclo produtivo curto e capacidade de transformar resíduos e subprodutos vegetais em ingrediente de alta qualidade nutricional (FAO, 2013; Berggren *et al.*, 2019; Boyd *et al.*, 2020).

A inclusão da farinha de larvas de *T. molitor* desengordurada aumentou o crescimento e a ingestão alimentar de goraz (*Pargus major*) em comparação com a dieta contendo a farinha integral Ido *et al.* (2019). Rema *et al.* (2019) verificaram que a farinha de larvas de *T. molitor* desengordurada pode substituir até 100% da farinha de peixe na dieta de juvenis de truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), com resultados positivos nos índices de desempenho e retenção de nutrientes. Devido à alta digestibilidade da proteína e dos aminoácidos presentes na farinha de larvas de *T. molitor* desengordurada, Basto *et al.* (2020) sugeriram que esta é a fonte de proteína mais promissora para o robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), com potencial para substituir a farinha de peixe. A viabilidade da substituição da farinha de peixe e do farelo de soja nas dietas,

traz a possibilidade de reduzir custos aliado à produção de insetos em larga escala, o que é considerado uma alternativa na busca pela sustentabilidade ambiental dos setores produtivos (Khan *et al.*, 2016; Lima *et al.*, 2021). Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o uso da farinha de larvas de *Tenebrio molitor* parcialmente desengordurada na alimentação de juvenis de jundiá.

2. Materiais e Métodos

2.1 Produção das larvas de Tenebrio molitor

Os besouros foram alojados em bandejas de plástico (55 cm x 30 cm x 10 cm) estruturadas em uma prateleira e mantidos em ambiente climatizado à 25°C. Inicialmente, foram separados 300 besouros em cada bandeja para fazer o acasalamento e a postura de ovos, onde permaneceram por 5 a 7 dias. Após esse período, os besouros foram retirados da bandeja e colocou-se mais substrato para alimentação das larvas após a eclosão dos ovos. O farelo de trigo foi utilizado como substrato e a cenoura acrescentada a cada dois dias nas bandejas, serviu como fonte de água. Aproximadamente quatro meses depois (em torno de 120 dias) as larvas atingiram o ponto de colheita, indicado pela observação do aparecimento da primeira pupa nas bandejas. Em seguida, as larvas foram peneiradas para a retirada das fezes e restos de substrato, e colocadas em jejum durante 24 h antes do abate por congelamento. A metodologia de criação dos besouros e larvas foi adaptada da literatura (Superior Health Council, 2014; Menezes *et al.*, 2014; Cavenaghi *et al.*, 2016; Ribeiro, 2019). Já a metodologia de abate e fabricação da farinha foi desenvolvida pelos próprios pesquisadores.

2.2 Obtenção da farinha de larva desengordurada (TMd)

Diferentes pré-tratamentos antes do fracionamento a seco, como branqueamento, secagem, extração da gordura e condicionamento, foram utilizados para a obtenção da farinha. As larvas de *T. molitor* não processadas têm aproximadamente 60 g / 100 g de umidade, bem como níveis abundantes de bactérias e enzimas, que podem promover a sua rápida decomposição (Rumpold *et al.*, 2014; Kröncke *et al.*, 2018). O branqueamento, técnica bastante empregue na alimentação humana para garantir um produto livre de contaminações biológicas, foi utilizado para encurtar o tempo de secagem e reduzir os processos oxidativos nas larvas, que por serem ricas em gordura estão sujeitas ao escurecimento durante a secagem.

As larvas abatidas passaram pelo processo de branqueamento (fervura à 95°C por 10 min), e após foram lavadas em água corrente. Posteriormente foram secas em estufa de circulação forçada de ar à 50°C por 24 h. Depois, trituradas em moinho de facas para a obtenção da farinha, que foi desengordurada com solvente hexano numa proporção de 1:2 (peso/volume). O material foi submetido à quatro lavagens (por 30 min cada). Amostras de farinha integral e desengordurada foram analisadas em quadruplicata para os teores de matéria seca, proteína bruta e matéria mineral, conforme metodologia descrita pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995). A gordura residual foi extraída e quantificada pelo método de extração a frio (Bligh e Dyer, 1959). Também foi determinado o perfil de aminoácidos através de cromatografia líquida (Siqueira e Risso Análises Químicas SS LTDA®).

2.3 Dietas experimentais

Cinco dietas mistas, adaptadas de estudos anteriores com a espécie (Lazzari *et al.*, 2008; Schneider *et al.*, 2020), foram formuladas para o ensaio experimental (Tabela 1). A suplementação com metionina foi realizada para manter o balanço de aminoácidos das dietas (Tabela 2). Uma dieta controle contendo farinha de resíduo do abate de tilápia, farelo de soja,

milho moído e farelo de trigo, e quatro dietas experimentais acrescidas de 10, 20, 30 ou 40% de TMD. Os ingredientes foram pesados individualmente e levados a um misturador automático, em seguida foi acrescentada água e realizada a peletização (4 mm). Após peletizadas, as rações foram secas em estufa com circulação forçada de ar por 24 h à temperatura de 50°C. A seguir, as rações foram selecionadas considerando a capacidade de ingestão dos peixes e acondicionadas à - 4°C. Foram analisados os teores de matéria seca, proteína bruta e matéria mineral (AOAC, 1995), extrato etéreo (Bligh e Dyer, 1959), fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido (Van Soest *et al.*, 1991) de cada ingrediente e em amostras das dietas. Também foi determinado o perfil de aminoácidos dos ingredientes através de cromatografia líquida (Siqueira e Risco Análises Químicas SS LTDA[®]).

2.4 Ensaio de alimentação, criação e qualidade da água

O estudo foi realizado no Laboratório de Piscicultura do *Campus* de Palmeira das Missões, após aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (nº 2001171120). Um total de 440 juvenis de jundiá com peso médio inicial de $7,20 \pm 0,12$ g, foram distribuídos aleatoriamente em 20 tanques de polipropileno (230 L volume útil) numa densidade de 0,68 g/L (22 animais/unidade experimental). Cada tanque possuía entrada e saída de água individuais, conectadas a um sistema de recirculação de água, composto por decantador, dois filtros biológicos e reservatório de água com capacidade de 1000 L, equipado com sistema de aquecimento e injeção de ar. Durante 10 dias, os peixes foram aclimatados ao ambiente experimental, onde receberam ração comercial (Aqua Line, Supra[®], 42% proteína bruta) três vezes ao dia até a saciedade aparente, pela observação do comportamento alimentar dos peixes. Durante o ensaio de alimentação, seis semanas, os peixes receberam as dietas experimentais até a saciedade aparente, em três refeições diárias (8h30, 13h e 17h30).

Diariamente, após a primeira e antes da última refeição do dia (11h00 e 16h00), as fezes foram retiradas dos tanques através de sifonagem. Durante o período experimental, os parâmetros de qualidade da água foram monitorados e os seguintes valores obtidos: temperatura $23,74 \pm 1,21^\circ\text{C}$; oxigênio dissolvido: $7,13 \pm 0,41 \text{ mg L}^{-1}$; pH: $7,74 \pm 0,22$; amônia total: $0,10 \pm 0,06 \text{ mg L}^{-1}$; nitrito: $0,03 \pm 0,01 \text{ mg L}^{-1}$; dureza: $50,18 \pm 4,21 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ e alcalinidade: $45,75 \pm 7,92 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$. Todos os parâmetros permaneceram adequados para o cultivo da espécie (Baldisserotto e Silva, 2004).

2.5 Desempenho produtivo

No início e no final do período experimental, após jejum de 18 h, os peixes foram anestesiados com eugenol (50 mg L^{-1}) (Cunha *et al.*, 2010) e pesados e medidos para a obtenção dos seguintes parâmetros:

- Peso final (g);
- Comprimento total (cm);
- Ganho de peso (GP) (g) = peso final – peso inicial;
- Taxa de crescimento específico (TCE) (%/dia):

$$\text{TCE} = [(\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial})) / \text{dia}] \times 100, \text{ onde } \ln = \text{logaritmo neperiano};$$

- Fator de condição (FC) = $\text{peso} / (\text{comprimento total})^3 \times 100$;
- Conversão alimentar aparente (CA) = $\text{consumo de ração} / \text{ganho de peso}$
- Consumo de alimento (%/pv)
- Sobrevivência (%)

2.6 Índices somáticos, composição corporal e deposição de nutrientes

Os peixes amostrados para análises de composição centesimal e aqueles utilizados para coleta de tecidos foram eutanasiados com sobredose de benzocaína (250 mg L^{-1}), de acordo

com a American Veterinary Medical Association (AVMA, 2013). Para os índices somáticos, foram utilizados oito animais por tratamento para determinar:

- Índice digestivo somático (DSI): $(\text{peso do trato digestivo}/\text{peso do peixe inteiro}) \times 100$;
- Índice hepato-somático (HSI): $(\text{peso do fígado}/\text{peso do peixe inteiro}) \times 100$;
- Índice de gordura intraperitoneal (IPF): $(\text{peso de gordura visceral}/\text{peso total}) \times 100$;
- Quociente intestinal (QI): comprimento do trato digestivo/comprimento total do peixe.

Para a análise da composição corporal centesimal foram utilizados oito animais por tratamento. Os teores de proteína bruta, matéria seca e cinzas foram determinados conforme metodologias descritas pela AOAC (1995). A gordura foi extraída e quantificada de acordo com o método descrito por Bligh e Dyer (1959). A retenção de nutrientes foi calculada de acordo com as seguintes equações:

- Deposição de proteína corporal (g): $[Pf \times (PBCf/100)] - [Pi \times (PBCi/100)]$;
- Deposição de gordura corporal (g): $[Pf \times (GBCf/100)] - [Pi \times (GBCi/100)]$;

Onde: Pf = peso final; PI = peso inicial; PBCf = proteína corporal final; PBCi = proteína corporal inicial; GBCf = gordura corporal final; GBCi = gordura corporal inicial.

2.7 *Metabolismo plasmático*

Uma alíquota de sangue foi coletada aleatoriamente (oito peixes/tratamento) por punção da veia caudal com seringas heparinizadas. Em seguida, foi centrifugada (3500 xg, 10 min a -4°C) para a obtenção do plasma, que foi armazenado e refrigerado (-4°C) para determinação das concentrações de: proteínas por kit colorimétrico da BioTécnica[®], glicose e triglicerídeos por kits colorimétricos da Labtest[®]. Os aminoácidos livres foram quantificados pelo método de Moore e Stein (1948).

2.8 Glicogênio hepático e muscular

Amostras de fígado (100 mg) e músculo (400 mg) foram aquecidas a 100°C com hidróxido de potássio 30%. Após, foi adicionado etanol para hidrólise e precipitação do glicogênio, o qual foi determinado após centrifugação a 3500 xg por 15 min (Krisman, 1962).

2.9 Atividade das enzimas digestivas

Ao final do período experimental foram coletados o estômago e o intestino de oito peixes por tratamento para determinar a atividade da protease ácida, lipase, tripsina e quimotripsina. Os tecidos foram armazenados congelados até o preparo dos homogeneizados (proporção tecido/tampão de 1:20) em homogeneizador tipo Potter. A solução de homogeneização continha Tris 0,02 M/Fosfato de potássio 0,01 M, pH 7,5 em glicerol 50% (v/v). Os homogeneizados foram centrifugados a 3500 xg por 10 min à -4°C. No estômago, foi determinada a atividade da protease ácida usando caseína como substrato de acordo com o método proposto por Hidalgo *et al.* (1999). Nos 10 cm iniciais do intestino delgado foram determinadas as atividades de tripsina e quimotripsina, conforme Hummel (1959), e lipase, de acordo com Gawlicka *et al.* (2000). O teor de proteína nos homogeneizados foi determinado pelo método de Lowry *et al.* (1951).

2.10 Desenho experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Os dados discrepantes foram determinados e quando fora do intervalo (média $\pm 1 \times$ SD) foram excluídos, seguindo procedimentos adaptados por Uczay *et al.* (2019b). O teste de normalidade de Shapiro-Wilk foi aplicado aos dados. Para todas as variáveis foram testados modelos lineares e quadráticos de regressão polinomial. Foram consideradas equações com confiabilidade superior à 70% ($r^2 > 0.70$). Para as variáveis que não se enquadraram na

regressão polinomial, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0.05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas no software Statistical Analysis System[®].

3. Resultados

3.1 Composição nutricional da farinha de larvas desengorduradas

Com a extração de gordura do material, de forma parcial, obteve-se um aumento de 72,2% no teor de proteína, uma redução de 65,1% no teor de gordura e 38,8% de aumento no teor de matéria mineral da TMd (Figura 1). Os aminoácidos apresentaram um perfil mais elevado na TMd, quando comparado ao farelo de soja e a farinha de peixe (Figura 2).

3.2 Desempenho produtivo

Os parâmetros indicativos de desempenho (Tabela 3) foram mensurados após seis semanas de ensaio e as variáveis testadas não apresentaram efeito significativo ($P > 0.05$) para a inclusão da TMd na dieta.

3.3 Índices somáticos, composição corporal e deposição de nutrientes

O índice hepato-somático (IHS) (Tabela 4) apresentou diferença significativa ($P < 0.05$) com o aumento da inclusão da TMd, onde os peixes alimentados com a inclusão de 40% tiveram o maior IHS. Não houve diferença significativa para os demais índices somáticos ($P > 0.05$). A composição corporal foi influenciada pelas dietas testadas (Tabela 5). O aumento da inclusão de TMd na dieta elevou o teor de matéria seca e gordura corporal dos peixes ($P < 0.05$). O teor de proteína bruta e matéria mineral não foi afetado pela inclusão de TMd. A deposição de gordura nos peixes aumentou com a inclusão de TMd ($P < 0.05$), mas a deposição de proteína não foi afetada.

3.4 *Metabolismo plasmático*

A proteína plasmática teve redução nos peixes alimentados com 30% de TMd, em relação aos alimentados com a dieta controle e com 10% de TMd. O nível de glicose plasmática diminuiu no grupo alimentado com 30 e 40% de inclusão de TMd, comparado aos demais grupos. A menor concentração de triglicerídeos plasmático foi encontrada nos peixes alimentados com 20% de TMd, seguida dos níveis de 30 e 40%, e a maior concentração foi encontrada nos peixes alimentados com a dieta controle e 10% de TMd (Tabela 6). A concentração de aminoácidos aumentou de forma linear ($r^2 = 0.98$, $P < 0,0001$) proporcional ao aumento do nível de TMd (Figura 3).

3.5 *Glicogênio hepático e muscular*

Os maiores níveis de glicogênio hepático foram encontrados em peixes alimentados com 40% de TMd quando comparado aos demais grupos. No músculo, a maior concentração de glicogênio foi encontrada nos animais alimentados com 30 e 40% de inclusão (Figura 4).

3.6 *Atividade das enzimas digestivas*

A atividade das enzimas digestivas foi afetada significativamente pela inclusão de TMd na dieta (Tabela 7). A maior atividade da protease foi observada nos peixes alimentados com 30% de TMd na dieta e a menor atividade ocorreu nos animais alimentados com a dieta controle, quando comparados aos demais peixes. Maior atividade de lipase intestinal foi observada em peixes alimentados com 40% de TMd na dieta, em relação aos demais tratamentos. Os peixes alimentados com 20, 30 e 40% de TMd apresentaram maior atividade de tripsina, quando comparados aos animais alimentados com a dieta controle. A atividade da quimotripsina não apresentou efeito significativo ($P > 0.05$).

4. Discussão

A avaliação de fontes proteicas alternativas em dietas para peixes leva em consideração a análise de indicadores de desempenho, rendimento e aproveitamento em relação à dieta padrão. Dessa forma, o novo ingrediente deve proporcionar ganhos superiores ou, no mínimo, iguais, quando comparado às fontes usuais, para ser considerado um potencial substituto. A extração de óleo, geralmente empregue em grãos, é um processo de concentração proteica utilizada para melhorar o teor de proteína presente em ingredientes que possuem alto teor de lipídios. O presente estudo mostrou que o processo de desengordurar parcialmente a farinha de larvas de *T. molitor* foi eficiente, apesar de não extrair a totalidade da gordura, esse processo proporcionou à TMd um nível proteico superior à farinha de peixe (66% PB) e ao farelo de soja (45% PB). O teor de proteína da TMd alcançado em nosso estudo também superou o teor de proteína presente em farinhas de larvas de *T. molitor* utilizadas em estudos anteriores (65-67% PB), fornecidos pela Guangdong Zehecheng Biotechnology[®] (Guangzhou, China) e Ynsect[®] (Evry, France), respectivamente (Song *et al.*, 2018; Chemello *et al.*, 2020). Todos os aminoácidos essenciais, exceto cisteína, encontrados na TMd foram superiores aos níveis presentes no farelo de soja. Os aminoácidos essenciais histidina, treonina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina e lisina, foram superiores aos achados na farinha de peixe. Ido *et al.* (2019) observaram que a inclusão da TMd aumentou o crescimento e a ingestão alimentar de goraz (*Pargus major*) em comparação com a dieta contendo a farinha com a fração lipídica. Rema *et al.* (2019) descobriram que a TMd pode substituir até 100% da farinha de peixe na dieta de juvenis de truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), com resultados positivos nos índices de desempenho e retenção de nutrientes. Basto *et al.* (2020), avaliando a digestibilidade da farinha de larvas de insetos (integrais e desengorduradas) em estudo com robalo (*Dicentrarchus labrax*), sugeriram que a TMd é a fonte de proteína mais promissora para o robalo, com

potencial para substituir a farinha de peixe. Portanto, o método de extração total ou parcial da gordura é importante para garantir maior armazenamento e processamento, uma vez que o ingrediente é altamente suscetível à oxidação lipídica (Ghosh *et al.*, 2017; Lenaerts *et al.*, 2018).

Tal qual o farelo de soja, o aminoácido essencial limitante nas larvas de *T. molitor* é a metionina (Veldkamp e Bosch, 2015). Teores baixos de matéria mineral, cálcio e relação Ca:P também foram relatados (Belforti *et al.*, 2015). No presente estudo, visando manter o balanço de todos os nutrientes necessários ao desenvolvimento da espécie na fase inicial de crescimento, as dietas práticas foram ajustadas pela suplementação de metionina e adição de calcário calcítico como fonte de cálcio. Montes-Girao e Fracalossi (2006) definiram a exigência em lisina para o jundiá através do conceito de proteína ideal, considerando a composição corporal em aminoácidos em relação à exigência em lisina determinada em ensaio de dose resposta. Segundo o estudo, o requerimento de lisina para alevinos de jundiá fica entre 4,5 e 5,1% da proteína bruta da dieta, o equivalente a uma relação Lis: Met entre 1,48 e 1,68 em uma dieta com 33% de PB. Em nosso estudo, as dietas experimentais mantiveram uma relação Lis: Met de 1,26, sem considerar a proteína dietética, mas com base na melhor resposta obtida por Schneider *et al.* (2020) em estudo sobre a influência da redução proteica e suplementação aminoacídica na dieta de juvenis de jundiá. De acordo com o estudo, a dieta com 34% PB e suplementação de lisina e metionina proporcionou melhor desempenho (ganho de peso 37,13 g), composição corporal, estado hematoquímico e morfometria intestinal para os peixes. No presente estudo, os jundiás alimentados durante seis semanas com a inclusão de TMD nas dietas apresentaram resultados superiores, confirmados pelo ganho de peso médio de 31,61 g e uma conversão alimentar aparente $\leq 1,02$, quando comparados a estudos anteriores com fontes proteicas para juvenis da espécie *Rhamdia quelen*. Dalcin *et al.* (2018), utilizando 25 e 50% de inclusão de concentrado proteico de arroz em dietas para alevinos de jundiá (peso médio inicial 3,56 g) durante 30 dias, obtiveram aumento na conversão alimentar (2,57) e redução no ganho

de peso (5,71 g) dos peixes na inclusão de 50% comparado ao grupo controle. O mesmo foi relatado no estudo de Loureiro *et al.* (2019) com a inclusão de concentrado proteico de farelo de arroz (0, 10, 15, 20 e 30%) na dieta de jundiás. A inclusão de farelo de soja hidrolisado (0, 5, 10, 15 e 20%) na dieta de juvenis de jundiá (6,42 g) resultou em um ganho de peso médio de 21,87g em 60 dias e a conversão alimentar aparente não baixou de 1,31 (Uczay *et al.*, 2019a). Com base nos resultados encontrados em nosso estudo, podemos observar que as dietas experimentais conseguiram atender os requerimentos de lisina sem necessidade de suplementação. Sabe-se que a correta relação entre os aminoácidos da dieta pode proporcionar o melhor desenvolvimento dos animais, porém, a menor relação Lis: Met das dietas experimentais não foi suficiente para afetar o desempenho dos jundiás.

O ganho em matéria seca é importante do ponto de vista de rendimento, o que evidencia a formação de tecido muscular e crescimento dos animais. Quando trabalhamos com animais jovens, a deposição de gordura torna-se importante como reserva energética para o crescimento dos animais, uma vez que os lipídios são constituintes das membranas celulares e estão presentes em compostos do tecido cerebral e nervoso. Rema *et al.* (2019) observou que a inclusão de farinha de larvas de *T. molitor* desengordurada (5, 7,5, 15 e 25%) na dieta não influenciou nos teores de umidade, proteína, gordura, matéria mineral, fósforo e energia do corpo inteiro de trutas-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Autores que trabalharam com (25 e 50%) e (8, 16, 24 e 32%) de inclusão da farinha integral de larvas de *T. molitor* não observaram alteração na composição centesimal de juvenis de “European sea bass” (*Dicentrarchus labrax* L.) e juvenis de “Rockfish” (*Sebastes schlegeli*), respectivamente (Gasco *et al.*, 2016; Khosravi *et al.*, 2018). No entanto, o aumento na deposição de gordura corporal dos jundiás pode estar atrelado à distúrbios no metabolismo hepático responsável pelo aumento no índice hepato somático (IHS) dos peixes alimentados com níveis crescentes de inclusão da TMd na dieta.

Chemello *et al.* (2020) utilizando a farinha de larvas de *T. molitor* parcialmente desengordurada (inclusão de 25, 50 e 100%) na dieta de trutas-arco-íris (*O. mykiss*), observaram aumento no IHS dos peixes alimentados com 100% de inclusão, comparado a dieta controle, no entanto, os valores de IHS permaneceram abaixo de 2%. Em estudo com tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com farinha integral de larvas de *T. molitor* (inclusão de 5, 10, 15 e 20%) em sistema de bioflocos, os autores constataram aumento no IHS com o aumento do nível de inclusão da farinha, onde nas inclusões de 10, 15 e 20% o valor do IHS ficou acima de 2% (Tubin *et al.*, 2020). Sankian *et al.* (2018) em estudo com juvenis de “Mandarin fish” (*Siniperca scherzeri*) não encontraram diferença significativa para o IHS em peixes alimentados com dietas contendo farinha integral de larvas de *T. molitor* (inclusão de 10, 20 e 30%). Segundo Munshi e Dutta (1996), valores padrões de IHS ficam entre 1 e 2%. Quando se excede esse valor, pode ser indicativo de alterações metabólicas, principalmente, ligadas ao metabolismo de lipídios e carboidratos da dieta. As alterações metabólicas responsáveis pelo aumento do IHS em peixes podem ser provenientes da baixa relação CHO:L das dietas. Quando não ocorre o fornecimento de carboidratos na dieta outros nutrientes são catabolizados para satisfazer a demanda energética corporal, e também para gerar intermediários metabólicos para a síntese de compostos importantes para o crescimento e multiplicação celular (Barroso *et al.*, 2001). A síntese de glicose a partir de compostos não glicídicos é também chamada de gliconeogênese, ocorre no fígado e atende as necessidades de glicose do organismo em situações onde o carboidrato dietético não é suficiente para manter a homeostasia glicêmica (Silveira *et al.*, 2009).

No presente estudo, observou-se que com o aumento nos níveis de inclusão da TMD ocorreu a diminuição na relação CHO:L das dietas experimentais. Moro *et al.* (2010) avaliando a melhor relação CHO:L em dietas para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*), observaram que dietas com uma alta relação CHO:L causaram a redução no IHS dos peixes, e que uma relação

CHO:L maior que 4,62 resultou na diminuição da concentração do glicogênio hepático. Em nosso estudo, o contrário ocorreu, onde os peixes alimentados com a inclusão de TMD na dieta apresentaram aumento no IHS, principalmente a partir da inclusão de 10%, onde a dieta ficou com uma relação CHO:L igual a 2,27, resultando no aumento das concentrações de glicogênio hepático e muscular (Figura 4). Além disso, observou-se a redução da glicose plasmática e dos precursores energéticos, como proteína e triglicerídeos, os quais estão relacionados com alterações nas reservas energéticas. Em estudos anteriores, também foi observada redução no triglicerídeo plasmático em juvenis de “Rockfish” (*Sebastes schlegeli*) e juvenis de “Pearl Grouper” (*E. lanceolatus* x *E. fuscoguttatus*) alimentados com farinha integral de larvas de *T. molitor* (8, 16, 24 e 32%) e (2,5, 5, 7,5, 10 e 12,5%) de inclusão, respectivamente (Khosravi *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2018). Segundo os autores, a diminuição da glicose sérica pode indicar uma melhor captação deste composto, resultando em melhoria na eficiência alimentar e desempenho dos peixes. A farinha de larvas de *T. molitor* nas inclusões de 10, 20 e 30% para juvenis de “Mandarin fish” (*Siniperca scherzeri*) e 5, 10, 15 e 20% para tilápia do Nilo (*O. niloticus*) não causou alteração das variáveis plasmáticas (Sankian *et al.*, 2018; Tubin *et al.*, 2020). De acordo com os nossos resultados, acredita-se que para manter a homeostase glicêmica, devido à baixa relação CHO:L das dietas, os peixes acabaram utilizando compostos não glicídicos, como os aminoácidos, para realizar gliconeogênese. Isto é, resultou em aumento das concentrações de glicogênio no fígado e no músculo, e na deposição de gordura corporal.

O aumento na atividade das enzimas proteolíticas pode ser explicado pela tentativa do organismo de aumentar a digestibilidade da proteína ingerida (Lovatto *et al.*, 2017), podendo ser uma resposta fisiológica adaptativa do peixe à má qualidade da dieta ou à presença de fatores antinutricionais (Lundstedt *et al.*, 2004) como a quitina, por exemplo (Ringø *et al.*, 2012). A morfologia do sistema digestivo do jundiá remete ao sistema digestivo de um carnívoro, com intestino relativamente curto, porém, sem a presença de secos pilóricos, sugerindo que a espécie

se beneficia de ingredientes nutricionalmente mais concentrados (Rodrigues *et al.*, 2012; Gominho-Rosa *et al.*, 2015). Nesse caso, o estudo da atividade das enzimas tripsina e quimotripsina são empregados como indicadores da qualidade proteica da dieta fornecida, como também da eficiência de conversão alimentar (Sunde *et al.*, 2004; Thongprajukaew *et al.*, 2013; Loureiro *et al.*, 2019). Geralmente, a digestão dos nutrientes de insetos é afetada pela quitina, mas estudos mostram que o efeito depende do nível de inclusão (Piccolo *et al.*, 2014). Em achados anteriores, sugeriu-se que a quitina em baixos níveis na dieta, pode atuar como um prebiótico, aumentando seletivamente o crescimento e/ou atividade de bactérias benéficas no trato gastrointestinal (Olsen *et al.*, 2006), melhorando conseqüentemente a saúde do hospedeiro e promovendo a função digestiva (Suzer *et al.*, 2008; Munir *et al.*, 2016). A quitina é o principal componente do exoesqueleto dos insetos, na qual a proteína se liga reduzindo a digestibilidade do nitrogênio (Lima *et al.*, 2021). Assim, a quitina não digerida pode afetar o uso de nutrientes, sendo conhecida por absorver lipídios e bile no trato gastrointestinal, diminuindo a digestão e absorção de lipídios (Tharanathan e Kittur, 2003). Lazzari *et al.* (2010) em estudo sobre a utilização de fontes proteicas para o jundiá, observaram que a atividade das enzimas digestivas dos peixes variou com a composição da dieta, e que ocorreu uma diminuição na atividade da tripsina e quimotripsina em dietas sem ingredientes de origem animal. Até o momento não foram realizados estudos sobre a atividade das enzimas digestivas em jundiás alimentados com farinha das larvas do inseto *T. molitor*. Dessa forma, observamos em nosso estudo que o aumento na atividade das enzimas proteolíticas pode estar relacionada a diminuição de fatores antinutricionais, pela diminuição de fontes vegetais e o aumento da inclusão da TMd nas dietas, que possibilitou maior biodisponibilidade de nutrientes para os peixes. Além disso, os jundiás apresentaram bom desenvolvimento e conseguiram formar reserva energética demonstrando que ocorreu digestão dos lipídios da dieta, evidenciado pelo aumento da atividade da lipase intestinal dos peixes alimentados com dietas contendo TMd.

Em recente meta-análise, Hua (2021) indicou que os efeitos da inclusão de farinha de insetos no crescimento dos peixes foram influenciados pelo equilíbrio nutricional da dieta. O autor observou que em dietas desbalanceadas o aumento nos níveis de farinha de insetos teve efeito negativo na taxa de crescimento. No entanto, quando as dietas com inclusão de insetos estavam balanceadas, não houve efeito adverso no crescimento dos peixes. Assim, para um melhor diagnóstico sobre o uso da TMd, sugere-se, em estudos futuros, ter maior atenção com o balanço das dietas. Em nosso estudo, a relação CHO:L das dietas ficou desbalanceada, provocando alterações no metabolismo dos peixes que não correspondem a inclusão da farinha das larvas de *T. molitor*. Isto é, a inclusão da TMd e o teor de gordura remanescente presente nesta não foram responsáveis pelos distúrbios metabólicos, uma vez que não afetou o crescimento e o desempenho dos peixes.

5. Conclusão

É possível incluir a farinha de larvas de *Tenebrio molitor* parcialmente desengordurada (TMd) até o nível de 40% em dietas práticas para juvenis de jundiá sem afetar o desempenho dos peixes.

Agradecimentos

À empresa Puro Trato Nutrição Animal[®], pela doação dos ingredientes utilizados nas rações, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa de estudos concedida à JSL e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa de pesquisa concedida à RL (processo n. 312849 / 2020-6).

Referências

Alltech. Outlook for the agri-food sector, 2022. <https://www.alltech.com/agri-food-outlook> (accessed January 13, 2022).

AOAC. Association of Official Analytical Chemists, 1995. In: Cunniff, Patricia (Ed.), Official Methods of Analysis of AOAC, 16^a ed., p. 1141 Washington, DC.

AVMA. Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition. Association American Veterinary Medical, 2013.

Baldisserotto, B., Silva, L.V.F., 2004. Qualidade da água. In: Baldisserotto, B., Radünz Neto, J. (Eds.), Criação do jundiá, v.1. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, pp. 73-94.

Barroso, J.B. et al., 2001. Carbohydrate deprivation reduces NADPH-production in fish liver but not in adipose tissue. Intern. J. Biochem. Cell Biol., v. 33, n. 8, p. 785-796.

Basto, A., Matos, E., Valente, L. M. P., 2020. Nutritional value of different insect larvae meals as protein sources for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquaculture 521, 735085. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735085>

Belforti, M., Gai, F., Lussiana, C., Renna, M., Malfatto, V., Rotolo, L., De Marco, M., Dabbou, S., Schiavone, A., Zoccarato, I., Gasco, L., 2015. *Tenebrio molitor* meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets. Ital. J. Anim. Sci. 14 (4), 4170. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4170>

Berggren, A., Jansson, A., Low, M., 2019. Approaching ecological sustainability in the emerging insects-as-food industry. Trends Ecol. Evol. 34, 132-138. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2018.11.005>

Bligh, E.C., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid. Extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37, 911-917.

Boyd, C.E., D'Abramo, L.R., Glencross, B.D., Huyben, D.C., Juarez, L.M., Lockwood, B.D., Mc Nevin, A.A., Tacon, A.G.J., Teletchea, F., Tomasso Jr, J.R., Tucker, C.S., Valenti, W.C., 2020. Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. J. World Aquac. Soc., 51, 578-633. <https://doi.org/10.1111/jwas.12714>

Cavenaghi, D.F.L.C. et al. Caracterização físico-química e microbiológica de tenébrio (*Tenebrio molitor* L.) criado para consumo humano. Anais do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Gramado, 2016.

Chemello, G., Renna, M., Caimi, C., Guerreiro, I., Oliva-Teles, A., Enes, P., Biasato, I., Schiavone, A., Gai, F., Gasco, L., 2020. Partially Defatted *Tenebrio molitor* Larva Meal in Diets for Grow-Out Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): Effects on Growth Performance, Diet Digestibility and Metabolic Responses. *Animals*, 10, 229. <https://doi.org/10.3390/ani10020229>

CNA. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, 2017. Ração é o principal insumo da produção aquícola. <https://www.cnabrazil.org.br/boletins/ativos-aquicultura-ra%C3%A7%C3%A3o-%C3%A9-o-principal-insumo-da-produ%C3%A7%C3%A3o-aqu%C3%ADcola-junho-2017> (accessed January 13, 2022).

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento, 2021. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 9, safra 2021/22, n. 4 quarto levantamento. <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos> (accessed January 13, 2022).

Cunha, M.A., Zeppenfeld, C.C., Garcia, L.O., Loro, V.L., Fonseca, M.B., Emanuelli, T., Veeck, A.P.L., Copatti, C.E., Baldisserotto, B., 2010. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. *Ciênc. Rur.*, 40, 2107-2114. ISSN 0103-8478

Dalcin, M.O., Pianesso, D., Silva, V.C., Mombach, P.I., Adorian, T.J., Lima, J.S., Goulart, F.R., Silva, L.P., 2018. Rice protein concentrate in the feeding of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.70, n.1, p.306-314, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9730>

Engle, C., D'Abramo, L., 2018. Showcasing research focusing on sustainability of aquaculture enterprises and global food security. *J. World Aquac. Soc.*, 47, 311–313. <https://doi.or/10.1111/jwas.12296>

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013. Edible insects: future prospects for food and feed security. Fisheries and Aquaculture Department, Rome, 171p. (accessed January 10, 2022).

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

Ferreira, M.S., Aride, P.H.R., Silva, M.N.P., Val, A.L., 2013. Dietary protein and exercise training effects on the physiological and zootechnical parameters of matrinhã (*Brycon amazonicus*, Günther 1869). *Acta Amaz.*, 43, 429-446. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672013000400005>

Gasco, L., Henry, M., Piccolo, G., Marono, S., Gai, F., Renna, M., Lussiana, C., Antonopoulou, E., Mola, P., Chatzifotis, S., 2016. *Tenebrio molitor* meal in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) juveniles: growth performance, whole body composition and in vivo apparent digestibility. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 220, 34-45. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.07.003>

Gawlicka, A., Parent, B., Horn, M.H., Ross, N., Opstad, I., Torrissen, O.J., 2000. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. *Aquaculture* 184, 303–314.

Ghosh, S., Lee, S. M., Jung, C., Meyer-Rochow, V. B., 2017. Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. *J. Asia-Pac. Entomol.*, 20, 686–694. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.04.003>

Gominho–Rosa, M.C., Rodrigues, A.P.O., Mattioni, B., De Francisco, A., Moraes, G., Fracalossi, D.M., 2015. Comparison between the omnivorous jundiá catfish (*Rhamdia quelen*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on the utilization of dietary starch sources: digestibility, enzyme activity and starch microstructure. *Aquaculture* 435, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.035>

Hawkey, K.J., Lopez-Viso, C., Brameld, J.M., Parr, T., Salter, A.M., 2021. Insects: A Potencial Source of Protein and Other Nutrients for Feed and Food. *A. Ver. Anim. Biosc.*, 9, 333-354. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-021419-083930>

Hidalgo, M.C., Urea, E., Sanz, A., 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic amylase activitis. *Aquaculture* 170, 267–283.

Hua K., 2021. A meta-analysis of the effects of replacing fish meals with insect meals on growth performance of fish. *Aquaculture* 530, 735-732. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735732>

Hummel, B.C.W., 1959. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 1393–1399.

Ido, A., Hashizume, A., Ohta, T., Takahashi, T., Miura, C., Miura, T., 2019. Replacement of fish meal by defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae in diet improves growth performance and disease resistance in red seabream (*Pargus major*). *Animals* 9 (3), 100. <https://doi.org/10.3390/ani9030100>

Jobling, M., 1983. A short review and critique of methodology used in fish growth and nutrition studies. *J. Fish Biol.*, 23(6), 685-703. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1983.tb02946.x>

Khan, S., Naz., Sultan, A., Alhidary, I. A., Abdelrahman, M. M., Khan, R. U., Khan, N. A., Khan, M. A., Ahmad, S., 2016. Worm meal: a potential source of alternative protein in poultry feed. *Poult. Sci. J.*, 72 (1), 93-102. <https://dx.doi.org/10.1017/S0043933915002627>

Khosravi, S., Kim, E., Lee, Y-S., Lee, S-M., 2018. Dietary inclusion of mealworm (*Tenebrio molitor*) meal as na alternative protein source in practical diets for juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). *J. Entomol. Res.*, 48, 214–221. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12306>

Krisman, C.R. 1962. A method for the colorimetric estimation of glycogen with iodine. *Anal. Biochem.*, 4, 17-23. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(62\)90014-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(62)90014-3)

Kröncke, N., Bösch, V., Woyzichovski, J., Demtröder, S., Benning, R., 2018. Comparison of suitable drying processes for mealworms (*Tenebrio molitor*). *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 50, 20-25. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.10.009>

Lazzari, R., Radünz Neto, J., Pedron, F.A., Veiverberg, C.A., Bergamin, G.T., Lima, R.L., Steffens, C., 2008. Desempenho e composição dos filés de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos a diferentes dietas na fase de recria. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 60(2), 477–484. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352008000200030>

Lazzari, R., Neto, J.R., Pedron, F.A., Loro, V.L., Preto, A., Gioda, C.R., 2010. Protein sources and digestive enzyme activities in jundia (*Rhamdia quelen*). *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, v.67, n.3, p.259-266. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000300002>

Lenaerts, S., Van Der Borght, M., Callens, A., Van Campenhout, L., 2018. Suitability of microwave drying for mealworms (*Tenebrio molitor*) as alternative to freeze drying: Impact on

nutritional quality and colour. *Food Chem.*, 254, 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.006>

Lima, J.S., Pittaluga, M.L., Lovatto, N.M., Veiverberg, C.A., Borille, R., Lazzari, R. Mealworm (*Tenebrio molitor*) potencial in fish nutrition: a review. *Res., Soc. Dev.*, v. 10, n. 16, e269101623229, 2021. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i16.23229>

Loureiro, B.B., Goulart, F.R., Macagnan, F.T., Descovi, S.N., Lovatto, N.M., Santos, T.S., Dalcin, M.O., Silva, L.P., 2019. Effects of rice bran protein concentrate on the growth performance and digestive enzyme activities of jundiá (*Rhamdia quelen*) (Quoy and Gaimard, 1824). *Aquac. Nutr.*, 25, 1115-1123. <http://doi.or/10.1111/anu.12927>

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193(1), 265-75.

Lundstedt, L.M., Melo, J.F.B., Moraes, G., 2004. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochem. Mol. Biol.*, 137, 331-339. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2003.12.003>

Lovatto, N.M., Goulart, F.R., Loureiro, B.B., Adorian, T.J., Freitas, S.T., Pianesso, D., Dalcin, M.O., Athayde, M.L., Silva, L.P., 2017. Effects of phosphorylated protein concentrate of pumpkin seed meal on growth and digestive enzymes activity of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquac. Nutr.*, 23, 201-209. <http://doi.org/10.1111/anu.12381>

Menezes, C.W.G., Camilo, S. S., Fonseca, A. J., Júnior, S. L. A., Bispo, D. F., Soares, M. A., 2014. Can the diet of the prey *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) affect the development of the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae)? *Arq. Inst. Biol.*, 81, 3, 250-256. <https://doi.org/10.1590/1808-1657001212012>

Montes-Girao, P.J., Fracalossi, D.M., 2006. Dietary lysine requirement as basis to estimate the essential dietary amino acid profile for Jundia, *Rhamdia quelen*. *J. World Aquac. Soc.*, 37(4), 388-396. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2006.00052.x>

Moore, S., Stein, W.H. 1948. Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. From the Laboratories of The Rockefeller Institute for Medical Research, New York.

- Moro, G.V., Camilo, R.Y., Morais, G., Fracalossi, D.M., 2010. Dietary non-protein energy sources: growth, digestive enzyme activities and nutrient utilization by the catfish jundiá, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture Research*, 41, 394-400. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02352.x>
- Munir, M.B., Hashim, R., Suhaimee, M., Manaf, S.A.M., 2016. Dietary prebiotics and probiotics influence the growth performance, feed utilisation, and body indices of snakehead (*Channa striata*) Fingerlings. *Trop. Life Sci. Res.*, 27, 111-125.
- Munshi, J.S.D., Dutta H.M., 1996. *Fish Morphology: Horizon of New Research*. Science Publishers, 300p.
- NRC. National Research Council, 2011. *Nutrient Requirements of Fish*. Washington, D.C., USA: National Academy Press. (accessed January 10, 2022).
- Nogales-Mérida, S., Gobbi, P., Józefiak, D., Mazurkiewicz, J., Dudek, K., Rawski, M., Kierończyk, B., Józefiak, A., 2019. Insects meals in fish nutrition. *Rev. Aquac.*, 11, 1080-1103. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672013000400005>
- Olsen, R.E., Suontama, J., Langmyhr, E., Mundheim, H., Ring, E., Melle, W., Malde, M.K., Hemre, G.I., 2006. A substituição da farinha de peixe por krill antártico, *Euphausia soberba* em dietas para salmão do Atlântico, *Salmo salar*. *Aquac. Nutr.*, 12, 280-290.
- Piccolo, G., Marono, S., Gasco, L., Iannaccone, F., Bovera, F. and Nizza, A., 2014. Use of *Tenebrio molitor* larvae meal in diets for Gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Insects to Feed The World* (p. 76). The Netherlands: Wageningen University.
- Rema, P., Saravanan, S., Armenjon, B, Motte, C., Dias, J., 2019. Graded incorporation of defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) in rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet improves growth performance and nutrient retention. *Animals* 9, 187. <http://doi.org/10.3390/ani9040187>
- Ribeiro, G.O., 2019. Flour from the larvae of *Tenebrio molitor* in the feeding of Nile tilapia. Thesis (Master's degree). Postgraduate Program in Animal Science, State University of Montes Claros (Unimontes), Minas Gerais, MG.

Ringø, E., Zhou, Z., Olsen, R.E., Song, S.K., 2012. Use of chitin and krill in aquaculture – the effect on gut microbiota and the immune system: a review. *Aquac. Nutr.*, 8, 117-131. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00919.x>

Rodrigues, A.P.O., Gominho-Rosa, M.C., Cargnin-Ferreira, E., De Francisco, A., Fracalossi, D.M., 2012. Different utilization of plant sources by the omnivorous jundiá catfish (*Rhamdia quelen*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac. Nutr.*, 18, 65-72. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00877.x>

Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Hannas, M.I., Donzele, J.L., Sakomura, N.K., Perazzo, F.G., Saraiva, A., Teixeira, M.L., Rodrigues, P.B., de Oliveira, R.F., Barreto, S.L.T., Brito, C.O., 2017. Composição dos Alimentos e Exigências Nutricionais. In: Horacio Santiago Rostagno (4ed.). Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos 488p. Viçosa, Minas Gerais: UFV.

Rumpold B.A., Fröhling A., Reineke K., Knorr D., Boguslawski S., Ehlbeck J., Schlüter O., 2014. Comparison of volumetric and surface decontamination techniques for innovative processing of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*). *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 26, 232-241. <http://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.09.002>.

Sankian, Z., Khosravi, S., Kim, Y-O., Lee, S-M., 2018. Effects of dietary inclusion of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal on growth performance, feed utilization, body composition, plasma biochemical indices, selected immune parameters and antioxidant enzyme activities of mandarin fish (*Siniperca scherzeri*) juveniles. *Aquaculture* 496, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.012>

Schneider, T.L.S., Durigon, E.G., Peixoto, N.C., Uczay, J., Molinari, M., Lazzari, R., 2020. Effects of reduced protein level and dietary amino acid supplementation on growth, body composition and intestinal morphometry of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquac. Res.*, 1-13. <http://doi.org/10.1111/are.14830>

Silveira, U.S., Logato, P.V.R., Pontes, E.C., 2009. Utilização e metabolismo dos carboidratos em peixes. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.6, n. 1, p. 817-836.

SINDIRAÇÕES. Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal, 2021. Agroinflação compromete as cadeias alimentares globais. <https://sindiracoes.org.br/produtos-e-servicos/boletim-informativo-do-setor/> (accessed January 13, 2022).

Song, S. G., Chi, S. Y., Tan, B. P., Liang, G. L., Lu, B. Q., Dong, X. H., Yang, Q. H., Liu, H. Y., Zhang, S., 2018. Effects of fishmeal replacement by *Tenebrio molitor* meal on growth performance, antioxidante enzyme activities and disease resistance of the juvenile pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatus* x *Epinephelus fuscoguttatus*). *Aquaculture Research*, 49, 2210-2217. <https://doi.org/10.1111/are.13677>

Sunde, J., Eiane, S.A., Rustad, A., Jensen, H.B., Opstvedt, J., Nygard, E., Venturini, G., Rungruangsak-Torrissen, K., 2004. Effect of fish feed processing conditions on digestive protease activities, free amino acid pools, feed conversion efficiency and growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquac. Nutr.*, 10, 261–277. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00300.x>

Superior Health Council, 2014. Food safety aspects of insects intended for human consumption. Scientific Committee of the Federal Agency for the safety of food Chain, 9160, 1-23.

Suzer, C., Çoban, D., Kamaci, H.O., Saka, Ş., Firat, K., Otgucuoglu, Ö., Kucuksari, H., 2008. *Lactobacillus spp.* bacteria as probiotics in sea bream larvae (*Sparus aurata*, L.): effects on growth performance and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 280, 140-145.

Tacon, A.G.J., Metian, M., 2009. Fishing for Feed or Fishing for Food: Increasing Global Competition for Small Pelagic Forage Fish. *AMBIO: A J. of the Human Environment*, 38(6), 294-302. <https://doi.org/10.1579/08-A-574.1>

Tacon, A.G.J., Hasan, M.R., Allan, G., El-Sayed, A.F.M., Jackson, A., Kaushik, S.J., Ng, W-K., Suresh, V., Viana, M.T., 2010. Aquaculture feeds: addressing the long-term sustainability of the sector. In *Proceedings of the Global Conference on Aquaculture*, Phuket, Thailand, 22–25 September; p. 193-231.

Tharanathan, R.N., Kittur, F.S., 2003. Chitin – The undisputed biomolecule of great potential. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 43, 61–87.

Thongprajukaew, K., Kovitvadhi, U., Kovitvadhi, S., Engkagul, A., Rungruangsak-Torrissen, K., 2013. Evaluation of growth performance and nutritional quality of diets using enzymatic markers and in vitro digestibility in Siamese fighting fish (*Betta splendens* Regan, 1910). *Afr. J. Biotechnol.*, 12, 1689-1702. <http://dx.doi.org/10.5897/AJB12.2051>

Tubin, J.S.B., Paiano, D., Hashimoto, G.S.O., Furtado, W.E., Martins, M.L., Durigon, E., Emerenciano, M.G.C., 2020. *Tenebrio molitor* meal in diets for Nile tilapia juveniles reared in biofloc system. *Aquaculture* 519, 734-763. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734763>

Uczay, J., Battisti, E.K., Lazzari, R., Pessatti, M.L., Scheneider, T.L.S., Hermes, L.B., Peixoto, N.C., Fabregat, T.E.H.P., 2019a. Fish meal replaced by hydrolysed soybean meal in diets increases growth and improves the antioxidant defense system of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquac. Res.*, 50, 1438-1447. <http://doi.org/10.1111/are.14019>

Uczay, J., Battisti, E.K., Lazzari, R., Pessatti, M.L., Schneider, T.L.S., Hermes, L.B., Peixoto, N.C., Fabregat, T.E.H.P., 2019b. Tilapia protein hydrolyzate improves growth performance, protein absorption and antioxidant status in Silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquac. Res.*, 50, 3192-3201. <http://doi.org/10.1111/are.14273>

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)

Veldkamp, T., Bosch, G., 2015. Insects: a protein-rich feed ingredient in pig and poultry diets, *Anim. Front.*, v. 5, 45-50, <https://doi.org/10.2527/af.2015-0019>

Tabelas

Tabela 1. Formulação e composição centesimal das dietas experimentais

Ingredientes	Níveis de inclusão (% dieta)				
	0	10	20	30	40
Farelo de soja	30,0	24,0	19,0	14,0	4,5
TMd ¹	-	10	20	30	40
Farinha de peixe ²	30,33	23,82	16,30	9,28	4,30
Farelo de trigo	13,0	14,0	14,0	14,0	17,5
Milho moído	18,5	21,0	21,0	21,0	21,0
Óleo de soja	4,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Mistura vitamínica e mineral ³	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Calcário calcítico (33% Ca)	0,50	0,50	3,0	5,0	6,0
Cloreto de sódio	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
DL-Metionina 98%	1,17	1,18	1,20	1,22	1,20
Total	100	100	100	100	100
Nutrientes analisados					
Matéria seca	94,54	94,36	93,85	94,33	94,14
Proteína bruta	38,86	39,79	39,29	39,58	39,24
Lipídios	8,53	8,45	9,22	9,53	10,89
Matéria mineral	11,78	10,08	11,22	12,20	12,33
Extrato livre de nitrogênio	22,93	19,17	13,55	8,74	2,35
Cálcio ⁴	2,73	2,23	2,48	2,61	2,56
Fósforo ⁴	1,68	1,98	2,23	2,50	2,86
Energia calculada (kcal/kg) ⁵	3133	3097	3018	2959	2920

¹ TMd: farinha de larvas de *T. molitor* parcialmente desengordurada

² Farinha de resíduo de abate de Tilápia

³ Composição (unidade/kg de mistura): ácido fólico 370 mg; ácido pantotênico 3900 mg; biotina 40 mg; cobalto 58 mg; cobre 740 mg; colina 75 g; ferro 7500 mg; inositol 10 g; iodo 43 mg; manganês 7800 mg; niacina 8800 mg; selênio 38 mg; vitamina A 780.000 IU; vitamina B1 1400 mg; vitamina B12 1900 µg; vitamina B2 1450 mg; vitamina B6 1400 mg; vitamina C 19.5 g; vitamina D3 160.000 IU; vitamina E 14.800 IU; vitamina K3 475 mg; zinco 1400 mg.

⁴ Calculado de acordo com a Tabela Brasileira de Aves e Suínos (Rostagno, 2017).

⁵ Energia digestível, calculada de acordo com a análise de ingredientes = [(proteína bruta x 5640 x 0,9) + (lipídios x 9510 x 0,85) + (extrato livre de nitrogênio x 4110 x 0,50)] (Jobling, 1983).

Tabela 2. Composição dos aminoácidos da dieta

Aminoácidos essenciais ¹	Níveis de inclusão (% dieta)				
	0	10	20	30	40
Lisina	2,27	2,25	2,22	2,21	2,16
Metionina	1,79	1,78	1,76	1,75	1,72
Treonina	1,50	1,52	1,52	1,54	1,53
Valina	1,49	1,64	1,78	1,93	2,06
Isoleucina	1,35	1,41	1,46	1,52	1,55
Leucina	2,44	2,54	2,61	2,69	2,72
Fenilalanina	1,61	1,61	1,60	1,60	1,56
Histidina	0,75	0,83	0,91	0,99	1,05
Arginina	2,62	2,51	2,37	2,26	2,12
Aminoácidos não-essenciais ¹					
Ácido aspártico	3,44	3,41	3,36	3,34	3,20
Ácido glutâmico	5,68	5,53	5,32	5,14	4,84
Hidroxiprolina	0,94	0,74	0,51	0,30	0,15
Serina	1,81	1,85	1,87	1,90	1,89
Cistina	0,53	0,52	0,50	0,49	0,47
Alanina	2,26	2,35	2,39	2,46	2,55
Glicina	3,40	3,14	2,79	2,49	2,30
Prolina	2,51	2,47	2,37	2,30	2,26
Tirosina	1,09	1,45	1,81	2,17	2,51

¹ Cálculo com base na composição dos ingredientes da dieta (% dieta).

Tabela 3. Desempenho de crescimento de jundiás (peso corporal inicial $7,20 \pm 0,12$ g) alimentados com dietas experimentais contendo diferentes níveis de inclusão de TMd

Variáveis	Níveis de inclusão (% dieta)					EPM	Valor P
	0	10	20	30	40		
Peso final (g)	39,40	38,65	39,20	38,48	38,91	1,74	NS
Ganho de peso (g)	32,21	31,57	31,97	31,23	31,67	1,71	NS
Comprimento total (cm)	15,52	15,43	15,67	15,35	15,37	0,23	NS
Taxa de crescimento específico (%)	4,25	4,24	4,22	4,17	4,20	0,11	NS
Fator de condição	1,05	1,05	1,02	1,06	1,07	0,02	NS
Consumo de alimento (%/pv)	3,39	3,40	3,33	3,14	3,52	0,15	NS
Conversão alimentar aparente	0,97	0,93	0,97	0,92	1,02	0,05	NS
Sobrevivência (%)	98,86	94,32	100	100	98,86	3,01	NS

EPM = erro padrão da média. NS = não significativo ($P > 0,05$).

Tabela 4. Índices somáticos de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de TMD

Variáveis (%)	Níveis de inclusão (% dieta)					EPM	Valor P
	0	10	20	30	40		
Rendimento de carcaça	84,89	85,47	84,73	84,34	84,35	1,96	NS
Índice digestivo somático	5,84	5,74	5,83	5,48	5,22	1,03	NS
Índice hepato somático	1,92 ^b	2,24 ^{ab}	2,22 ^{ab}	2,27 ^{ab}	2,59 ^a	0,31	0,003
Gordura intraperitoneal	2,24	2,37	2,84	2,97	3,25	1,43	NS
Quociente intestinal	1,44	1,29	1,19	1,26	1,27	0,18	NS

^{a, b, c} Valores dentro de uma linha seguidos de letras diferentes representam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). EPM = erro padrão da média. NS = não significativo ($P > 0,05$).

Tabela 5. Composição corporal e deposição de nutrientes de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de TMd

Variáveis (%)	Níveis de inclusão (% dieta)					EPM	Valor P
	0	10	20	30	40		
Matéria seca	25,56 ^{bc}	25,61 ^{bc}	25,39 ^c	26,19 ^b	26,88 ^a	0,38	0,0005
Proteína bruta	13,61	13,18	13,51	13,26	13,68	0,43	NS
Gordura	5,57 ^b	4,68 ^b	6,32 ^b	6,24 ^b	9,53 ^a	1,32	0,0017
Matéria mineral	4,05	4,17	3,63	3,80	3,70	0,30	NS
Deposição de proteína	4,28	4,17	4,20	4,10	4,50	0,27	NS
Deposição de gordura	1,70 ^b	1,38 ^b	1,93 ^b	1,90 ^b	3,33 ^a	0,36	0,0001

^{a, b, c} Valores dentro de uma linha seguidos de letras diferentes representam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). EPM = erro padrão da média. NS = não significativo ($P > 0,05$).

Tabela 6. Parâmetros plasmáticos de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de TMd

Variáveis	Níveis de inclusão (% dieta)					EPM	Valor P
	0	10	20	30	40		
Proteína (g dL ⁻¹)	3,22 ^a	3,18 ^a	2,85 ^a	2,73 ^b	2,85 ^{ab}	0,28	0,008
Glicose (mg dL ⁻¹)	78,37 ^a	83,28 ^a	79,43 ^a	67,91 ^b	67,33 ^b	3,97	0,0001
Triglicerídeos (mg dL ⁻¹)	772,43 ^a	820,38 ^a	538,02 ^c	618,63 ^b	643,33 ^b	27,75	0,0001

^{a, b, c} Valores dentro de uma linha seguidos de letras diferentes representam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). EPM = erro padrão da média. NS = não significativo ($P > 0,05$).

Tabela 7. Atividade das enzimas digestivas em jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de TMD

Variáveis	Níveis de inclusão (% dieta)					EPM	Valor P
	0	10	20	30	40		
Protease ¹	49,00 ^c	78,07 ^b	61,15 ^{bc}	98,82 ^a	77,66 ^b	11,23	0,0001
Lipase ²	4,18 ^{ab}	3,82 ^b	4,67 ^{ab}	4,13 ^{ab}	5,16 ^a	0,67	0,03
Tripsina ³	3,94 ^b	4,33 ^{ab}	4,88 ^a	4,87 ^a	4,83 ^a	0,44	0,001
Quimotripsina ⁴	3,41	3,10	3,54	3,27	3,82	0,51	NS

^{a, b, c} Valores dentro de uma linha seguidos de letras diferentes representam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). 1. μg tirosina/min/mg de proteína. 2. μmol nitrofenol meristato/min/mg de proteína. 3. μmol TAME/min/mg de proteína. 4. mmol BTEE/min/mg de proteína. EPM = erro padrão da média. NS = não significativo ($P > 0,05$).

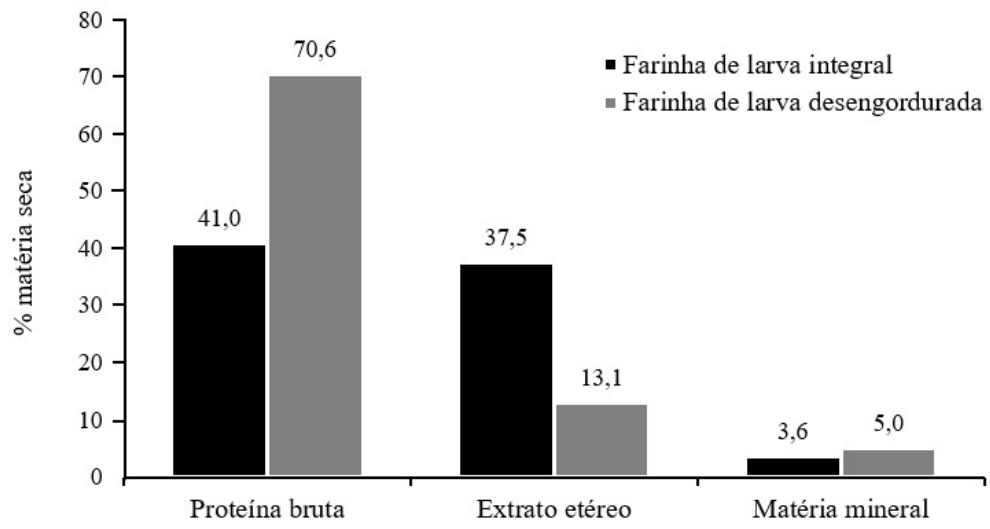
Legenda de figuras

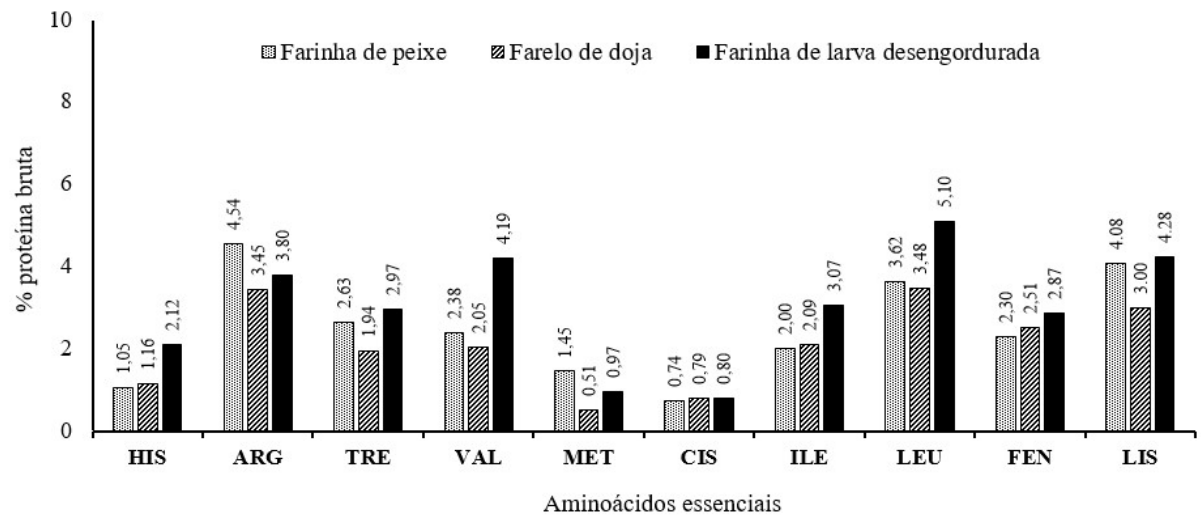
Figura 1. Composição química da farinha de larvas integral e farinha de larvas desengordurada em % da matéria seca.

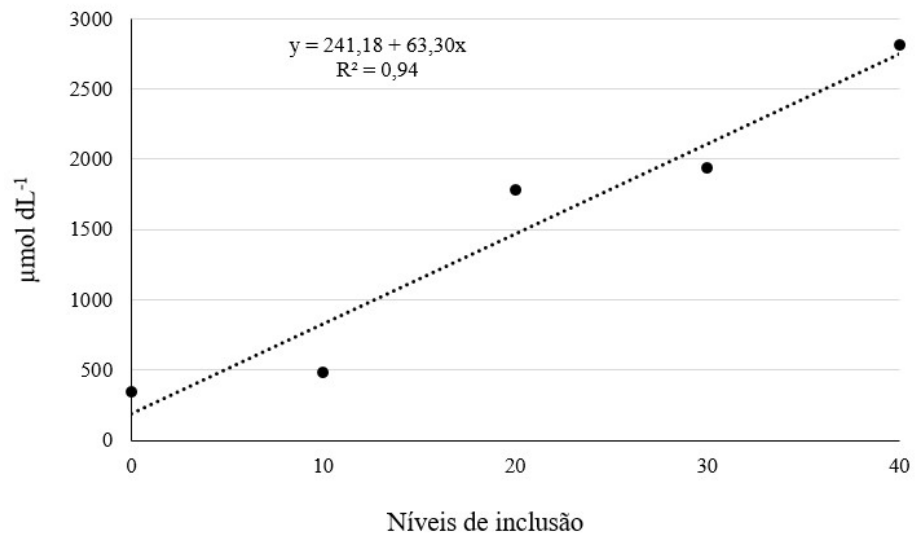
Figura 2. Composição de aminoácidos essenciais presente na farinha de peixe (66% PB), farelo de soja (45% PB) e na farinha de larvas de *T. molitor* parcialmente desengordurada (70% PB).

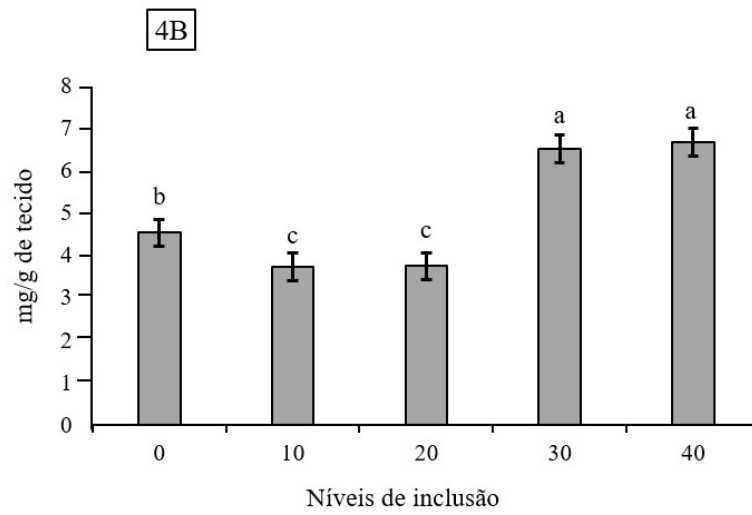
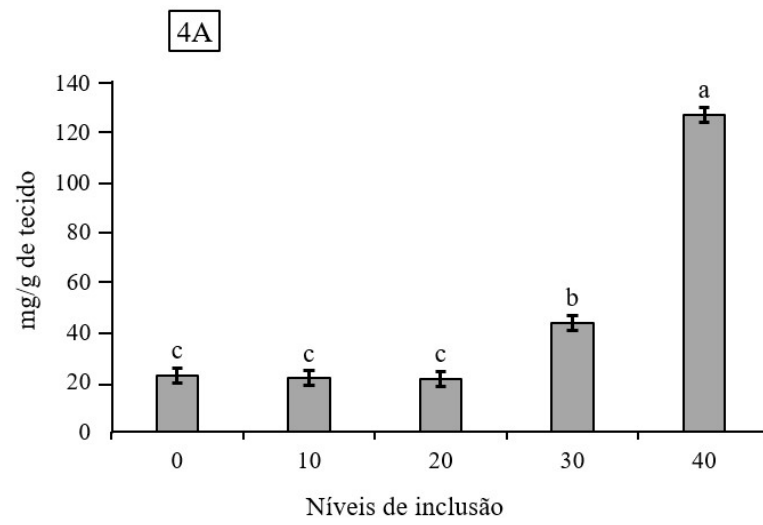
Figura 3. Concentração de aminoácidos no plasma de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de TMd: 0, 10, 20, 30 e 40%.

Figura 4. Concentração de glicogênio no fígado (4A) e no músculo (4B) de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de TMd: 0, 10, 20, 30 e 40%. Letras diferentes na figura representam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).









4. ARTIGO II

Efeitos da farinha de larva de *Tenebrio molitor* parcialmente desengordurada sobre os parâmetros hematológicos, metabólicos e oxidativos em jundiás (*Rhamdia quelen*)*

Joziane Soares de Lima^{1*}, Thamara Luísa Staudt Schneider¹, Nilce Coelho Peixoto², Rodrigo Borille³, Rafael Lazzari^{1,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima nº 1000, Bairro Cidade Universitária - Camobi, Santa Maria - RS, 97105-900, Brasil.

²Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Independência, 3751, Bairro Vista Alegre, Palmeira das Missões, Rio Grande do Sul, CEP: 98300-000, Brasil.

³Departamento de Ciências Animais e Biológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Independência, 3751, Bairro Vista Alegre, Palmeira das Missões, Rio Grande do Sul, CEP: 98300-000, Brasil.

Palavras-chaves: hemograma; metabolismo; peroxidação lipídica; farinha de insetos.

Efeito da farinha de inseto na nutrição do jundiá

Ciências Agrárias

Autor correspondente: Endereço: Laboratório de Piscicultura, Universidade Federal de Santa Maria campus Palmeira das Missões, Av. Independência, 3751, Bairro Vista Alegre, CEP: 98300-000. Tel. +55 (55) 9 9617-7758. E-mail: jozianesoaresdelima@gmail.com

** O artigo será submetido à revista Anais da Academia Brasileira de Ciências.

RESUMO

O presente estudo avaliou a influência da dieta com inclusão de farinha de larvas de *Tenebrio molitor* parcialmente desengordurada (TMd) sobre os parâmetros hematológicos, metabólicos e oxidativos de juvenis de jundiá. Foram utilizados 440 animais ($7,20 \pm 0,12\text{g}$), alimentados durante seis semanas com cinco dietas: controle e TMd (10, 20, 30 e 40%), até a saciedade aparente. Ao final do ensaio biológico foi realizada a coleta de sangue, fígado e músculo para análises posteriores. Após análise estatística foi possível observar que a inclusão de TMd reduziu todos os parâmetros hematológicos, exceto o VCM. A concentração de amônia e lactato, e a atividade das transaminases foram significativas. Os níveis de aminoácidos no tecido hepático e muscular aumentaram. A proteína teve suas quantidades reduzidas no plasma, fígado e músculo. Nas inclusões entre 20 e 40% de TMd na dieta houve um aumento da atividade das enzimas antioxidantes no fígado dos jundiás, porém, no músculo ocorreu a diminuição dessas enzimas. O mesmo foi observado para a produção de radicais livres. No tecido hepático ocorreu diminuição da concentração de TBARS e tióis totais, porém, no tecido muscular ocorreu o aumento dos radicais livres. Conclui-se que a TMd pode ser utilizada em dietas práticas para juvenis de jundiá até 30% de inclusão sem prejudicar os parâmetros hematológicos e a atividade antioxidante nos tecidos.

INTRODUÇÃO

A aquicultura vem se expandindo rapidamente nos últimos anos em comparação com outros setores de produção de alimentos de origem animal (Sabo-Attwood et al., 2021). O aumento da demanda de pescado pelos consumidores e o esgotamento da pesca de captura, tornará a aquicultura a principal fonte de pescado para o consumo humano até 2030 (FAO, 2016; Stankus, 2021). Em 2021, o Brasil produziu 841 mil toneladas de peixes cultivados, um crescimento de 4,7% em relação ao ano anterior (Peixe BR, 2022). Com grande influência no setor, a piscicultura da Região Sul cresceu aproximadamente 17% nos últimos dois anos, mantendo a liderança na produção de peixes (Peixe BR, 2022).

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é uma espécie nativa, com potencial para a piscicultura continental, por ser de fácil manejo, ter rápido crescimento, possuir carne com ausência de espinhas intramusculares, baixo teor de gordura e sabor agradável, com boa aceitação pelos consumidores (Barcellos, 2004; Baldisserotto et al., 2010). Além disso, apresenta tolerância e apetite mesmo nas épocas mais frias do ano (Júnior, Silva & Rocha, 2015). No estado do Rio Grande do Sul, o jundiá está entre as espécies mais produzidas e comercializadas na forma jovem pelos produtores, onde ocupa o terceiro lugar com 3.735 mil toneladas de alevinos comercializados anualmente (Relatório Piscicultura RS, 2020).

A produção de formas jovens na piscicultura é de extrema importância, pois possui alta correlação com as fases subsequentes, que influenciam no sucesso da produção de pescado. Animais jovens possuem exigências elevadas em relação à quantidade, qualidade e disponibilidade de nutrientes fornecidos pelas dietas (Souza et al., 2014; Santos & Meurer, 2020). Assim como os demais setores de produção animal, a piscicultura foi diretamente afetada pela elevação do preço dos insumos e matérias-primas para alimentação, commodities, cujo preço é regulado pelo dólar e enfrentaram problemas de abastecimento ao longo do ano

(CONAB, 2021; Peixe BR, 2022). A busca por ingredientes alternativos ao uso da farinha de peixe e do farelo de soja se faz necessária independente do cenário econômico, político e social, visando diminuir custos, ter oferta constante e padrão de qualidade, além de alto valor nutricional.

Fontes alimentares advindas de insetos são a tendência mundial de alimentação. Nos últimos anos, um número crescente de ensaios alimentares vem sendo realizados usando farinhas de insetos para substituir, de forma parcial, a farinha de peixe na aquicultura (Rios et al. 2021; Alfiko et al., 2022). O *Tenebrio molitor* está entre as espécies de insetos mais estudadas no mundo atualmente, o qual desperta o interesse pelo valor nutricional de suas larvas, com alto percentual proteico (47-60%) e lipídico (31-43%), além de minerais e vitaminas (Liu et al., 2005; Rumpold et al., 2014). Em termos de qualidade nutricional, a farinha de larvas de *T. molitor* apresenta um perfil de aminoácidos balanceado e o conteúdo de alguns aminoácidos indispensáveis é maior (em % de proteína) do que em plantas terrestres, e ligeiramente menor do que na farinha de peixe (Li, Zhao & Liu, 2013; Nogales-Mérida et al., 2019; Terova et al., 2021). Outros estudos realizaram a extração da gordura presente na farinha da larva do *T. molitor* aumentando, assim, o percentual de proteína e aminoácidos deste produto (Ido et al., 2019; Rema et al., 2019).

Alguns autores, relataram a melhoria de indicadores imunológicos em peixes alimentados com a farinha de larvas de *T. molitor* integral (Ngo & Kim, 2014; Su et al., 2017), principalmente com espécies carnívoras, no entanto, poucos estudos foram realizados com onívoras, como o jundiá. No entanto, alguns parâmetros, referente ao uso de larvas de *T. molitor* na nutrição de peixes, ainda não foram esclarecidos e o presente trabalho pode auxiliar nessa questão. Assim, o objetivo foi avaliar os efeitos da inclusão da farinha da larva de *Tenebrio molitor* parcialmente desengordurada (TMd) sobre os parâmetros hematológicos, metabólicos e oxidativos em juvenis de jundiás.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Piscicultura da Universidade Federal de Santa Maria, *Campus* de Palmeira das Missões, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFSM (nº 2001171120).

DIETAS EXPERIMENTAIS

Cinco dietas práticas, adaptadas de Lazzari et al. (2008) e Schneider et al. (2020), foram formuladas com farinha de larvas de *Tenebrio molitor* parcialmente desengordurada (TMd) (Tabela 1): uma dieta controle contendo farinha de peixe e farelo de soja (controle, 0% de TMd) e quatro dietas contendo TMd (10, 20, 30 e 40%). As dietas experimentais foram produzidas considerando o percentual de proteína bruta, bem como o perfil de aminoácidos obtidos nas fontes utilizadas (Tabela 2). Os ingredientes foram combinados usando misturador horizontal. Durante o processo, óleo e água foram adicionados aos ingredientes e, então foram peletizadas (4 mm). Os *pellets* foram secos a 50°C por 24 h e armazenados em freezer à - 4°C.

ANIMAIS, ALIMENTAÇÃO E COLETA DE TECIDOS

Os animais foram adquiridos da piscicultura Nossa Senhora Aparecida[®], município de Ijuí, Rio Grande do Sul. Inicialmente, os peixes ficaram 10 dias em aclimatação e receberam ração comercial (Aqua Line, Supra[®], 42% proteína bruta). Durante a biometria inicial, 440 juvenis de jundiá ($7,20 \pm 0,12$ g) foram distribuídos aleatoriamente em 20 tanques de polipropileno (230 L volume útil), alojando 22 animais por unidade experimental (densidade = 0,68 g/L). O ensaio foi realizado em sistema de recirculação de água, composto por um decantador, dois filtros biológicos e um reservatório de água com capacidade de 1000 L, equipado com sistema de aquecimento e injeção de oxigênio, e tanques com entrada e saída de

água individuais. Durante o experimento, os peixes foram alimentados com as dietas até a saciedade aparente, definida através da observação da recusa alimentar dos peixes pelo tratador, em três refeições diárias (8h30, 13h00 e 17h30) durante seis semanas. Ao final do período experimental, para a coleta de tecidos, os animais foram eutanasiados com sobredose de benzocaína (250 mg L⁻¹), de acordo com a American Veterinary Medical Association (AVMA, 2013).

QUALIDADE DA ÁGUA

Os resíduos fecais foram retirados dos tanques por sifonagens diárias (11h00 e 16h00). Durante o período experimental, os parâmetros de qualidade da água foram monitorados e mantidos da seguinte forma: temperatura de 23,74 ± 1,21°C; oxigênio dissolvido: 7,13 ± 0,41mg L⁻¹; pH: 7,74 ± 0,22; amônia total: 0,10 ± 0,06 mg L⁻¹; nitrito: 0,03 ± 0,01 mg L⁻¹; dureza: 50,18 ± 4,21 mg L⁻¹ CaCO₃ e alcalinidade: 45,75 ± 7,92 mg L⁻¹ CaCO₃. Todos os parâmetros permaneceram adequados para o cultivo de jundiás (Baldisserotto & Silva, 2004).

ANÁLISES HEMATOLÓGICAS

Duas alíquotas de sangue foram coletadas aleatoriamente (oito peixes/tratamento) por punção da veia caudal com seringas heparinizadas. Em seguida, foi realizado o eritrograma através da contagem de eritrócitos em câmara de Neubauer, hematócrito em centrífuga de hematócrito e a hemoglobina determinada por análise colorimétrica (Labtest[®]) para cálculo dos índices eritrocitários: volume corpuscular médio (VCM): [(hematócrito*10) /número de eritrócitos]; hemoglobina corpuscular média (HCM): [(hemoglobina*10) /número de eritrócitos]; concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM): [(hemoglobina*100) /hematócrito].

METABOLISMO NO TECIDO HEPÁTICO E MUSCULAR

Amostras de fígado (100 mg) e músculo (400 mg) foram aquecidas a 100°C com hidróxido de potássio 30% para estimar o teor de proteína (Bradford, 1976). Em uma fração foi adicionado etanol para hidrólise e precipitação do glicogênio, o qual foi determinado após centrifugação a 3500 xg por 15 min (Krisman, 1962). As amostras de fígado (25 mg) e músculo (50 mg) foram homogeneizadas em ácido tricloroacético 10%, centrifugadas (3500 xg, 10 min); e o sobrenadante foi utilizado para a dosagem de glicose (kit colorimétrico Enzymatic-Trinder), ácido láctico (Harrower & Brown, 1972) e amônia (Verdouw et al., 1978). Homogeneizados de fígado (50 mg) e músculo (250 mg) foram preparados com tampão fosfato de potássio (pH 7,5), centrifugados (3500 xg por 10 min) para posterior dosagem de aminoácidos (Moore & Stein, 1948), atividade da aspartato aminotransferase (AST) e da alanina aminotransferase (ALT) por kits adquiridos da Labtest® (Reitman & Frankel, 1957). Todas as absorbâncias foram comparadas com as das soluções padrão.

ANÁLISES ENZIMÁTICAS E DE ESTRESSE OXIDATIVO

Amostras de fígado (50 mg) e músculo (250 mg) foram homogeneizadas com tampão fosfato de potássio TFK (pH 7,5) e centrifugadas a 3500 xg por 10 min. A fração sobrenadante foi armazenada congelada para medições subsequentes da peroxidação lipídica através da medida das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), segundo Buege & Aust (1978), níveis de tióis totais, como descrito por Ellman (1959), atividade da superóxido dismutase (SOD) e da catalase (CAT), de acordo com Misra & Fridovich (1972) e Aebi (1984), respectivamente. A proteína da amostra foi determinada pelo método do biureto (Gornall, Bardawill & David, 1949) e os valores de SOD foram expressos em U/mg ou g de proteína. Os demais parâmetros foram expressos da seguinte forma: CAT (mmol H₂O₂/min/g de tecido), tióis totais (μmol SH/g de tecido) e TBARS (μmol MDA/g de tecido).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados discrepantes foram determinados e quando fora do intervalo (média \pm 1 x SD) foram excluídos, seguindo metodologia adaptada de Uczay et al. (2019b). Em seguida, foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas no software Statistical Analysis System[®].

RESULTADOS

PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

As dietas experimentais influenciaram todos os parâmetros hematológicos ($P < 0,05$) (Tabela 3). A inclusão da TMd nas dietas diminuiu o número de eritrócitos e o hematócrito, com os menores valores para os peixes alimentados com 40% de inclusão. O grupo alimentado com 40% de inclusão de TMd ficou com os menores valores de hemoglobina e CHCM comparado ao grupo alimentado com 10% de inclusão. A HCM apresentou maior concentração nos peixes alimentados com 10% de inclusão da TMd em relação ao grupo controle. O VCM aumentou conforme aumentou o nível de inclusão da TMd, onde seu maior valor ficou no grupo alimentado com 40% de inclusão comparado ao grupo controle.

METABOLISMO HEPÁTICO E MUSCULAR

Todas as variáveis do metabolismo hepático e muscular foram afetadas ($P < 0,05$) pela inclusão de TMd (Tabela 5). A presença de amônia no fígado foi menor no grupo alimentado com 20 e 40% de inclusão de TMd. No músculo, a maior concentração de amônia foi encontrada no grupo alimentado com 20% de TMd. A glicose hepática foi maior nos peixes que receberam a dieta com 20 e 40% de TMd. No músculo, a maior concentração de glicose foi nos peixes do

grupo controle e os valores reduziram com o aumento da inclusão de TMd. As menores concentrações de lactato no fígado foram encontradas nos peixes alimentados com 10 e 30% de inclusão de TMd. O lactato muscular foi encontrado em menores concentrações nos peixes alimentados com 40% de TMd. O grupo alimentado com a dieta controle tiveram as maiores concentrações de proteína no fígado e no músculo, em relação aos demais grupos. A maior concentração de aminoácidos no fígado foi encontrada nos peixes alimentados com 40% de TMd. No músculo, a maior concentração de aminoácidos foi encontrada no grupo alimentado com 10 e 40% de TMd. Os peixes alimentados com 10, 20 e 30% de inclusão de TMd apresentaram a maior atividade hepática da AST comparado aos demais grupos. No músculo, a maior atividade da AST foi encontrada em 0 e 40% de inclusão comparado ao grupo alimentado com 10% de TMd. No fígado, a maior atividade da ALT foi observada em animais alimentados com as dietas 0, 10, 20 e 30% de inclusão. Os peixes, alimentados com a dieta controle apresentaram a menor atividade da ALT muscular comparado aos peixes alimentados com 10 e 40% de TMd, que apresentaram a maior atividade desta enzima.

ANÁLISES ENZIMÁTICAS E DE ESTRESSE OXIDATIVO

A atividade da SOD no fígado foi maior nos peixes alimentados com 20% de inclusão de TMd. No músculo, a atividade da SOD teve um efeito linear decrescente, onde os menores níveis foram encontrados nos animais alimentados com 30 e 40% de TMd. A menor atividade da CAT no fígado foi observada nos peixes alimentados com 40% de TMd. No músculo, os peixes alimentados com 40% de TMd apresentaram a maior atividade de CAT. A concentração de tióis no fígado foi menor nos peixes alimentados com 40% de TMd em relação a dieta controle, não diferindo dos demais grupos. No músculo, a maior concentração de tióis foi encontrada nos animais alimentados com 40% de inclusão, comparado aos animais alimentados com a dieta controle e com 10, 20 e 30% de TMd. Os peixes alimentados com as dietas 0 e 10%

de inclusão apresentaram a maior concentração de TBARS no fígado, comparado aos alimentados com 20 e 30% de TMd. A maior concentração de TBARS no músculo foi identificada nos animais alimentados com 20% de inclusão em relação aos animais alimentados com 10 e 30% de TMd.

DISCUSSÃO

A inclusão da farinha de larvas de *Tenebrio molitor* em dietas para o jundiá proporcionou alterações nos parâmetros hematológicos, metabólicos e resposta antioxidante dos peixes. O conhecimento dos parâmetros hematológicos pode facilitar o entendimento do estado de saúde dos peixes em resposta às mudanças relacionadas à nutrição, qualidade da água e doenças (Fazio, 2019). Segundo Tavares-Dias et al. (2002), valores referência de eritrócitos para o jundiá ficam entre 1,55 e 2,92 $10^6 \mu\text{L}^{-1}$, hematócrito, entre 17 e 24%, hemoglobina, 4,95 a 9,09 g dL^{-1} , MCHC, entre 20,24 e 35,91 g dL^{-1} e VCM, entre 87,82 e 219,35 fL. No presente estudo, a diminuição no número de eritrócitos, à medida que aumentou o nível de inclusão de TMd, fez com que as células aumentassem seu volume como forma de compensar a captação e transporte de oxigênio, frente também à redução da hemoglobina, principal responsável pelo transporte de oxigênio no sangue (Tavares-Dias & Moraes, 2004). A hemoglobina ficou abaixo dos valores apresentados por Tavares-Dias et al. (2002) nas inclusões de 20, 30 e 40% e, para o MCHC, o valor foi inferior apenas na inclusão de 40%. No entanto, os valores eritrocitários encontrados em nosso estudo corroboram com os achados em estudos anteriores com a espécie (Uczay et al., 2019; Schneider et al., 2020), os quais não afetaram o desempenho dos peixes. Tubin et al. (2020), em estudo com tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), não identificaram alterações nos parâmetros hematológicos dos peixes alimentados com a inclusão de farinha de *T. molitor* integral na dieta. Isto demonstra que a variação nos parâmetros hematológicos, como

tamanho e volume de hemácias, pode ser identificada para a mesma espécie em ambientes ou condições diferentes, induzindo adaptação fisiológica (Campbell & Murru, 1990).

Alterações na composição da dieta podem causar alterações metabólicas que aparecem em órgãos como fígado, por meio da determinação de indicadores relacionados ao metabolismo proteico e energético (Pretto et al., 2020). O fígado é responsável pela síntese de metabólitos, incluindo proteínas e aminoácidos (Mozanzadeh et al, 2018) provenientes da digestão e, as enzimas aspartato amino transferase (AST) e alanina amino transferase (ALT) estão envolvidas neste processo. Geralmente, o aumento na concentração dessas enzimas pode indicar uma utilização ineficiente da proteína (Pretto et al., 2020), assim como lesão hepática (Lin, Mao & Cai, 1990; Mohieldein, Hyder & Hansan, 2013; Song et al., 2018). A investigação de parâmetros metabólicos em peixes alimentados com TMD é deficiente, no entanto, alguns estudos utilizando a farinha de larva de *T. molitor* integral, encontraram aumento na atividade das transaminases séricas em juvenis de “Pearl Gentian grouper” (Song et al., 2018), já para juvenis de “Rockfish” não houve mudança na atividade destas enzimas (Khosravi et al., 2018). Em nosso estudo, considerando o fígado como órgão onde ocorre a massiva metabolização dos nutrientes provindos da dieta, os peixes alimentados com 40% de inclusão da TMD tiveram a menor atividade das transaminases. Contudo, mais estudos precisam ser realizados para desvendar melhor a atividade desses indicadores.

As enzimas são a primeira linha do mecanismo de defesa antioxidante contra a ação das espécies reativas (Deng et al., 2015), sendo essenciais para a manutenção do sistema imunológico dos peixes (Song et al., 2018). Em nosso estudo, observamos que em inclusões entre 20 e 40% de TMD na dieta houve um aumento da atividade das enzimas antioxidantes no fígado dos jundiás, porém, no músculo ocorreu a diminuição dessas enzimas. O mesmo foi observado para a produção de radicais livres. No tecido hepático observamos a diminuição da concentração de TBARS e tióis totais, porém, no tecido muscular ocorreu o aumento dos

radicais livres. Em estudos anteriores, com a utilização da farinha integral de larvas de *T. molitor* (inclusão 21 e 43%) em substituição à farinha de peixe na dieta de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), os autores observaram redução da atividade da SOD no fígado, mas a CAT não teve alteração (Sánchez-Muros et al., 2016). Em juvenis de “Pearl Gentian grouper” (*E. lanceolatus* x *E. fuscoguttatus*) ocorreu redução da SOD no fígado, em relação ao grupo controle e ao alimentado com 10% (Song et al., 2018). Sankian et al. (2018) não identificaram alteração na SOD e na peroxidação lipídica em juvenis de Mandarin fish (*Siniperca scherzeri*) alimentados com farinha de larvas de *T. molitor* integral. Os resultados encontrados por Su et al., (2017) para peroxidação lipídica e atividade da SOD, sugerem que a farinha da larva de *T. molitor* na dieta pode melhorar as funções antioxidantes do bagre amarelo (*Pelteobagrus fulvidraco*). Ainda neste estudo, os autores concluíram que o nível de inclusão de pelo menos 18% melhorou a resposta imune e a resistência, sem efeito negativo no crescimento dos peixes. O aumento da capacidade antioxidante com a inclusão de insetos na dieta pode ser devido ao seu teor de quitina ou à presença de outros compostos bioativos (Ngo & Kim, 2014), pois essas substâncias podem ter atividade imunoestimulantes (Henry et al., 2018). No presente estudo não foi avaliado o teor de quitina da TMd, no entanto, sugere-se que novos estudos façam essa avaliação, visto que a presença de quitina poderia influenciar no combate a peroxidação lipídica. Com base nos resultados obtidos, é possível inferir que níveis de até 30% de TMd na dieta de juvenis de jundiá levaram a uma maior atividade antioxidante e a redução da peroxidação lipídica nos tecidos.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a farinha de larvas de *Tenebrio molitor* parcialmente desengordurada (TMd) pode ser incluída até o nível de 30% em dietas práticas para juvenis de jundiá sem

prejudicar os parâmetros hematológicos, melhorando a atividade antioxidante e reduzindo a produção de radicais livres nos tecidos.

AGRADECIMENTOS

À empresa Puro Trato Nutrição Animal[®], pela doação dos ingredientes utilizados nas rações, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa de estudos concedida à JSL e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa de pesquisa concedida à RL (processo n. 312849 / 2020-6).

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. 1984. Catalase in vitro. *Meth. Enzymol.*, 105, 121–126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3).
- ALFIKO, Y., XIE, D., ASTRUTI, R.T., WONG, J. & WANG, L. 2022. Insects as a feed ingredient for fish culture: Status and trends. *Aquac. Fish.*, 7, 166-178. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.10.004>
- AVMA. 2013. Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition. Association American Veterinary Medical.
- BALDISSEROTTO, B. & SILVA, L.V.F. 2004. Qualidade da água. In: BALDISSEROTTO, B. & RADÜNZ NETO, J. (Eds.), Criação do jundiá, Vol. 1. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, pp. 73–94.
- BALDISSEROTTO, B., RADUNZ NETO, J. & BARCELLOS, L. 2010. Jundiá (*Rhamdia* sp). In: BALDISSEROTTO, B. & GOMES, L.C. (Org.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2. ed. Santa Maria: UFSM, p. 301-333.
- BARCELLOS, L.J.G., KREUTZ, L.C., QUEVEDO, R.M., FIOREZE, I., CERICATO, L., SOSO, A.B., FAGUNDES, M., CONRADO, J., BALDISSERA, R.K., BRUSCHI, A. & RITTER, F. 2004. Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. *Aquaculture* 232, 383-394.

BRADFORD, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248–254. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2014.10.005>

BUEGE, J.A. & AUST, S.D. 1975. Microsomal lipid peroxidation. *J. Physics: Conference Series*, 71, 302–310. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/71/1/012004>

CAMPBELL, T.W. & MURRU, F. 1990. An introduction to fish hematology. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 12: 525-532.

CONAB 2021. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 9, safra 2021/22, n. 4 quarto levantamento. Available in: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Access at: Jan. 2022.

DENG, J., MAI, K., CHEN, L., MI, H. & ZHANG, L. 2015. Effects of replacing soybean meal with rubber seed meal on growth, antioxidant capacity, non-specific immune response, and resistance to *Aeromonas hydrophila* in tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). *Fish Shellfish Immunol.*, 44, 436-444. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.018>

ELLMAN, G.L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70–77.

FAO 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp. <https://www.fao.org/documents/card/es/c/357c79a0-7fee-428f-a04e-9e86ba1a2ac5/>

FAZIO, F. 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture* 500, 237-242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>

GORNALL, A.G., BARDAWILL, C.J. & DAVID, M.M. 1948. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. From the Department of Pathologic & Chemistry, University of Toronto, Toronto, Canada.

HARROWER, J.R. & BROWN, H. 1972. Blood lactic acid – a micromethod adapted to field collection of microliter samples. *J. Appl. Physiol.*, 32, 5.

HENRY, M.A., GAI, F., ENES, P., PERÉZ-JIMÉNEZ, A. & GASCO, L. 2018. Effect of partial dietary replacement of fishmeal by yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae meal on the

innate immune response and intestinal antioxidant enzymes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.*, 83, 308-313. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.09.040>

IDO, A., HASHIZUME, A., OHTA, T., TAKAHASHI, T., MIURA, C. & MIURA, T. 2019. Replacement of fish meal by defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae in diet improves growth performance and disease resistance in red seabream (*Pargus major*). *Animals* 9 (3), 100. <https://doi.org/10.3390/ani9030100>

JOBLING, M. 1983. A short review and critique of methodology used in fish growth and nutrition studies. *J. Fish Biol.*, 23(6), 685-703. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1983.tb02946.x>

JÚNIOR, H.A., SILVA, N.R. & ROCHA, D.J.L. 2015. Sistemas de cultivo com jundiá *Rhamdia quelen* para o Estado de Santa Catarina. In: JÚNIOR, H.A., GARCIA, S., WARMLING, P.F., SILVA, B.C., MARCHIORI, N.C. Assim cultivamos o jundiá *Rhamdia quelen* no estado de Santa Catarina. 1ª ed. Camboriú, SC, p. 11.

KHOSRAVI, S., KIM, E., LEE, Y-S & LEE, S-M. 2018. Dietary inclusion of mealworm (*Tenebrio molitor*) meal as an alternative protein source in practical diets for juvenile rockfish (*Sebastes schlegelii*). *Entom. Res.*, 48, 214–221. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12306>

LAZZARI, R., RADÜNZ NETO, J., PEDRON, F.A., VEIVERBERG, C.A., BERGAMIN, G.T., LIMA, R.L. & STEFFENS, C. 2008. Desempenho e composição dos filés de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos a diferentes dietas na fase de recria. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 60(2), 477–484. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352008000200030>

LIMA, J.S., PITTALUGA, M.L., LOVATTO, N.M., VEIVERBERG, C.A., BORILLE, R., LAZZARI, R. 2021. Mealworm (*Tenebrio molitor*) potencial in fish nutrition: a review. *Res. Soc. Dev.*, v. 10, n. 16, e269101623229. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i16.23229>

LIN, D., MAO, Y. & CAI, F., 1990. Nutritional lipid liver disease of grass carp *Ctenopharyngodon idyllus* (C. et V.). *Chin. J. Oceanol. Limn.*, 8, 363-373.

LIU, W.X., WEI, M.C., LIU, G.Q. 2005. Bioactive compounds from insects and its development perspective. *Food Sci. Technol.*, 1, 48-51.

- LI, L., ZHAO, Z. & LIU, H. 2013. Feasibility of feeding yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L.) in bioregenerative life support systems as a source of animal protein for humans. *Acta Astronaut.*, 92:103–109.
- MISRA, H.P. & FRIDOVICH, I. 1972. The role of superoxide anion in the auto-oxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.*, 247, 3170-3175.
- MOHIELDEIN, A., HYDER, M.A. & HASAN, M. 2013. Comparative levels of ALT, AST, ALP and GGT in liver associated diseases. *Eur. J. Exp. Biol.*, 3 (2), 280-284.
- MOZANZADEH, M.T., YAGHOUBI, M., MARAMMAZI, J.G., SAFARI, O. & GISBERT, E. 2018. Hemato-immunological and plasma biochemical responses of silvery-black porgy (*Sparidentex hasta*) fed protein and essential amino acid deficient diets. *Comp. Clin. Pathol.*, 27(1), 55-60. <https://doi.org/10.1007/s00580-017-2551-y>
- NGO, D.H. & KIM, S.K. 2014. Antioxidant effects of chitin, chitosan, and their derivatives. *Adv. Food Nutr. Res.*, 73, 15-31. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800268-1.00002-0>
- NOGALES-MÉRIDA, S., GOBBI, P., JÓZEFIAK, D., MAZURKIEWICZ, J., DUDEK, K., RAWSKI, M., KIEROŃCZYK, B. & JÓZEFIAKHTTIPS, A. 2019. Insects meals in fish nutrition. *Rer. Aquac.*, 11, 1080-1103. <http://doi.org/10.1590/S0044-59672013000400005>
- PEIXE BR 2022. Associação Brasileira da Piscicultura. Anuário 2022. <https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>
- PRETTO, A., SILVA, L.P., CORREIA, V. & MARTINELLI, S.G. 2020. Effect of feeding crude or treated tung meal (*Aleurites fordii*) in the diet of *Rhamdia quelen* on growth, digestive enzymes and biochemical parameters. *Ciênc. Anim. Bras.*, v.21, e-46276. <http://doi.org/10.1590/1809-6891v21e-46276>
- REITMAN, M.D.S. & FRANKEL, S. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Medical and Laboratory Sections, Research Institute, The Jewish Hospital of St. Louis, St. Louis, Missouri.
- RELATÓRIO PISCICULTURA RS 2020. Espécies produzidas/comercializadas pelos produtores de formas jovens gaúchos. In: Levantamento dos elos de apoio à piscicultura do Rio Grande do Sul. 40p.

REMA, P., SARAVANAN, S., ARMENJON, B., MOTTE, C. & DIAS, J. 2019. Graded incorporation of defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) in rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet improves growth performance and nutrient retention. *Animals* 9, 187. <http://doi.org/10.3390/ani9040187>

RIOS, C., PANINI, R.L., ACORDI MENEZES, L.A., VIEIRA, F.N., FRACALOSSO, D.M., SAMUELS, R.I., DE DEA LINDNER, J. & SILVA, C.P. 2021. Effects of the substitution of fishmeal with mealworm meal on enzymes, haemolymph and intestinal microbiota of the Pacific white shrimp. *J. Insec. Food Feed* 7 (6), 1023-1033. <https://doi.org/10.3920/JIFF2020.0148>

ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., HANNAS, M.I., DONZELE, J.L., SAKOMURA, N.K., PERAZZO, F.G., SARAIVA, A., TEIXEIRA, M.L., RODRIGUES, P.B., DE OLIVEIRA, R.F., BARRETO, S.L.T. & BRITO, C.O. 2017. Composição dos Alimentos e Exigências Nutricionais. In: Horacio Santiago Rostagno (4ed.). Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos 488p. Viçosa, Minas Gerais: UFV.

RUMPOLD, B.A., FRÖHLING, A., REINEKE, K., KNORR, D., BOGUSLAWSKI, S., EHLBECK J. & SCHLÜTER O. 2014. Comparison of volumetric and surface decontamination techniques for innovative processing of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*). *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 26, 232-241. <http://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.09.002>.

SABO-ATTWOOD, T., APUL, O.G., BISESI JR., J.H., KANE, A.S. & SALEH, N.B. 2021. Nano-scale applications in aquaculture: Opportunities for improved production and disease control. *J. Fish Diseases*. 44 (4), 359-370. <https://doi.org/10.1111/jfd.13332>

SÁNCHEZ-MUROS, M.J., DE HARO, C., SANZ, A., TRENZADO, C.E., VILLARECES, S. & BARROSO, F.G. 2016. Nutricional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilápia (*Oreochromis niloticus*) diet. *Aquac. Nutr.*, 22, 943-955. <http://doi.org/10.1111/anu.12313>

SANKIAN, Z., KHOSRAVI, S., KIM, Y-O. & LEE, S-M. 2018. Effects of dietary inclusion of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal on growth performance, feed utilization, body composition, plasma biochemical indices, selected immune parameters and antioxidante

enzyme activities of mandarin fish (*Siniperca scherzeri*) juveniles. *Aquac.*, 496, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.012>

SANTOS, H.K. & MEURER, F. 2020. Nutrition and Feeding Aspects for Jundiá (*Rhamdia quelen*) *Rhamdia quelen* Nutrition and Feeding. *Rev. Aquac.*, 12, 299-309. <https://doi.org/10.1111/raq.12318>

SCHNEIDER, T.L.S., DURIGON, E.G., PEIXOTO, N.C., UCZAY, J., MOLINARI, M. & LAZZARI, R. 2020. Effects of reduced protein level and dietary amino acid supplementation on growth, body composition and intestinal morphometry of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquac. Res.*, 1-13. <http://doi.org/10.1111/are.14830>

SONG, S.G., CHI, S.Y., TAN, B.P., LIANG, G.L., LU, B.Q., DONG, X.H., YANG, Q.H., LIU, H.Y. & ZHANG, S. 2018. Effects of fishmeal replacement by *Tenebrio molitor* meal on growth performance, antioxidante enzyme activities and disease resistance of the juvenile pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatus* x *Epinephelus fuscoguttatus*). *Aquac. Res.*, 49, 2210-2217. <https://doi.org/10.1111/are.13677>

SOUZA, J.G.S., FARIA, B.P., OLIVEIRA, A.P.G., SELVATICI, P.D. & GONÇALVES, L.P.Jr. 2014. Aspectos Fisiológicos e comportamentais de peixes relacionados a agentes estressores. In: Deminicis, B.B., Martins, C.C. (eds) Tópicos Especiais em Ciência Animal III, pp. 301–311. CAUFES, Alegre, ES.

STANKUS, A. 2021. State of world aquaculture 2020 and regional reviews: FAO webinar series. In FAO aquaculture newsletter (2021) (pp. 17–18).

SU, J., GONG, Y., CAO, S., LU, F., HAN, D., LIU, H., JIN, J., YANG, Y., ZHU, X. & XIE, S. 2017. Effects of dietary *Tenebrio molitor* meal on the growth performance, immune response and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Fish Shellfish Imm.*, 69, 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.08.008>

TAVARES-DIAS, M., MELO, J.F.B., MORAES, G. & MORAIS, F.R. 2002. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. IV. Variáveis do jundiá (*Rhamdia quelen*). *Ciênc. Rur.*, Santa Maria, v.32, n.4, p.693-698.

TAVARES-DIAS, M. & MORAES, F.R. 2004. Hematologia de peixes teleósteos. Ed. Eletrônica e Arte Final. Ribeirão Preto - SP. 144 páginas.

TEROVA, G., GINI, E., GASCO, L., MORONI, F., ANTONINI, M. & RIMOLDI, S. 2021. Effects of full replacement of dietary fishmeal with insect meal from *Tenebrio molitor* on rainbow trout gut and skin microbiota. J. Animal Sci. Biotechnol., 12, 30. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00551-9>

TUBIN, J.S.B., PAIANO, D., HASHIMOTOB, G.S.O., FURTADO, W.E., MARTINS, M.L, DURIGON, E. & EMERENCIANO, M.G.C. 2020. *Tenebrio molitor* meal in diets for Nile tilapia juveniles reared in biofloc system. Aquaculture 519, 734-763. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734763>

UCZAY, J., BATTISTI, E.K., LAZZARI, R., PESSATTI, M.L., SCHENEIDER, T.L.S., HERMES, L.B., PEIXOTO, N.C. & FABREGAT, T.E.H.P. 2019. Fish meal replaced by hydrolysed soybean meal in diets increases growth and improves the antioxidant defense system of silver catfish (*Rhamdia quelen*). Aquac. Res., 50, 1438-1447. <http://doi.org/10.1111/are.14019>

VERDOUW, H., VANECHTELD, C.J.A. & DECKKERS, E.M.J. 1978. Ammonia determinations based on indophenol formation with sodium salicylate. Water Res. 12, 399–402.

Tabela I. Formulação e composição centesimal das dietas experimentais

Ingredientes	TMd (% dieta)				
	0	10	20	30	40
Farelo de soja	30,0	24,0	19,0	14,0	4,5
TMd ¹	-	10	20	30	40
Farinha de peixe ²	30,33	23,82	16,30	9,28	4,30
Farelo de trigo	13,0	14,0	14,0	14,0	17,5
Milho moído	18,5	21,0	21,0	21,0	21,0
Óleo de soja	4,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Mistura vitamínica e mineral ³	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Calcário calcítico (33% Ca)	0,50	0,50	3,0	5,0	6,0
Cloreto de sódio	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
DL-Metionina 98%	1,17	1,18	1,20	1,22	1,20
Total	100	100	100	100	100
Nutriente analisado (%)					
Matéria seca	94,54	94,36	93,85	94,33	94,14
Proteína bruta	38,86	39,79	39,29	39,58	39,24
Lipídios	8,53	8,45	9,22	9,53	10,89
Cinzas	11,78	10,08	11,22	12,20	12,33
Extrato livre de nitrogênio	22,93	19,17	13,55	8,74	2,35
Cálcio ⁴	2,73	2,23	2,48	2,61	2,56
Fósforo ⁴	1,68	1,98	2,23	2,50	2,86
Energia digestível (kcal/kg) ⁵	3133	3097	3018	2959	2920

¹ TMd: farinha de larvas de *T. molitor* parcialmente desengordurada

² Farinha de resíduo de abate de Tilápia

³ Composição (unidade/kg de mistura): ácido fólico 370 mg; ácido pantotênico 3900 mg; biotina 40 mg; cobalto 58 mg; cobre 740 mg; colina 75 g; ferro 7500 mg; inositol 10 g; iodo 43 mg; manganês 7800 mg; niacina 8800 mg; selênio 38 mg; vitamina A 780.000 IU; vitamina B1 1400 mg; vitamina B12 1900 µg; vitamina B2 1450 mg; vitamina B6 1400 mg; vitamina C 19.5 g; vitamina D3 160.000 IU; vitamina E 14.800 IU; vitamina K3 475 mg; zinco 1400 mg.

⁴ Calculado de acordo com a Tabela Brasileira de Aves e Suínos (Rostagno, 2017).

⁵ Energia digestível, calculada de acordo com a análise de ingredientes = [(proteína bruta x 5640 x 0.9) + (lipídios x 9510 x 0.85) + (extrato livre de nitrogênio x 4110 x 0.50)] (Jobling, 1983).

Tabela II. Composição dos aminoácidos da dieta

Aminoácidos essenciais¹	TMd (% dieta)				
	0	10	20	30	40
Lisina	2,27	2,25	2,22	2,21	2,16
Metionina	1,79	1,78	1,76	1,75	1,72
Treonina	1,50	1,52	1,52	1,54	1,53
Valina	1,49	1,64	1,78	1,93	2,06
Isoleucina	1,35	1,41	1,46	1,52	1,55
Leucina	2,44	2,54	2,61	2,69	2,72
Fenilalanina	1,61	1,61	1,60	1,60	1,56
Histidina	0,75	0,83	0,91	0,99	1,05
Arginina	2,62	2,51	2,37	2,26	2,12
Aminoácidos não-essenciais¹					
Ácido aspártico	3,44	3,41	3,36	3,34	3,20
Ácido glutâmico	5,68	5,53	5,32	5,14	4,84
Hidroxiprolina	0,94	0,74	0,51	0,30	0,15
Serina	1,81	1,85	1,87	1,90	1,89
Cistina	0,53	0,52	0,50	0,49	0,47
Alanina	2,26	2,35	2,39	2,46	2,55
Glicina	3,40	3,14	2,79	2,49	2,30
Prolina	2,51	2,47	2,37	2,30	2,26
Tirosina	1,09	1,45	1,81	2,17	2,51

¹ Calculado com base na composição dos ingredientes da dieta.

Tabela III. Valores eritrocitários de jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com diferentes níveis de inclusão de TMd na dieta

Parâmetros	TMd (%)					EPM	Valor P
	0	10	20	30	40		
Eritrócitos ($10^6 \mu L^{-1}$)	2,73 ^a	2,30 ^{ab}	1,97 ^{ab}	1,89 ^{ab}	1,60 ^b	0,38	0,002
Hemoglobina ($g dL^{-1}$)	5,38 ^{ab}	5,67 ^a	4,75 ^b	4,69 ^b	3,50 ^c	0,53	0,0001
Hematócrito (%)	24,07 ^a	23,50 ^a	22,06 ^{ab}	22,35 ^{ab}	18,90 ^b	2,18	0,005
VCM (fL)	90,78 ^b	108,03 ^{ab}	104,46 ^{ab}	110,35 ^{ab}	128,63 ^a	18,09	0,002
HCM (pg)	20,30 ^b	28,49 ^a	26,28 ^{ab}	23,09 ^{ab}	23,12 ^{ab}	4,68	0,004
CHCM ($g dL^{-1}$)	22,38 ^b	25,35 ^a	21,99 ^b	21,49 ^b	18,70 ^c	1,49	0,0001

^{a, b, c} Letras diferentes na tabela representam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Abreviaturas: VCM = volume corpuscular médio; HCM = hemoglobina corpuscular média; CHCM = concentração média de hemoglobina corpuscular. EPM = erro padrão das médias.

Tabela IV. Parâmetros hepáticos e musculares de jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com diferentes níveis de inclusão de TMd na dieta

Parâmetros	TMd (%)					EPM	Valor P
	0	10	20	30	40		
Fígado							
Amônia ($\mu\text{mol/g tecido}$)	32,44 ^a	32,08 ^a	30,48 ^b	32,73 ^a	30,47 ^b	0,57	0,0001
Glicose (mg/g tecido)	1,23 ^c	1,24 ^{bc}	1,61 ^a	1,34 ^b	1,56 ^a	0,06	0,0001
Lactato ($\mu\text{mol/g tecido}$)	5,40 ^a	4,57 ^b	5,74 ^a	4,54 ^b	5,53 ^a	0,21	0,0001
Proteína (mg/g tecido)	56,67 ^a	50,84 ^b	49,88 ^b	42,10 ^c	38,10 ^d	1,32	0,0001
Aminoácidos ($\mu\text{mol/g de tecido}$)	34,08 ^d	38,66 ^b	33,28 ^c	36,32 ^c	54,74 ^a	0,34	0,0001
Aspartato aminotransferase (U/mg tecido)	35,41 ^b	39,05 ^a	40,34 ^a	40,68 ^a	34,14 ^b	1,79	0,0001
Alanina aminotransferase (U/mg tecido)	4,63 ^a	4,27 ^a	4,10 ^a	4,61 ^a	3,15 ^b	0,37	0,0001
Músculo							
Amônia ($\mu\text{mol/g tecido}$)	3,50 ^c	4,39 ^b	5,20 ^a	4,47 ^b	3,42 ^c	0,29	0,0001
Glicose (mg/g tecido)	0,44 ^a	0,36 ^b	0,31 ^b	0,25 ^c	0,19 ^d	0,03	0,0001
Lactato ($\mu\text{mol/g tecido}$)	7,66 ^b	7,20 ^b	9,21 ^a	9,63 ^a	0,90 ^c	0,39	0,0001
Proteína (mg/g tecido)	35,76 ^a	32,52 ^b	33,66 ^b	29,95 ^c	32,20 ^b	1,51	0,0001
Aminoácidos ($\mu\text{mol/g de tecido}$)	19,53 ^c	36,23 ^a	18,24 ^c	28,11 ^b	35,11 ^a	2,55	0,0001
Aspartato aminotransferase (U/mg tecido)	7,67 ^a	6,61 ^b	7,26 ^{ab}	6,85 ^{ab}	7,59 ^a	0,53	0,004
Alanina aminotransferase (U/mg tecido)	1,93 ^b	2,50 ^a	2,33 ^{ab}	2,11 ^{ab}	2,40 ^a	0,23	0,002

^{a, b, c} Letras diferentes na tabela representam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). EPM = erro padrão da média.

Tabela V. Determinação da atividade das enzimas antioxidantes e dos indicadores de estresse oxidativo em jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com diferentes níveis de inclusão de TMD na dieta

Parâmetros	TMD (%)					EPM	Valor P
	0	10	20	30	40		
Fígado							
Superóxido dismutase (<i>U SOD/g proteína</i>)	2,39 ^c	2,75 ^c	7,58 ^a	2,38 ^c	4,47 ^b	0,42	0,0001
Catalase (<i>mmol H₂O₂/min/g tecido</i>)	5,57 ^a	5,17 ^a	4,81 ^a	5,10 ^a	3,64 ^b	0,49	0,0001
Tióis totais (<i>μmol SH/g tecido</i>)	4,81 ^a	4,69 ^{ab}	4,75 ^{ab}	4,65 ^{ab}	4,05 ^b	0,52	0,04
TBARS (<i>μmol MDA/g tecido</i>)	0,10 ^a	0,09 ^a	0,06 ^c	0,07 ^{bc}	0,09 ^{ab}	0,01	0,0001
Músculo							
Superóxido dismutase (<i>U SOD/mg proteína</i>)	2,25 ^a	1,60 ^c	1,94 ^b	0,64 ^d	0,50 ^d	0,11	0,0001
Catalase (<i>mmol H₂O₂/min/g tecido</i>)	0,04 ^b	0,03 ^b	0,04 ^b	0,03 ^b	0,05 ^a	0,01	0,003
Tióis totais (<i>μmol SH/g tecido</i>)	1,06 ^b	1,04 ^b	1,05 ^b	1,12 ^{ab}	1,20 ^{ab}	0,08	0,0007
TBARS (<i>μmol MDA/g tecido</i>)	0,01 ^{ab}	0,01 ^b	0,02 ^a	0,01 ^b	0,01 ^{ab}	0,001	0,006

^{a, b, c} Letras diferentes na tabela representam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Abreviaturas: TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. EPM = erro padrão da média.

5. CONCLUSÃO GERAL

Conclui-se que a farinha de larvas de *T. molitor* parcialmente desengordurada (TMd) pode ser empregada na nutrição do jundiá na fase inicial de cultivo e que dietas práticas para a espécie podem garantir desempenho superior, quando comparado a utilização de ingredientes vegetais. Além disso, a utilização da TMd se mostrou benéfica para a promoção da saúde dos peixes, reduzindo a produção de radicais livres e aumentando a atividade de enzimas antioxidantes nos tecidos hepático e muscular dos peixes. Frente à busca por fontes alternativas de proteína na aquicultura, o presente estudo confirma a possibilidade de utilização de farinha de insetos, ampliando as opções de ingredientes *ecofriendly*, permitindo melhores respostas na promoção do bem estar e crescimento dos peixes.

6. REFERÊNCIAS

- ABPA. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. Relatório anual 2021. <http://abpa-br.org/mercados/#relatorios>. (acessado 13 de Janeiro, 2022).
- AGUILAR-MIRANDA, E.D.; LÓPEZ, M.G.; ESCAMILLA-SANTANA, C.; BARBA DE LA ROSA, A.P. Characteristics of maize flour tortilla supplemented with ground *Tenebrio molitor* larvae, **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 50 (1): 192-195, 2002.
- BALDISSEROTTO B. Biologia do jundiá. In: BALDISSEROTTO, B; RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá**. Santa Maria: Editora UFSM, 2004, p. 67-72.
- BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. Jundiá (*Rhamdia quelen*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria, Ed. UFSM, 2005, 468p.
- BALDISSEROTTO, B. Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro. **Ciência Rural**, v. 39, p. 291-299, 2009.
- BALDISSEROTTO, B.; RADUNZ NETO, J.; BARCELLOS, L. Jundiá (*Rhamdia* sp). In: BALDISSEROTTO, B; GOMES, L.C. (Org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2. ed. Santa Maria: UFSM, p. 301-333, 2010.
- BARCELLOS, L.J.G. et al. Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. **Aquaculture**, v. 232, p. 383-394, 2004.
- BASTO, A.; MATOS, E.; VALENTE, L.M.P. Nutritional value of different insect larvae meals as protein sources for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture** 521, 735085, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735085>

BEITZ, D.C. Metabolismo de proteínas e aminoácidos In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes – Fisiologia dos Animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.430-446, 1996.

BELFORTI, M.; GAI, F.; LUSSIANA, C.; RENNA, M.; MALFATTO, V., ROTOLO, L.; DE MARCO, M.; DABBOU, S.; SCHIAVONE, A.; ZOCCARATO, I.; GASCO, L. *Tenebrio molitor* meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets. **Ital. J. Anim. Sci.** 14 (4), 4170, 2015. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4170>

BERGGREN, A.; JANSSON, A.; LOW, M. Approaching ecological sustainability in the emerging insects-as-food industry. **Trends Ecology Evolution.** 34, 132–138, 2019.

BOGARD, J.R.; FAROOK, S.; MARKS, G.C.; WAID, J.; BELTON, B.; ALI, M.; TOUFIQUE, K.; MAMUN, A.; THILSTED, S.H. Peixes mais altos, mas menor consumo de micronutrientes: mudanças temporais no consumo de peixes a partir da captura da pesca e da aquicultura em Bangladesh. **PLOS Um.** 12(4):e0175098, 2017. <http://doi:10.1371/journal.pone.0175098>

BOVERA, F.; LOPONTE, R.; MARONO, S.; PICCOLO, G.; PARISI, G.; IACONISI, V.; GASCO, L.; NIZZA, A. Use of *Tenebrio molitor* larvae meal as protein source in broiler diet: effect on growth performance, nutrient digestibility, and carcass and meat traits. **J. Anim. Sci.** 94 (2), 639-647, 2016. <http://dx.doi.org/10.2527/jas2015-9201>

BOYD, C.E.; D'ABRAMO, L.R.; GLENCROSS, B.D.; HUYBEN, D.C.; JUAREZ, L.M.; LOCKWOOD, B.D.; Mc NEVIN, A.A.; TACON, A.G.J.; TELETCHEA, F.; TOMASSO Jr, J.R.; TUCKER, C.S.; VALENTI, W.C. Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. **J. World Aquac. Soc.**, 51, 578-633, 2020. <http://doi.org/10.1111/jwas.12714>

CAVENAGHI, D.F.L.C. et al. Caracterização físico-química e microbiológica de tenébrio (*Tenebrio molitor* L.) criado para consumo humano. **Anais do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Gramado, 2016.

CEPEA. CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA. Indicador da soja ESALQ/BM&FBOVESPA – Paranaguá. <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/indicador/soja.aspx>. (acessado em 13 de Janeiro, 2022).

CHIPPARI-GOMES, A.R., GOMES, L.C., BALDISSEROTTO, B. Lethal temperature for silver catfish, *Rhamdia quelen*, fingerlings. **J. Appl. Aquac.**, v. 9, p. 11-21, 1999.

CHOI, B.D.; WONG, N.A.K.; AUH, J.-H. Defatting and sonication enhances protein extraction from edible insects. **Korean J. Food Sci. Anim. Resour.**, 37, 955-961, 2017. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.6.955>

CNA. CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL, 2017. Ração é o principal insumo da produção aquícola. <https://www.cnabrazil.org.br/boletins/ativos-aquicultura-ra%C3%A7%C3%A3o-%C3%A9-o-principalinsumodaprodu%C3%A7%C3%A3o-aqu%C3%ADcola-junho-2017> (accessed January 13, 2022).

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2021. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 9, safra 2021/22, n. 4 quarto levantamento. <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos> (accessed January 13, 2022).

DALCIN, M.O.; PIANESSO, D.; SILVA, V.C.; MOMBACH, P.I.; ADORIAN, T.J.; LIMA, J.S.; GOULART, F.R.; SILVA, L.P. Rice protein concentrate in the feeding of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.70, n.1, p.306-314, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9730>

DIEMER, O. et al. Níveis de fósforo total na alimentação de juvenis de jundiá criados em tanques-rede. **Pesquisa agropecuária tropical**, v. 41, n. 4, p. 559-563, 2011.

ESTEBAN, M. A.; CUESTA, A.; ORTUÑO, J.; MESEGUER, J. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. **Fish Shellfish Immunol.**, 11, 303-315, 2001. <https://doi.org/10.1006/fsim.2000.0315>

ESQUIVEL, B.M. **Produção de Jundiá (*Rhamdia quelen*) em áreas de entorno do Parque Estadual da Serra do Tabuleiro em Paulo Lopes**. 2005. Tese (Doutorado aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Edible insects: future prospects for food and feed security**. Fisheries and Aquaculture Department, Rome, 171p, 2013.

FAO. O estado da pesca mundial e da aquicultura 2018 - atendendo ao desenvolvimento sustentável. Objetivos. Roma: FAO. p. 210, 2018.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAOSTAT - balanços alimentares. Roma: FAO, Divisão de Estatística, 2020. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS>.

FERREIRA, M.S. et al. Efeito da quantidade de proteína na dieta e treinamento físico sobre a hematologia, desempenho natatório, resistência ao estresse e composição do filé de matrinhã (*Brycon amazonicus*, Gunther 1869). **Acta Amazônica**, v. 43, n. 4, 2013.

FINKE, M.D. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. **Zoo Biology**, 21, 269–285, 2002.

FONTES, T.V. et al. Digestibility of Insect Meals for Nile Tilapia Fingerlings. **Animals**, 9, 181, 2019. DOI:10.3390/ani9040181 www.mdpi.com/journal/animals

FREITAS, L.E.L.; SILVA, T.S.C.; FRACALOSSO, D.M. Protein to energy ratios and cost, performance, and ammonia excretion in juvenile jundiá (*Rhamdia quelen*), South American catfish. **Sci. Agric.**, v.78, Suppl., e20200288, 2021. <http://doi.org/10.1590/1678-992X-2020-0288>

GATLIN, D.M. et al. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. **Aquaculture Research**, v. 38, p. 551–579, 2007.

GASCO, L.; HENRY, M.; PICCOLO, G.; MARONO, S.; GAI, F.; RENNA, M.; LUSSIANA, C.; ANTONOPOULOU, E.; MOLA, P.; CHATZIFOTIS, S. *Tenebrio molitor* meal in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles: growth performance, whole body composition and in vivo apparent digestibility. **Anim. Feed Sci. Technol.**, 220, 34-45, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.07.003>

GHOSH, S.; LEE, S.M.; JUNG, C.; MEYER-ROCHOW, V.B. Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. **J. Asia-Pac. Entomol.**, 20, 686–694, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.04.003>

GLENCROSS, B. D.; BOOTH, M.; ALLAN, G. L. A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. **Aquac. Nutr.** 13, 17-34, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00450.x>

GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J.I.; GOMES, A.R.C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, pimelodidae). **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 179- 185, 2000.

GOMIERO, L.M.; SOUZA, U.P.; BRAGA, F.M.S. Reprodução e alimentação de *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) em rios do Núcleo Santa Virgínia, Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo, SP. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 3, 2007.

HARDOUIN, J.; MAHOUX, G. Zootechnie d’insectes – Elevage et utilisation au bénéfice de l’homme et de certains animaux. Bureau pour l’Echange et la Distribution de l’Information sur le Mini-élevage (BEDIM), 164 p., 2003.

HEIKKINEN, J. et al. Effects of soybean meal based diet on growth performance, gut histopathology and intestinal microbiota of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, 261, 259–268, 2006.

HENRY, M.; GASCO, L.; PICCOLO, G.; FOUNTOULAKI, E. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: past and future. **Anim. Feed Sci. Technol.**, 203, 1-22, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001>

HERTRAMPF, J.W; PIEDADE-PASCUAL, F. **Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2000.

IDO, A.; HASHIZUME, A.; OHTA, T.; TAKAHASHI, T.; MIURA, C.; MIURA, T. Replacement of fish meal by defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae in diet improves growth performance and disease resistance in red seabream (*Pargus major*). **Animals** 9 (3), 100, 2019. <https://doi.org/10.3390/ani9030100>

IPIFF. INTERNATIONAL PLATFORM OF INSECTS FOR FOOD AND FEED. The European insect sector today: challenges, opportunities and regulatory landscape; IPIFF: Brussels, Belgium, 2018.

JUNIOR, J.C.L.; FERREIRA, L.C.F.; PEDERIVA, K.A. Desenvolvimento de larvas de *Tenebrio molitor* L. em diferentes dietas visando a produção de insetos para consumo humano. **Conexão online (2018) n.18**, ISSN 1980-7341

KHAN, S. et al. Worm meal: a potential source of alternative protein in poultry feed. **World's Poultry Science Journal**, 72(01), 93-102, 2016.

KHEMPAKA, S.; CHITSATCHAPONG, C.; MOLEE, W. Effect of chitin and protein constituents in shrimp head meal on growth performance, nutrient digestibility, intestinal microbial populations, volatile fatty acids, and ammonia production in broilers. **J. Appl. Poult. Res.**, 20, 1-11, 2011. <https://doi.org/10.3382/japr.2010-00162>

KÖPRÜCÜ, K.; ÖZDEMİR, Y. Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture** 250, 308-316, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.12.003>

KROECKEL, S. et al. When a turbot catches a fly: evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute - growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture**, 364–365, 345–352, 2012.

LAZZARI, R. Desempenho e composição dos filés de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos a diferentes dietas na fase de recria. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 2, p. 477-484, 2008.

LAZZARI, R.; NETO, J.R.; PEDRON, F.A.; LORO, V.L.; PRETTO, A.; GIODA, C.R. Protein sources and digestive enzyme activities in jundia (*Rhamdia quelen*). **Sci. Agric.** (Piracicaba, Braz.), v.67, n.3, p.259-266, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000300002>

LIMA, J.S.; PITTALUGA, M.L.; LOVATTO, N.M.; VEIVERBERG, C.A.; BORILLE, R.; LAZZARI, R. Mealworm (*Tenebrio molitor*) potencial in fish nutrition: a review. **Res., Soc. Dev.**, v. 10, n. 16, e269101623229, 2021. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i16.23229>

LIU, X. et al. Partial replacement of fish meal with peanut meal in practical diets for the Pacific White shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, v. 43, p. 745-755, 2012.

LOPONTE, R.; MARONO, S.; IACONISI, V.; PICCOLO, G.; PARISI, G.; BOVERA, F. Caecal volatile fatty acid production of broilers fed *Tenebrio molitor* larvae meal. INSECTA 2016 International Symposium on Insects as Food, Feed and Non-Food, Magdeburg (Germany), 12th September 2016.

LOVATTO, N.M. et al. Sunflower protein concentrate and crambe protein concentrate in diets for silver catfish *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, 1824): use as sustainable ingredients. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 90 (4): 3781-3790, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820170991> 90 (4)

MAKKAR, H.P.S.; TRAN, G.; HEUZE, V.; ANKERS, P. Review: State-of-the-art on use of insects as animal feed, **Animal Feed Science Technology**, 197:1–33, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>.

MENEZES, C.W.G. et al. A dieta alimentar da presa *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pode afetar o desenvolvimento do predador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae)? **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 81, n. 3, p. 250-256, 2014.

MILLWARD, D.J. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. **Aquaculture**, The Netherlands, v.79, p.1-58, 1989.

MOMBACH, P.I., ADORIAN, T.J., PIANESSO, D., SANTOS, T.S., LIMA, J.S., ROBALO, S.S., SILVA, L.P. Pectic hydrolysates in the diet of silver catfish (*Rhamdia quelen*): Growth performance, blood and liver biochemistry, histological parameters and intestinal contents. **Aquac. Nutr.**, 1-10, 2019. <https://doi.org/10.1111/anu.12958>

MONTES-GIRAO, P.J., FRACALOSSO, D.M., 2006. Dietary lysine requirement as basis to estimate the essential dietary amino acid profile for Jundia, *Rhamdia quelen*. **J. World Aquac. Soc.**, 37(4), 388-396. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2006.00052.x>

NOGALES-MÉRIDA, S. et al. Insect meals in fish nutrition. **Reviews in Aquaculture**. v. 11, p. 1080-1108, 2019. DOI: 10.1111/raq.12281

NRC. National Research Council, 2011. **Nutrient Requirements of Fish**. Washington, D.C., USA: National Academy Press. (accessed January 10, 2022).

NUNES, A.J.P.; SÁ, M.V.C.; NETO, H.S. As próximas gerações de ração para camarão marinho. **Revista Panorama da Aquicultura**, v. 21, n. 123, p. 24-35, jan-fev, 2011.

OCDE/FAO (2019). “OECD-FAO Agricultural Outlook”, estatísticas da OCDE sobre agricultura (banco de dados), <http://dx.doi.org/10.1787/agr-outl-data-en>

OLIVA-TELES, A. Nutrition and health of aquaculture fish. **Journal Of Fish Diseases** 35: 83–108, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x>.

PARRA, J.R.P. A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In: PANIZZI, A.R.; PARRA, J.P.R. (Ed). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Embrapa: Brasília, 2009, p.91-174.

PEIXE BR (2022). Associação Brasileira da Piscicultura. Anuário 2022. <https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>

PEZZATO, L.E.; MIRANDA, C.E DE; BARROS, M.M.; FURUYA, W.M.; PINTO, L.G.Q. Digestibilidade aparente de matéria seca e proteína bruta e energia digestível de alguns ingredientes alternativos para tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus*. **Acta Scientiarum - Ciências Animais**, 26 (3): 329-337, 2004.

PICCOLO, G.; MARONO, S.; GASCO, L.; IANNACCONE, F.; BOVERA, F.; NIZZA, A. Use of *Tenebrio molitor* larvae meal in diets for Gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. **Insects to Feed The World** (p. 76). The Netherlands: Wageningen University, 2014.

PICCOLO, G.; IACONISI, V.; MARONO, S.; GASCO, L.; LOPONTE, R.; NIZZA, S.; BOVERA, F.; PARISI, G. Effect of *Tenebrio molitor* larvae meal on growth performance, in vivo nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **An. Feed Sci. Techn.**, 226, 12-20, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.02.007>

PORTZ, L.; FURUYA, W.M. (Org). Energia, Proteína e Aminoácidos. In: FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. **Nutriaqua: Nutrição e Alimentação de Espécies de Interesse para Aquicultura Brasileira**. Ed. Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Florianópolis, Brasil, p. 65, 2013.

RAMOS-ELORDUY, J. et al. Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 1, p. 214-220, 2002. ISSN 0022-0493

REMA, P.; SARAVANAN, S.; ARMENJON, B, MOTTE, C.; DIAS, J. Graded incorporation of defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) in rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet improves growth performance and nutrient retention. **Animals**, 9, 187, 2019. <https://doi.org/10.3390/ani9040187>

RIBEIRO, G.O. **Farinha da larva de *Tenebrio molitor* na alimentação de tilápia do Nilo**. Dissertação (Mestrado em Produção Animal). Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), Minas Gerais, MG, 2019.

RINGØ, E.; ZHOU, Z.; VECINO, J.L.G.; WADSWORTH, S.; ROMERO, J.; KROGDAHL, Å.; OLSEN, R. E.; DIMITROGLOU, A.; FOEY, A.; DAVIES, S.; OWEN, M.; LAUZON, H. L.; MARTINSEN, P.; DE SCHRYVER, P.; BOSSIER, P.; SPERSTAD, S.; MERRIFIELD, D. L. Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story? **Aquaculture Nutrition** 22, 219-282, 2015. <http://dx.doi.org/10.1111/anu.12346>

RUMPOLD, B.A.; SCHLÜTER, O.K. Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 17: 1-11, 2013.

SAKAI, M.; KAMIYA, H.; ISHII, S.; ATSUTA, S.; KOBAYASHI, M. The immunostimulating effects of chitin in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Dis. Asian Aquacult.**, 1, 413-417, 1992.

SÁNCHEZ, T.C.I.; BURGOS, Y.V. **Determinación de antocianinas y valor nutricional de los tenebrios (*Tenebrio molitor*) alimentados com dietas enriquecidas com maíz morado (*Zea mays* L.)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia em Biotecnologia dos Recursos Naturais). Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito – Quito, Equador, 2014.

SÁNCHEZ-MUROS, J.; DE HARO, C.; SANZ, A.; TRENZADO, C. E.; VILLARECES, S.; BARROSO, F. G. Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. **Aquaculture Nutrition** 22, 943-955, 2015.

SANKIAN, Z.; KHOSRAVI, S.; KIM, Y-O.; LEE, S-M. Effects of dietary inclusion of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal on growth performance, feed utilization, body composition, plasma biochemical indices, selected immune parameters and antioxidant enzyme activities of mandarin fish (*Siniperca scherzeri*) juveniles. **Aquaculture** 496, 79-87, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.012>

SOARES, M. **Avaliação do desempenho zootécnico do camarão branco do Pacífico com dietas com diferentes níveis de substituição de farinha de peixe por concentrado proteico**

de soja. 2014. 66 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2014.

SOUZA, P.C.; TELES, B.R. Ciclo de vida das larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera), sob diferentes dietas. IN: **Anais da XX Jornada de Iniciação Científica PIBIC INPA - CNPq/FAPEAM**, Manaus, 2011.

SPANG, B. Insects as food: assessing the food conversion efficiency of the mealworm (*Tenebrio Molitor*). Environmental study master thesis: The Evergreen State College, 2013.

ST-HILAIRE, S. et al. Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of the World Aquaculture Society**, 38:59-67, 2007.

SUPERIOR HEALTH COUNCIL. **Food safety aspects of insects intended for human consumption.** Scientific Committee of the Federal Agency for the safety of food Chain, 9160, 1-23. 2014.

TACON, A.G.J., HASAN, M.R., ALLAN, G., EL-SAYED, A.F.M., JACKSON, A., KAUSHIK, S.J., NG, W-K., SURESH, V., VIANA, M.T. **Aquaculture feeds: addressing the long-term sustainability of the sector.** In Proceedings of the Global Conference on Aquaculture, Phuket, Thailand, 22–25 September; p. 193-231, 2010.

TEIXEIRA, E.A. et al. Substituição de farinha de peixe em rações para peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 30, n. 3-4, p. 118-125, jul./dez/ 2006.

TEH, S.-S.; BEKHIT, A.E.-D.; CARNE, A.; BIRCH, J. Effect of the defatting process, acid and alkali extraction on the physicochemical and functional properties of hemp, flax and canola seed cake protein isolates. **J. Food Measure. Charact.**, 8, 92-104, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11694-013-9168-x>

VELDKAMP, T. et al. Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets: a feasibility study. **Wageningen UR Livestock Production**, report 638, p.1–48, 2012.

VILELLA, L.M. **Produção de insetos para uso na alimentação animal.** Trabalho de Conclusão de Curso (Zootecnia), Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, 2018.

WILSON, R.P. Amino acids and proteins. In: HALVER J.E.; HARDY R.W. (eds) **Fish Nutrition**, p. 144-175. Academic Press, San Diego, CA, 2002.

ZHONG, V.W.; VAN HORN, L.; GREENLAND, P.; CARNETHON, M.R.; NING, H.; WILKINS, J.T.; LLOYD-JONES, D.M.; ALLEN, N.B. Associações de carne processada, carne vermelha não processada, aves ou consumo de peixes com doenças cardiovasculares incidentes e mortalidade por todas as causas. **JAMA Intern Med.**, 180(4), 503-512, 2020. <http://doi.org/10.1001/jamainternmed.2019.6969>

ANEXO A – Certificado de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA - UFSM



Comissão de Ética no Uso de Animais

da

Universidade Federal de Santa Maria

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Uso de larvas de *Tenebrio molitor* na nutrição do jundiá", protocolada sob o CEUA nº 2001171120 (10 003331), sob a responsabilidade de **Rafael Lazzari e equipe; Naglezi Lovatto; Joziane Soares de Lima** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA/UFSM) na reunião de 09/02/2021.

We certify that the proposal "Use of *Tenebrio molitor* larvae in jundia nutrition", utilizing 500 Fishes (males and females), protocol number CEUA 2001171120 (10 003331), under the responsibility of **Rafael Lazzari and team; Naglezi Lovatto; Joziane Soares de Lima** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Maria (CEUA/UFSM) in the meeting of 02/09/2021.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de 03/2021 a 12/2021

Área: [Departamento de Zootecnia E Ciências Biológicas Ufsm/pm](#)

Origem: [Não aplicável biotério](#)

Espécie: [Peixes](#)

sexo: [Machos e Fêmeas](#)

idade: [40 a 50 dias](#)

N: [500](#)

Linhagem: [jundiá](#)

Peso: [5 a 10 g](#)

Local do experimento: Biotério de Piscicultura/Campus Palmeira das Missões. Responsável Técnico: Médica Veterinária Luciana Fagundes Christofari

Santa Maria, 14 de maio de 2021

Profa. Dra. Patrícia Severo do Nascimento
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Maria

ANEXO B – Normas da revista Aquaculture

Submission: Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Authors should avoid responding by messages received from the system using the 'Reply' button on their e-mail message; this will send the message to the system support and not to the editorial office, and will create unnecessary load of sorting out and forwarding

Please submit your article via <https://www.editorialmanager.com/AQUACULTURE/default.aspx>

Referees: Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our [Support site](#). Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used. Kindly prevent suggesting reviewers from the same country.

Queries: For questions about the editorial process (including the status of manuscripts under review) or for technical support on submissions, please visit our [Support Center](#).

Peer review: This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. [More information on types of peer review](#).

Use of word processing software: It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns.

The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

LaTeX: You are recommended to use the Elsevier article class `elsarticle.cls` to prepare your manuscript and [BibTeX](#) to generate your bibliography. Our [LaTeX site](#) has detailed submission instructions, templates and other information.

Article structure: Subdivision - numbered sections: Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction: State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods: Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Theory/calculation: A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results: Results should be clear and concise.

Discussion: This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions: The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices: If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information:

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Numbering.** Manuscripts that are sequentially numbered (e.g., I, II, etc.) are no longer accepted.

- *Author names and affiliations.* Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lowercase superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- *Corresponding author.* Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

- *Present/permanent address.* If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights: Highlights are optional yet highly encouraged for this journal, as they increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract: A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself. The abstract should be not longer than 400 words.

Keywords: Immediately after the abstract, provide a maximum of 4-6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Highlights of the manuscript: As part of the submission process, authors are required to provide 3 or 4 highlights, each one sentence long. Beyond stating key discoveries, these highlights must explicitly establish why the work is novel and why it has an application to aquaculture. It is not sufficient to state that the species is one that is farmed.

Cover letter: A cover letter stating why you would like to submit to Aquaculture should be uploaded. Please complete and upload the Cover letter. The required template can be downloaded [here](#).

Abbreviations: Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements: Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources: List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements: *Funding:* This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence: This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature and units: Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult IUPAC: [Nomenclature of Organic Chemistry](#) for further information.

1. Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature.

2. All biota (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.

3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

4. For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed.

DNA sequences and GenBank Accession numbers. Many Elsevier journals cite "gene accession numbers" in their running text and footnotes. Gene accession numbers refer to genes or DNA sequences about which further information can be found in the databases at the National Center for Biotechnical Information (NCBI) at the National Library of Medicine. Authors are encouraged to check accession numbers used very carefully. **An error in a letter or number can result in a dead link.** Note that in the final version of the electronic copy, the accession number text will be linked to the appropriate source in the NCBI databases enabling readers to go directly to that source from the article.

Example 1: "GenBank accession nos. **AI631510**, **AI631511**, **AI632198**, and **BF223228**, a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. **AA361117**)". Authors are encouraged to check accession numbers used very carefully. An error in a letter or number can result in a dead link. In the final version of the printed article, the accession number text will not appear bold or underlined (see Example 2 below).

Example 2: "GenBank accession nos. AI631510, AI631511, AI632198, and BF223228), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. AA361117)". In the final version of the electronic copy, the accession number text will be linked to the appropriate source in the NCBI databases enabling readers to go directly to that source from the article (see Example 3 below).

Example 3: "GenBank accession nos. AI631510, AI631511, AI632198, and BF223228), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. BE675048), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. AA361117)".

Math formulae: Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca²⁺ and not Ca⁺⁺. Isotope numbers should precede the symbols, e.g., ¹⁸O. The repeated writing of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g., phosphate as P₂O₅).

Footnotes: Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork: Electronic artwork: General points: Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork. Embed the used fonts if the application provides that option. Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar. Number the illustrations according to their sequence in the text. Use a logical naming convention for your artwork files. Provide captions to illustrations separately. Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version. Submit each illustration as a separate file. Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats: If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format. Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts. TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not: Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors; Supply files that are too low in resolution; Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork: Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Figure captions: Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Text graphics: Text graphics may be embedded in the text at the appropriate position. See further under Electronic artwork.

Tables: Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References: Citation in text: Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links: Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeg W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references: As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references: This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue: Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software: Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

Reference formatting: There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/ book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style: Text: All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. Two authors: both authors' names and the year of publication;
3. Three or more authors: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references can be listed either first alphabetically, then chronologically, or vice versa.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999)... Or, as demonstrated (Jones, 1999; Allan, 2000)... Kramer et al. (2010) have recently shown ...'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples: Reference to a journal publication: Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number: Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2018. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Reference to a book: Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book: Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Reference to a website: Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13 March 2003).

Reference to a dataset: [dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. *Mendeley Data*, v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Reference to software: Coon, E., Berndt, M., Jan, A., Svyatsky, D., Atchley, A., Kikinon, E., Harp, D., Manzini, G., Shelef, E., Lipnikov, K., Garimella, R., Xu, C., Moulton, D., Karra, S., Painter, S., Jafarov, E., & Molins, S., 2020. *Advanced Terrestrial Simulator (ATS) v0.88 (Version 0.88)*. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3727209>.

Journal Abbreviations Source: Define abbreviations that are not standard in this field at their first occurrence in the article: in the abstract but also in the main text after it. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Video: Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Data visualization: Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material: Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data: This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are

encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking: If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect. In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data: This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to Mendeley Data. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data in Brief: You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into a data article published in Data in Brief. A data article is a new kind of article that ensures that your data are actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and made publicly available to all upon publication (watch this [video](#) describing the benefits of publishing your data in Data in Brief). You are encouraged to submit your data article for Data in Brief as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to Data in Brief where it will be editorially reviewed, published open access and linked to your research article on ScienceDirect. Please note an [open access fee](#) is payable for publication in Data in Brief. Full details can be found on the [Data in Brief website](#). Please use [this template](#) to write your Data in Brief data article.

Online proof correction: To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors. If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints: The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Author Services](#). Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

ANEXO C – Normas da revista Anais da Academia Brasileira de Ciências

Tipos de artigos

Revisões: são publicadas apenas por **meio de convite**, tendo ainda que passar pelo processo de revisão por pares. Contudo, uma proposta de revisão pode ser enviada por e-mail para a Assessoria de publicações (aabc@abc.org.br). O e-mail deve conter os tópicos e autores da revisão proposta, bem como o abstract, área dos AABC na qual o artigo se encaixa e a justificativa pela qual este tópico seria de particular interesse à área.

Os AABC permitem que os autores depositem preprints de seus artigos em servidores de preprint tais como, mas não limitados a, ArXiv.org e bioRxiv.org. Contudo, autores devem atualizar os registros informando que o artigo foi aceito/publicado pelos AABC.

Cartas ao editor: cartas ao editor (*Letters to the Editor*) estarão sujeitas à edição e revisão, não podendo conter material que tenha sido submetido ou publicado em outro periódico. Cartas que venham a se referir a um artigo publicado nos AABC não podem exceder 250 palavras (não contando com referências) e devem ser recebidas em até 4 semanas após a publicação online do artigo. Cartas não relacionadas a um artigo publicados pelos AABC não podem exceder 500 palavras (não contando com referências). Uma carta não pode ter mais de dez referências, além de uma figura ou tabela.

Artigos: sempre que possível, artigos devem estar subdivididos nas seguintes partes: **1.** Página de rosto; **2.** Resumo (em página separada, 200 palavras ou menos, sem abreviações); **3.** Introdução; **4.** Materiais e Métodos; **5.** Resultados; **6.** Discussão; **7.** Agradecimentos, se aplicável; **8.** Contribuições dos autores (se o artigo tiver mais de um autor); **9.** Referências; **10.** Legendas de figuras e tabelas, se aplicável. Artigos de algumas áreas, como por exemplo Ciências Matemáticas, devem seguir seu formato padrão. Em alguns casos, pode ser aconselhável omitir a seção (4) e juntar as partes (5) e (6). Quando aplicável, a seção Materiais e Métodos deve indicar o Comitê de Ética que avaliou os procedimentos para estudos em seres humanos ou as normas seguidas para tratamentos experimentais em animais.

Short communications: procuram relatar uma **importante e concisa contribuição para pesquisa**, a qual progrediu para o estágio em que os resultados devem ser tornados públicos para outros pesquisadores do mesmo campo. Uma short communication também deve possuir Abstract (100 palavras ou menos, neste caso), uma pequena introdução (até 200 palavras) e não pode exceder 1500 palavras. Tabelas e Figuras podem ser incluídas no texto, mas este deve ser proporcionalmente reduzido. Este tipo de publicação nos AABC deve conter contribuições extremamente relevantes, sendo um tipo de artigo com alta competição.

Após recebimento e primeira triagem editorial, artigos serão avaliados por pelo menos dois revisores, sendo eles de instituições educacionais e/ou de pesquisa tanto nacionais quanto internacionais, desde que comprovada sua produção científica. Após possíveis correções e sugestões, o artigo pode ser aceito ou recusado, considerando os pareceres recebidos.

Nós utilizamos o programa integrado Crossref Similarity Check para detectar possíveis plágios.

Os AABC não possuem taxas de submissão, avaliação e publicação de artigos.

Preparação de manuscritos: todas as seções do manuscrito devem possuir espaçamento duplo. Após o aceite, nenhuma mudança será feita no artigo, de modo que as provas de prelo precisem apenas de correções em erros tipográficos. Lembramos que o envio de artigos é feito exclusivamente pelos autores através do nosso sistema de gerenciamento de artigos.

Tamanho do artigo: os artigos podem ser de qualquer tamanho necessário para a apresentação e discussão concisa dos dados, mas mantendo-se conciso e cuidadosamente preparado tanto em termos de impacto quanto de legibilidade. No entanto, artigos não devem exceder 50 páginas, incluindo todos os itens (figuras, tabelas, referências, etc.), a menos que possua autorização prévia do Editor-Chefe.

Página de rosto: a página de rosto do artigo deve apresentar os seguintes itens: **1.** Título do artigo com até 150 caracteres, sem abreviações e com a tentativa de manter o interesse amplo da comunidade científica; **2.** Nomes completos de todos os autores. Utilize números sobrescritos para indicar a filiação de cada autor. **3.** Endereços profissionais e ORCID de todos os autores, incluindo instituição, departamento, rua, número, CEP, cidade, estado e país; **4.** Key words (de 4 a 6 em ordem alfabética e separadas por vírgulas); **5.** Running title (versão resumida – e não abreviada - do título com até 50 caracteres, incluindo espaços); **6.** Seção dos AABC à qual o artigo pertence; **7.** Nome, endereço, telefone e e-mail do autor para correspondência, a quem serão enviadas as mensagens mais relevantes do processo de avaliação. Este autor ou autora deve ser indicado com um asterisco após seu nome

Não cumprir com qualquer dos requisitos acima fará com que o artigo seja devolvido (*unsubmitted*) para correções.

Resumo: deve conter até 200 palavras e apresentar as principais descobertas do artigo, incluindo uma breve introdução, os objetivos do trabalho e uma conclusão baseada nas presentes descobertas. Caso os autores estejam submetendo uma revisão convidada/autorizada, o abstract deve abordar o principal tema da revisão e explicitar a contribuição de tal revisão à área. O abstract não deve possuir títulos nem citações/referências.

Texto do manuscrito: todo o texto deve ser escrito com espaçamento duplo utilizando a fonte Times New Roman tamanho 12 ou equivalente, desde que mantida a legibilidade. Por favor, organize seu texto nas seguintes partes sempre que possível: **1.** Página de rosto; **2.** Abstract (em página separada, 200 palavras ou menos, sem

abreviações); **3.** Introdução; **4.** Materiais e Métodos; **5.** Resultados; **6.** Discussão; **7.** Agradecimentos, se aplicável; **8.** Contribuição dos autores (se o artigo tiver mais de um autor); **9.** Referências; **10.** Legendas de figuras e tabelas, se aplicável.

Artigos de algumas áreas, como por exemplo Ciências Matemáticas, devem seguir seu formato padrão. Em alguns casos, pode ser aconselhável omitir a seção (4) e juntar as partes (5) e (6). Quando aplicável, a seção Materiais e Métodos deve indicar o Comitê de Ética que avaliou os procedimentos para estudos em seres humanos ou as normas seguidas para tratamentos experimentais em animais.

Todos os procedimentos devem ser detalhadamente descritos. Utilize inglês norte-americano para escrever o texto. Nomenclaturas da área de Química devem ser fornecidas de acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC). Cepas de organismos também devem estar identificadas. Informe nomes de fornecedores de reagentes e/ou equipamentos. Utilize unidades e símbolos de acordo com o Bureau International des Poids et Mesures (SI) sempre que possível.

Agradecimentos: devem ser incluídos ao fim do texto, antes das referências. Agradecimentos pessoais devem preceder nomes de instituições e agências. De forma ideal, notas de rodapé devem ser evitadas, mas, quando necessário, devem estar numeradas. Agradecimentos a financiamentos, subsídios, bolsas de estudo e dívidas com outros colegas, bem como menções à origem do artigo (como uma tese, por exemplo), devem estar nesta seção. Favor incluir o nome completo da agência de fomento, país e número do projeto (se aplicável).

Abreviações: devem ser definidas em sua primeira ocorrência no texto, exceto por abreviações padrão e oficiais. Unidades e seus símbolos devem estar em conformidade com as aprovadas pelo Bureau International des Poids et Mesures (SI).

Legendas de figuras: esta informação deve ser fornecida ao fim do manuscrito, após as referências. Todas as figuras devem conter legenda. A legenda deve possuir uma sentença introdutória que descreve as principais descobertas. Todas as divisões na figura devem ser identificadas com letras minúsculas, quando aplicável (1a, 2a, 2b, 3c, 3d, etc.). Quando for o caso da utilização de barras de erro, favor informar se um número que vem após o símbolo \pm é um Standard Error Of Mean (SEM) ou standard deviation of mean (SD). Deve ser informado na legenda se o resultado apresentado representa N experimentos individuais.

Tabelas: cada tabela deve possuir um pequeno título acima da mesma. Notas abaixo das tabelas também podem ser utilizadas. Tabelas devem ser citadas no artigo em algarismos romanos (Table I, Table II, Tables IV and V, etc.). Tabelas devem ser submetidas separadamente em arquivos editáveis, preferencialmente .doc ou .docx.

Figuras: só serão aceitas figuras de alta qualidade (mínimo de 300 dpi). Todas as ilustrações serão consideradas figuras, incluindo desenhos, gráficos, mapas, fotografias, esquemas, etc. Seu posicionamento tentativo deve ser indicado, assim como todas as figuras devem ser citadas com seu respectivo número ao longo do texto. Figuras devem ser enviadas de acordo com as seguintes especificações: **1.** Desenhos e ilustrações devem estar em formato .PS/.EPS ou .CDR (PostScript ou Corel Draw) e nunca inseridas no texto; **2.** Imagens ou figuras em escala de cinza devem estar em formato .TIF e nunca inseridas no texto; **3.** Cada figura deve ser enviada em arquivo separado; **4.** Figuras devem, a princípio, ser submetidas no tamanho em que se espera que estejam publicadas no periódico, ou seja, largura de 8cm (uma coluna) ou 16,2cm (duas colunas), com a altura máxima de cada figura e respectiva legenda sendo menor ou igual a 22cm.

As legendas das figuras devem ser enviadas com espaçamento duplo em página separada. Cada dimensão linear dos menores caracteres e símbolos não pode ser menor que 2mm após redução. Figuras coloridas são aceitas tanto como figuras em preto e branco. No entanto, 5 figuras em p/b são sem custo aos autores, enquanto cada figura colorida na versão impressa será cobrada dos autores, com a comunicação sendo feita durante a fase de produção (após o processo de avaliação). De modo a padronizar a contagem e cobrança de figuras preto e branco, tabelas que ocupem dois terços da página ou que tenham mais que 12 colunas ou 24 colunas serão consideradas figuras p/b. Manuscritos de Matemática, Física ou Química podem ser redigidos em TEX, AMS-TEX ou LaTeX, desde que o arquivo.BIB seja enviado junto. Manuscritos sem fórmulas podem ser enviados em .RTF ou doc/docx para Windows.

Referências: os autores são responsáveis pela exatidão das referências, bem como suas respectivas citações. Artigos publicados ou ainda 'In press' podem ser incluídos. Comunicações pessoais (Smith, personal communication) devem ser autorizadas por escritos pelos envolvidos. Referências a teses, abstracts de encontros (não publicados em jornais indexados) e manuscritos em preparação ou apenas submetidos, mas não ainda aceitos, devem ser citados no texto no formato (Smith et al., unpublished data) e NÃO devem ser incluídos na lista de referências.

Referências devem ser citadas no texto no formato a seguir sem a aspa simples, 'Smith 2004', 'Smith & Wesson 2005' ou, quando há 3 ou mais autores, 'Smith et al. 2006'. Quando houver dois ou mais artigos cujo nome do primeiro autor e ano de publicação são idênticos, as referências devem ser diferenciadas por letras minúsculas, como em 'Smith 2004a', 'Smith 2004b', etc.

As referências devem ser listadas alfabeticamente de acordo com o nome do primeiro autor, sempre na ordem SOBRENOME XY, sendo X e Y as iniciais. Se há mais de 10 autores na referência, usar SOBRENOME XY ET AL., sem listar os demais autores. Referências devem conter também o título do artigo. Os nomes dos periódicos

devem estar abreviados sem itálico, pontos ou vírgulas. Para as abreviações corretas, verifique listas das maiores bases de dados nas quais o periódico está indexado, ou consulte a World List of Scientific Periodicals. A abreviação a ser usada em referências dos Anais da Academia Brasileira de Ciências é **An Acad Bras Cienc**. Os seguintes exemplos devem servir de guias para sua lista de referências em nossa revista:

Referências:

ALBE-FESSARD D, CONDES-LARA M, SANDERSON P & LEVANTE A. 1984a. Tentative explanation of the special role played by the areas of paleospinothalamic projection in patients with deafferentation pain syndromes. *Adv Pain Res Ther* 6: 167-182.

ALBE-FESSARD D, SANDERSON P, CONDES-LARA M, DELAND-SHEER E, GIUFFRIDA R & CESARO P. 1984b. Utilisation de la depression envahissante de Leão pour l'étude de relations entre structures centrales. *An Acad Bras Cienc* 56: 371-383.

KNOWLES RG & MONCADA S. 1994. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 298: 249-258.

PINTO ID & SANGUINETTI YT. 1984. Mesozoic Ostracode Genus *Theriosynoecum* Branson, 1936 and validity of related Genera. *An Acad Bras Cienc* 56: 207-215.

Livros e capítulos de livros

DAVIES M. 1947. An outline of the development of Science. Thinker's Library, n. 120. London: Watts, 214 p.

PREHN RT. 1964. Role of immunity in biology of cancer. In: NATIONAL CANCER CONFERENCE, 5., Philadelphia. Proceedings ... , Philadelphia: J. B. Lippincott, p. 97-104.

UYTENBOGAARDT W & BURKE EAJ. 1971. Tables for microscopic identification of minerals, 2nd ed., Amsterdam: Elsevier, 430 p.

WOODY RW. 1974. Studies of theoretical circular dichroism of polipeptides: contributions of B-turns. In: BLOUTS ER ET AL. (Eds), Peptides, polypeptides and proteins, New York: J Wiley & Sons, New York, USA, p. 338-350.