

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

LUIZ FELIPE SILVA OLIVEIRA

Avaliação dos parâmetros de crescimento, metabólicos e antioxidantes de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo peptídeos funcionais obtidos de larvas de *Tenebrio molitor*

Uruguaiana

2023

LUIZ FELIPE SILVA OLIVEIRA

Avaliação dos parâmetros de crescimento, metabólicos e antioxidantes de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo peptídeos funcionais obtidos de larvas de *Tenebrio molitor*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Tecnologia em Aquicultura da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Tecnólogo em Aquicultura.

Orientador(a): Prof.^a Dr.^a Fernanda Goulart Rodrigues Ferrigolo

Coorientador(a): Dr.^a TAE Alexandra Pretto

Uruguiana

2023

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a) através do Modo de Biblioteca do Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais).

O48a

Oliveira, Luiz Felipe Silva

Avaliação dos parâmetros de crescimento, metabólitos e antioxidantes de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo peptídeos funcionais obtidos de larvas de *Tenebrio molitor* / Luiz Felipe Silva Oliveira.

51 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -- Universidade Federal do Pampa, TECNOLOGIA EM AQUICULTURA, 2023.

"Orientação: Fernanda Rodrigues Goulart Ferrigolo".

1. Aquicultura. 2. Nutrição animal. 3. Insetos. I. Título.

LUIZ FELIPE SILVA OLIVEIRA

Avaliação dos parâmetros de crescimento, metabolismo e antioxidantes de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo peptídeos funcionais obtidos de *Tenebrio molitor*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Aquicultura da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Tecnólogo em Aquicultura.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em 15 de dezembro de 2023.

Banca examinadora:

Prof.^a Dr.^a Fernanda Rodrigues Goulart Ferrigolo
Orientador
UNIPAMPA

Prof.^a Dr.^a Andressa Tellechea Rodrigues
UNIPAMPA

Prof.^a Dr.^a Viviani Correia
UNIPAMPA

Dedico esta conquista a minha mãe, meu padrasto e meus irmãos. Vocês foram fundamentais nesta caminhada.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe e meu padrasto, Severina e Delceu, agradeço pela educação, amor, carinho, por serem meu suporte em toda a graduação e me incentivarem nos momentos mais difíceis.

A minha irmã, Daniela, por todo apoio e carinho durante esses 4 anos de graduação, que sempre esteve ao meu lado.

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Fernanda Rodrigues Goulart Ferrigolo, agradeço profundamente pela oportunidade concedida. Obrigado pela orientação, paciência, compreensão e ensinamentos durante a graduação.

A minha co-orientadora, Dr.^a Alexandra Pretto, por todo ensinamento, sua amizade, dedicação e auxílio nas análises deste trabalho.

A minha melhor amiga Camilla Astrana, pelas palavras de apoio todos os dias e pensamento positivo em todos os momentos.

Às minhas amigas do curso de Farmácia, Ana Carolina, Bethânia, Cristhiane, Lavínia, Luciele e Rita, pelo apoio e companheirismo todos os dias, com certeza, vocês deixaram a graduação mais leve; agradeço pela amizade verdadeira, da graduação para a vida.

Ao meu amigo e parceiro de laboratório, Evander Matos Penchel, que com certeza, sem tua ajuda, não chegaria até aqui.

Aos meus colegas do curso de Tecnologia e Engenharia de Aquicultura, pelos momentos compartilhados.

Aos professores do curso, que em sua totalidade contribuíram para a minha formação profissional.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

MUITO OBRIGADO!

*“É mais produtivo viver com o peso da busca,
que com o vazio da ignorância!”*

Pedro Loos

RESUMO

A aquicultura se destaca como a produção de proteína de ótima qualidade em sistemas de cultivos sustentáveis, garantindo a segurança alimentar. Neste sentido, para que a piscicultura se torne uma atividade competitiva, há a necessidade de intensificação, no entanto, em paralelo a intensificação da produção, diversos fatores favorecem o estresse dos animais, o que os tornam mais suscetíveis ao desenvolvimento de doenças. Com isso, os peptídeos bioativos chegam como alternativa de substituição aos antibióticos e podem ser usados como ingredientes funcionais ou nutracêuticos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inclusão de níveis crescentes de peptídeos bioativos obtidos a partir de *Tenebrio molitor* (PBTM), na dieta de juvenis de jundiá, sobre as variáveis de crescimento, metabolismo intermediário e antioxidante. Para isso, três dietas experimentais foram formuladas contendo níveis crescentes de peptídeos bioativos de *T. molitor*, 0% (dieta controle), 0,5% PBTM e 1% PBTM. Ao final do ensaio nutricional, os peixes passaram por jejum prévio, anestesiados para realização de pesagem e medição para estimar seguintes parâmetros: peso final (PF), taxa de crescimento específico (TCE), ganho de peso diário (GPD), ganho de peso relativo (GPR) e índice de eficiência alimentar (IEA), após eutanasiados para coleta de fígado. Dentre as análises bioquímicas hepáticas foi possível determinar níveis de proteína total, além de parâmetros antioxidantes, como atividade das enzimas catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST), ácido tiobarbitúrico (TBARS) e determinação de mucoproteínas. Não foram observadas diferenças em relação aos parâmetros de crescimento como PF, TCE, GPD e GPR; já os peixes do grupo controle apresentaram maior IEA ($52,37 \pm 5,16^c$). Os peixes que receberam a dieta 1,0% PBTM apresentaram maior atividade de alanina aminotransferase ($22,33 \pm 2,68^b$); as enzimas CAT, GST não tiveram diferença e foi observado maior nível de TBARS nos jundiás alimentados com a dieta contendo 0,5% PBTM. Os peptídeos bioativos de larvas de *T. molitor* não promoveram efeitos negativos sobre o desempenho dos animais, além disso, os parâmetros hepáticos permaneceram estáveis, sendo que a inclusão de 1,0% de PBTM nas dietas promoveu melhorias sobre a proteção contra a peroxidação lipídica.

Palavras chaves: Peptídeos bioativos; Metabolismo intermediário; Enzimas antioxidantes;

ABSTRACT

Aquaculture stands out as the production of high quality protein in more sustainable crop systems, ensuring food security. In this sense, for fish farming to become a competitive activity, there is a need for intensification, however, in parallel to the intensification of production, several factors favor the stress of animals, which make them more susceptible to the development of diseases. Thus, bioactive peptides arrive as an alternative to antibiotics and can be used as functional or nutraceutical ingredients. The objective of this study was to evaluate the effect of the inclusion of increasing levels of bioactive peptides obtained from *Tenebrio Molitor* (PBTM), in the diet of jundiá juveniles, on growth parameters, intermediate metabolism and antioxidant. For this, three experimental diets were formulated containing increasing levels of bioactive peptides of *T. Molitor*, 0% (control diet), 0.5% PBTM and 1% PBTM. At the end of the nutritional trial, the fish underwent prior fasting, anesthesia for weighing and measurement to estimate the following parameters: final weight (FW), specific growth rate (SGR), daily weight gain (DWG), relative weight gain (RWG) and food efficiency index (FEI), after euthanized by eugenol overdose for liver collection. Among the hepatic biochemical analyzes it was possible to determine protein levels, as well as antioxidant parameters such as catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST), thiobarbituric acid (TBARS) and mucus scraping for determination of mucoproteins. No significant differences were observed in relation to growth parameters such as FP, TCE, GPD and GPR; the control group fish presented higher IEA ((52,37±5,16^c). The fish that received the diet 1.0% PBTM showed higher alanine aminotransferase activity (22,33±2,68^b); the enzymes CAT, GST had no significant difference and was observed higher levels of TBARS in the jundias of the group with 0.5% PBTM. The bioactive peptides of *T. Molitor* larvae did not promote negative effects on the performance of the animals, in addition, the liver parameters remained stable, and the inclusion of 1.0% of PBTM in the diets promoted improvements in the protection against lipid peroxidation.

Keywords: Bioactive peptides; Intermediate metabolism; Antioxidant enzymes; *Rhamdia quelen*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Parâmetros antioxidantes de jundiás (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com níveis crescentes de peptídeos bioativos de <i>Tenebrio molitor</i>	29
Figura 2. Níveis de mucoproteínas de jundiás (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com peptídeos bioativos de <i>Tenebrio molitor</i>	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação e composição proximal das dietas experimentais	23
Tabela 2. Parâmetros de crescimento de jundiás (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com níveis crescentes de peptídeos bioativos de <i>Tenebrio molitor</i>	27
Tabela 3. Parâmetros metabólicos hepáticos de jundiás (<i>Rhamdia quelen</i>) alimentados com níveis crescentes de peptídeos bioativos de <i>Tenebrio molitor</i>	28

SUMÁRIO

1. CONTEXTUALIZAÇÃO.....	13
1.1. PEPTÍDEOS BIOATIVOS DERIVADOS DE INSETOS APLICADOS À NUTRIÇÃO.....	14
1.2. <i>Rhamdia quelen</i>	15
1.3. ENZIMAS ANTIOXIDANTES.....	16
2. OBJETIVOS.....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3. ARTIGO.....	18
1. Introdução	20
2. Materiais e métodos.....	22
2.1 Obtenção do peptídeo bioativo	22
2.2 Dietas experimentais.....	22
2.3 Condições experimentais.....	24
2.4 Coleta de dados e parâmetros avaliados.....	24
2.5 Análises bioquímicas hepáticas.....	25
2.6 Análises antioxidantes hepáticas	25
2.7 Análise de mucoproteínas	26
2.8 Análise estatística	26
3. Resultados	27
3.1 Desempenho.....	27
3.2 Metabolismo intermediário hepático	27
3.3 Parâmetros antioxidantes hepáticos.....	28
4. Mucoproteínas	30
5. Discussão	31
6. Conclusão	34
7. Referências.....	35
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	40
REFERÊNCIAS	41
ANEXO.....	44

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

A aquicultura se destaca como a produção de proteína de ótima qualidade em sistemas de cultivos mais sustentáveis, garantindo a segurança alimentar. Além disso, vem se estabelecendo de modo a suprir a demanda de mercado, investindo em novas tecnologias de criação e proteção ambiental (FAO, 2022).

A produção aquícola brasileira nos últimos anos vem crescendo de maneira relevante, cerca de 48,6% (PEIXE BR, 2023); dados estes que desde 2014 a Peixe BR oficializou essas estatísticas. Em 2022, segundo a Associação Brasileira de Piscicultura, chegou a 860.355 toneladas (PEIXE BR, 2023) em peixes de cultivo. Sabe-se que a aquicultura não é apenas importante na geração de recursos financeiros e emprego, mas ela também contribui para a segurança alimentar e desenvolvimento social de muitas regiões.

Quanto à piscicultura na região Sul, essa foi responsável pela produção de cerca de 275 mil toneladas de peixes em 2022, o que representa cerca de 32% da produção nacional de peixes (PEIXE BR, 2023). No Estado do Rio Grande do Sul, a piscicultura de corte ainda é incipiente, porém apresenta grande potencial de crescimento. A produção aquícola em 2022 atingiu cerca de 27.300 toneladas, sendo apenas 3% do que foi produzido no Brasil neste ano (PEIXE BR, 2023).

Neste sentido, para que a piscicultura se torne uma atividade competitiva e atinja altos índices produtivos, há a necessidade de intensificação, no entanto, em paralelo a intensificação da produção, diversos fatores, incluindo a superlotação, práticas de manejo, temperatura desfavorável, má nutrição e qualidade da água favorecem o estresse dos animais (AWAD *et al.*, 2017), o que os torna mais suscetíveis ao desenvolvimento de doenças.

O estresse provocado reduz a competência imunológica dos organismos aquáticos, que se tornam mais suscetíveis às infecções bacterianas, nesses casos é comum a antibioticoterapia como medida terapêutica, alvo de muitas críticas, por seu potencial de selecionar bactérias resistentes e por defasar a microbiota ambiental (CULJAK *et al.*, 2006). Com isso, há um interesse em se identificar novos alimentos funcionais que possam servir de medida preventiva, sem perda no desempenho dos animais.

Na aquicultura a utilização de alimentos para promover a saúde ainda é novidade, algumas substâncias que beneficiam o sistema imunológico estão sendo utilizadas como alternativas aos antibióticos, entre elas, melhoradores de desempenho como prebióticos, probióticos, simbióticos, peptídeos bioativos, entre outros (GIBSON & ROBERFROID 1995). Os peptídeos bioativos chegam como alternativa de substituição aos antibióticos, pois eles são

compostos por pequenos fragmentos de aminoácidos e podem ser usados como ingredientes funcionais ou nutracêuticos (MATOS 2021; DE CASTRO, 2015).

1.1. PEPTÍDEOS BIOATIVOS DERIVADOS DE INSETOS APLICADOS À NUTRIÇÃO

As proteínas, além de fornecerem nutrição e aminoácidos essenciais ao crescimento e desenvolvimento, também podem contribuir com diversos efeitos fisiológicos aos organismos ao fornecerem peptídeos (KORHONEN & PIHLANTO, 2006).

Nos últimos anos, pesquisas científicas voltadas para a obtenção de peptídeos bioativos têm sido conduzidas (LI-CHAN, 2015). Os peptídeos bioativos são definidos como frações específicas de proteínas, com sequência de aminoácidos que promovem benefícios em várias funções biológicas do animal (MATOS & CASTRO, 2021). Dentre as principais bioatividades destas moléculas estão suas propriedades antioxidantes, anti-diabéticas e antimicrobianas, levando em consideração as grandes fontes proteicas que podem ser usadas como substrato para gerar esses produtos (LI-CHAN, 2015).

A hidrólise enzimática é a técnica mais utilizada para a produção destas moléculas (CASTRO & SATO, 2015). A produção de hidrolisados proteicos é realizada a partir da escolha de uma fonte proteica e a posterior liberação de seus fragmentos de peptídeos pelo rompimento das ligações entre os resíduos de aminoácidos. Geralmente, esse processo ocorre pela ação proteolítica de enzimas endógenas (autólise), enzimas exógenas (preparações comerciais) ou por fermentação microbiana (LI-CHAN, 2015; TOLDRÁ *et al.*, 2018). A hidrólise com enzimas exógenas de origem microbiana ou vegetal – como Alcalase, Flavourzyme, papaína, ficina, termolisina, Pronase e Neutrase –, também vem sendo muito explorada (MARCINIAK *et al.*, 2018). Durante o processo, as ligações peptídicas são clivadas, provocando um aumento na densidade de carga e uma diminuição na massa molecular, o que contribui para o aumento da solubilidade dos produtos.

Portanto, a hidrólise enzimática de proteínas está sendo considerada uma alternativa promissora para a produção de peptídeos devido a sua natureza não térmica, baixa densidade de energia, alta eficiência e curto tempo de processamento em comparação com métodos tradicionais (ZHANG *et al.*, 2021). No geral, há esforços contínuos para desenvolver técnicas de extração de peptídeos bioativos econômicas e eficientes.

A produção de hidrolisados proteicos é realizada a partir da escolha de uma fonte proteica e a posterior liberação de seus fragmentos de peptídeos pelo rompimento das ligações

entre os resíduos de aminoácidos, permitindo que os peptídeos possam ser absorvidos pelo intestino tendo ação direta no trato intestinal, agindo como receptores que sinalizam o recebimento desses peptídeos, gerando uma resposta imunológica do animal (RUTHERFURD – MARKWICK, 2021).

Um potencial substrato para a obtenção desses peptídeos são os insetos, que apresentam elevados níveis de proteínas e perfil de aminoácidos essenciais (NOWAK et al., 2016; SUN-WATERHOUSE et al., 2016), quando comparados às fontes protéicas convencionais de origem animal e vegetal (RUMPOLD & SCHLUTER, 2013).

Entre os insetos utilizados para obtenção de peptídeos, destaca-se o *Tenebrio molitor*, cuja composição nutricional varia de 41 a 68% de proteína e de 14 a 38% de lipídeos (RUMBUS et al., 2020), além de apresentar altos níveis de isoleucina, leucina, valina, tirosina, vitaminas e minerais, quando comparados a outras fontes proteicas (DONGXIAO et al., 2016). Com isso, o *T. molitor* demonstra vantagem na extração de peptídeos bioativos que podem ser incluídos como fonte suplementar em dietas para organismos vivos.

Para a aquicultura, sabe-se que os organismos aquáticos cultivados vivem sob estresse diário por conta do adensamento, para isso, fornecer aos animais uma dieta de qualidade reduz os danos fisiológicos causados pelo estresse, contribuindo para melhorar seu sistema imune.

1.2. *Rhamdia quelen*

Dentre as espécies nativas cultivadas no Rio Grande do Sul, o jundiá (*Rhamdia quelen*) apresenta rápido crescimento, boa resistência às baixas temperaturas do inverno e tolerância com temperaturas mais altas do verão; tendo facilidade em sua reprodução e aceitabilidade de ração, mostrando que essas características fazem com que este animal desponte como uma espécie mais promissoras na região sul do Brasil. Em sistemas de aquicultura pode atingir 600 a 800 g de peso corporal em apenas 8 meses ao ser cultivado numa densidade de dois a quatro peixes por m² (BORGES, 2005)

Vivem em lagos e rios, e preferem os ambientes de águas mais calmas, com fundo de areia e lama, apresentando hábito noturno (PAMPLONA, 2009). Podem atingir 50 cm de comprimento e 3 kg de peso. Seu hábito alimentar é onívoro com tendência a onívoro. O melhor alimento artificial para as larvas desta espécie baseia-se em lecitina de soja, fígado bovino e levedura (BORGES, 2005).

Os adultos da espécie alimentam-se de peixes, crustáceos, insetos, restos vegetais e detritos orgânicos. São generalistas no que diz respeito à escolha do alimento. Essa

característica contribui para sua adaptação ao alimento artificial, e assim, para sua domesticação (PAMPLONA, 2009).

É considerada uma espécie euritérmica, resistindo a grandes oscilações de temperatura, embora o ideal térmico situe-se entre 22-28°C (BORGES, 2005). Os juvenis aclimatados a 31°C suportam temperaturas de 15 a 34 °C (GOMES *et al.*, 2000).

1.3. ENZIMAS ANTIOXIDANTES

O estresse oxidativo ocorre em razão do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas ao oxigênio e sua eliminação por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos presentes nas células. A produção excessiva ou desequilibrada de espécies reativas ao oxigênio pode promover estresse oxidativo nos tecidos e conseqüentemente danificar o DNA, lipídios e proteínas celulares (VASCONCELOS *et al.*, 2007)

O sistema de defesa antioxidante celular é controlado por um conjunto de enzimas antioxidantes como catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase, glutathione peroxidase (GPx), glutathione S-transferase (GST), entre outras. Essas enzimas exercem um papel importante na proteção da integridade da célula, eliminando as espécies reativas ao oxigênio (ERO), sendo estudadas para avaliar respostas imunes inespecíficas (GHAFARIFARSANI *et al.*, 2021).

Em situações adversas, em que a capacidade antioxidante do animal não é suficiente para eliminar as ERO recomenda-se a aplicação de fontes externas para ampliar a sua capacidade. Nesse sentido, a adição de antioxidantes naturais à dieta é uma ótima alternativa a fim de promover melhorias sobre a defesa antioxidante (KO *et al.*, 2014; JASTANIAH *et al.*, 2022). E isso ocorre porque os peptídeos, compostos de baixo peso molecular, apresentam maior número de aminoácidos com potencial de interação com os radicais livres (MATOS *et al.*, 2021).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o efeito de diferentes níveis de inclusão de peptídeos bioativos, obtidos a partir de larvas de *Tenebrio molitor*, na dieta de juvenis de jundiás sobre parâmetros de crescimento, variáveis bioquímicas hepáticas, parâmetros antioxidantes e mucoproteínas em juvenis de jundiás.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a)** Avaliar indicadores de crescimento (peso final, taxa de crescimento específico e eficiência alimentar) em juvenis de jundiá alimentados com diferentes níveis de peptídeos bioativos;
- b)** Estudar parâmetros relacionados ao metabolismo de proteínas no fígado de juvenis de jundiá recebendo dietas contendo diferentes níveis de peptídeos bioativos;
- c)** Verificar as enzimas do sistema de defesa antioxidante como a catalase e a glutathione S-transferase e a peroxidação lipídica através do conteúdo de TBARS no tecido hepático de jundiás alimentados com diferentes níveis de peptídeos bioativos;
- d)** Avaliar a concentração de muco proteínas na epiderme de jundiás alimentados com dietas contendo diferentes níveis de peptídeos bioativos.

3. ARTIGO

Artigo a ser submetido à revista Caderno de Ciências Agrárias

Avaliação dos parâmetros de crescimento, metabólicos e antioxidantes de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo peptídeos funcionais obtidos de *Tenebrio molitor*

Luiz Felipe Silva Oliveira¹, Alexandra Pretto¹, Evander Matos Penchel¹, Sergio Domingos Silveira Serra¹, Carlos Frederico Ceccon Lanes¹, Fernanda Goulart Rodrigues Ferrigolo¹.

Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, Campus Uruguaiiana, Uruguaiiana/RS - Brasil

¹Universidade Federal do Pampa, Curso de Tecnologia em Aquicultura, RS, Brasil.

<https://orcid.org/.0009000398652436>

¹Universidade Federal do Pampa, Curso de Engenharia em Aquicultura, RS, Brasil.

<https://orcid.org/.0009000787730768>

¹Universidade Federal do Pampa, Curso de Tecnologia em Aquicultura, RS, Brasil.

<https://orcid.org/.0000000160660132>

¹Universidade Federal do Pampa, Curso de Tecnologia em Aquicultura, RS, Brasil.

<https://orcid.org/.0000000332212131>

¹Universidade Federal do Pampa, Curso de Engenharia em Aquicultura, RS, Brasil.

<https://orcid.org/.0009000549445355>

¹Universidade Federal do Pampa, Curso de Engenharia em Aquicultura, RS, Brasil.

<https://orcid.org/.0009000067779778>

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inclusão de níveis crescentes de peptídeos bioativos obtidos a partir de *Tenebrio molitor* (PBTM), na dieta de juvenis de jundiá, sobre o crescimento, metabolismo intermediário e antioxidante. Para isso, três dietas experimentais foram formuladas contendo níveis crescentes de peptídeos bioativos de *T. molitor*, 0% (dieta controle), 0,5% PBTM e 1% PBTM. Ao final do ensaio nutricional, os peixes passaram por jejum prévio, anestesiados para realização de pesagem e medição para estimar o desempenho de crescimento e índice de eficiência alimentar. Dentre as análises bioquímicas hepáticas, determinamos níveis de proteína, além de parâmetros antioxidantes, como atividade das enzimas catalase (CAT), glutatona S-transferase (GST), ácido tiobarbitúrico (TBARS) e determinação de muco proteínas. Não foram observadas diferenças significativas em relação aos parâmetros de crescimento; já os peixes do grupo controle apresentaram maior IEA. Os peixes que receberam a dieta 1,0% PBTM apresentaram maior atividade de alanina aminotransferase; as enzimas CAT, GST não tiveram diferença significativa e foi observado maior nível de TBARS nos jundiás do grupo com 0,5% PBTM. Os peptídeos bioativos de larvas de *T. molitor* não promoveram efeitos negativos sobre o desempenho dos animais, os parâmetros hepáticos permaneceram estáveis, sendo que a inclusão de 1,0% PBTM nas dietas promoveu melhorias sobre a proteção contra a peroxidação lipídica. Novos estudos devem ser conduzidos a fim de esclarecer níveis ideais de inclusão deste ingrediente funcional, para uso durante curtos ou longos períodos na alimentação de peixes.

Palavras chave: Peptídeos bioativos; Metabolismo intermediário; Enzimas antioxidantes; *Rhamdia quelen*.

1. Introdução

Dentre as atividades de cultivos sustentáveis, a aquicultura tem destaque pela geração de recursos financeiros e empregos, contribuindo para a segurança alimentar e desenvolvimento social de muitas regiões e países, inclusive o Brasil (Esteban, 2012). Espera-se que o Brasil seja um dos principais produtores mundiais de organismos aquáticos, devido às diversas condições favoráveis que detém, como suas dimensões continentais, grandes reservatórios e fontes de água, amplo mercado consumidor e experiência na produção de outras fontes de proteína animal (Bueno et al., 2021). A produção aquícola em cativeiro no Brasil segue em crescimento (PeixeBR, 2023), mas há necessidade de adequação das práticas e estruturas que possibilitem maior eficácia na produção (Centenaro, 2016).

Entre os desafios encontrados estão produzir em sistemas intensivos em condições de bem estar animal, e com reduzida liberação de poluentes aos ecossistemas aquáticos (Bueno et al., 2021). Além disso, as condições geradas pelas mudanças climáticas afetam diretamente a produção de organismos aquáticos, que passam a ser criados em condições de baixa disponibilidade de água e temperaturas mais flutuantes durante as estações do ano, consequentemente refletindo em sua sobrevivência e produtividade (PeixeBR, 2023). Para enfrentar essas condições não ideais, em que os animais ficam mais suscetíveis ao estresse e aparecimento de doenças, o uso de alimentos funcionais com foco na promoção de saúde e bem estar são essenciais para aumentar a resiliência das espécies criadas (Dawood et al., 2018; Parma et al., 2023).

Nesse contexto, destacam-se os peptídeos bioativos, compostos por sequências geralmente de 2-30 aminoácidos, que já vem sendo empregados como ingredientes funcionais para prevenir doenças humanas (diabetes, câncer, hipertensão, entre outras) (Akbarian et al., 2022), porém devido suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas, imunomodulatórias (Sarker, 2022), são moléculas muito promissoras para serem incluídas na alimentação de peixes a fim de melhorar as condições de saúde e produtividade. Os peptídeos podem ser obtidos a partir de proteínas animais como moluscos, crustáceos, resíduos de peixes, leite, entre outras; vegetais (Akbarian et al., 2022) e insetos (Matos et al., 2021; Quah et al., 2023; Teixeira et al., 2023), através de processos de digestão química, fermentação microbiana, digestão gastrointestinal e hidrólise enzimática com o uso de peptidases. Pelo fato de terem estrutura simples, estável e de baixo peso molecular, os peptídeos são melhor absorvidos a nível intestinal e menos propensos a permanecer ligados e acumulados em tecidos corporais, o que os torna

moléculas mais seguras do que compostos químicos sintéticos como antibióticos e outros fármacos (Akbarian et al., 2022; Sarker, 2022).

A produção de peptídeos bioativos a partir de insetos comestíveis, dentre eles, o *Tenebrio molitor*, tem atraído a atenção para o desenvolvimento de pesquisas (Quah et al., 2023; Teixeira et al., 2023), especialmente pela facilidade de criação destes animais, além de conter alto teor proteico e qualidade nutricional em relação aos aminoácidos essenciais (Matos et al., 2021). De acordo com a revisão realizada por Teixeira et al. (2023), os peptídeos obtidos a partir de diversos insetos, apresentam propriedades antioxidantes, anti-diabética, anti-hipertensiva e anti-inflamatória. Além dessas propriedades bioativas, os insetos são excelente fonte de peptídeos com ação antimicrobiana, o que aumenta sua importância para inclusão em dietas de peixes como possível substituto natural aos antibióticos (Quah et al., 2023). Logo, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inclusão de níveis crescentes de peptídeos bioativos obtidos a partir de *T. molitor*, na dieta de juvenis de jundiá, sobre parâmetros de crescimento, metabolismo intermediário e antioxidante.

2. Materiais e métodos

2.1 Obtenção do peptídeo bioativo

O protocolo utilizado para produção do peptídeo bioativo seguiu as recomendações de Tang et al. (2018) com algumas modificações. Primeiramente as larvas de *Tenebrio molitor* foram parcialmente secas em estufa (55°C por 48 h), moídas e desengorduradas com hexano (quatro lavagens de 30 min, utilizando a proporção peso:volume 1:2). A farinha desengordurada obtida foi pré-incubada em água destilada (proporção p:v 1:10) a 55°C por 30 min. A seguir foi adicionada a enzima Alcalase (0,04%). Para hidrólise enzimática, o pH foi ajustado a 7,0 com NaOH 0,1 N e a reação ocorreu durante 8 h a 55°C. Passada esta etapa, a enzima foi inativada por aquecimento (95°C por 15 min) e a mistura resfriada até 25°C em banho de gelo. Logo após, a mistura foi centrifugada (8000 rpm durante 10 min) para separar os materiais insolúveis dos peptídeos solúveis e o sobrenadante, denominado de peptídeo bioativo, foi armazenado a -20°C até a inclusão nas dietas experimentais.

2.2 Dietas experimentais

Para o ensaio nutricional, foram produzidas três dietas experimentais contendo níveis crescentes de peptídeos bioativos de *Tenebrio molitor* (PBTM) conforme a seguir: 0% (dieta controle); 0,5%PBTM e 1%PBTM. As dietas continham 360 g/Kg de proteína bruta e 13,55 MJ/kg de energia digestível, considerando os requisitos nutricionais da espécie *R. quelen* (Goulart et al., 2018; Meyer e Fracalossi, 2004; Correia et al., 2021) (Tabela 1). Os ingredientes foram homogeneizados manualmente até completa homogeneização. Após esse processo, cada dieta foi peletizada em moedor de carne e mantida em estufa a 55°C por 24h. Posteriormente as dietas foram armazenadas em freezer a -18°C até a alimentação dos animais.

Tabela 1. Formulação e composição proximal das dietas experimentais (g/Kg).

Ingredientes	Tratamentos		
	Controle	0,5% PBTM	1,0% PBTM
Farinha de peixe	670,0	670,0	670,0
Amido de milho	159,8	159,8	159,8
Celulose microcristalina	60,0	55,0	50,0
Peptídeo bioativo	0	5,0	10,0
Óleo de linhaça	30,0	30,0	30,0
Mistura de vitaminas/minerais ¹	30,0	30,0	30,0
Cloreto sódio iodado	5,0	5,0	5,0
Hidroxitolueno butilado	0,2	0,2	0,2
Areia	45,0	45,0	45,0
Total	1000,0	1000,0	1000,0
Composição centesimal (g/Kg) ²			
Proteína bruta	360,4	360,4	360,4
Energia digestível (MJ/Kg) ³	13,55	13,55	13,55
Extrato etéreo	103,9	103,9	103,9
Amido	159,8	159,8	159,8
Matéria mineral	157,1	157,1	157,1
Relação E:PB	89,82	89,82	89,82
Cálcio	31,5	31,5	31,5
Fósforo	16,1	16,1	16,1
Relação Ca:P	1,96	1,96	1,96

¹Composição da mistura de vitaminas e minerais (kg): Ácido fólico 997,50 mg; Ácido pantotênico 9975,00 mg; Biotina: 159,60 mg; Cobalto: 39,90 mg; Cobre: 2800,00 mg; Etoxiquina: 24,78 g; Ferro: 19,62 g; Iodo: 120,00 mg; Manganês: 5200,00 mg; Niacina: 19,95 g; Selênio: 119,70 mg; Zinco: 28,00 g; Vit. A: 1995000 UI; Vit. B1: 4987,50 mg; Vit. B12: 5985,00 mg; Vit. B2: 4987,50 g; Vit. B6: 4987,50 mg; Vit. C: 70,00 g; Vit. D3: 198000,05 UI; Vit. E: 19950,00 UI; Vit. K: 997,50 mg.

²Valores calculados e expressos na matéria natural. ³Energia digestível = ([proteína bruta x 23,61 MJ/Kg x 0,9] + [gordura x 39,82 MJ/Kg x 0,85] + [carboidratos solúveis x 17,21 MJ/Kg x 0,50]) (Jobling, 1983).

2.3 Condições experimentais

Este estudo foi conduzido no Centro de Tecnologia em Pesca e Aquicultura da Universidade Federal do Pampa *Campus* Uruguaiana - RS, Brasil, após aprovação pelo Comitê de Ética no uso de Animais desta Universidade (protocolo 009/2021).

O ensaio de alimentação foi realizado em sistema de recirculação de água composto por 12 unidades experimentais (caixas de polipropileno com volume útil de 280 L, com entrada e saída de água individuais), motobomba e um filtro biológico. 336 juvenis de jundiá (peso médio inicial de $3,83 \pm 0,69$ g) foram distribuídos nas unidades experimentais (28 peixes/caixa), em um delineamento inteiramente ao acaso composto por três tratamentos e quatro repetições. Por um período de 40 dias, os peixes foram alimentados até a saciedade aparente duas vezes ao dia (9:30 e 16:30h). Diariamente, foram retiradas de fezes das unidades experimentais através de sifonagem (às 8:30 e 15:30 hs).

Durante o período experimental, as variáveis físico químicas da água como temperatura e oxigênio foram monitorados diariamente, cujos valores médios encontrados foram $18,70 \pm 1,80^\circ\text{C}$ pela manhã e $19,37 \pm 1,43^\circ\text{C}$ pela tarde e $6,07 \pm 0,90$ mg/L pela manhã e $5,81 \pm 0,74$ mg/L pela tarde, respectivamente. Os demais parâmetros foram verificados semanalmente e mantidos conforme a seguir: alcalinidade $235,83 \pm 29,40$ mg/L CaCO_3 ; dureza $134,00 \pm 38,43$ mg/L CaCO_3 ; pH $7,70 \pm 0,40$; amônia $0,71 \pm 0,74$ mg/L e nitrito $0,14 \pm 0,10$ mg/L.

2.4 Coleta de dados e parâmetros avaliados

Ao final do ensaio nutricional, os peixes passaram por jejum prévio de 18 h e após foram anestesiados com eugenol (50 mg/L - Cunha et al., 2010) para realização de pesagem e medição individual para estimar os seguintes parâmetros: peso final (PF(g)); taxa de crescimento específico (TCE (%/dia))= $(\ln(\text{PCF}) - \ln(\text{PCI})) / \text{dias de alimentação} \times 100$; enquanto: \ln = logaritmo neperiano, PCF= peso corporal final; PCI= peso corporal inicial; ganho em peso diário (GPD (g))= PF - PI; ganho de peso relativo (GPR%)= $(\text{GP}/\text{PCI}) \times 100$; e índice de eficiência alimentar (IEA (%))= GP/alimento consumido.

Após a biometria, dois peixes de cada unidade experimental (oito peixes/tratamento) foram eutanasiados por overdose de Eugenol (500 mg/L) para coleta de fígado, que foi rapidamente removido e armazenado a -18°C para posteriores análises bioquímicas.

2.5 Análises bioquímicas hepáticas

Em relação aos metabólitos intermediários, foram determinados os níveis de proteína, seguindo a metodologia proposta por Lowry et al. (1951). Para tanto, amostras de 50 mg de fígado foram adicionadas a 1 mL de hidróxido de potássio (KOH) 6N e aquecidas a 100 °C, utilizando como padrão albumina sérica bovina. Posteriormente, uma porção deste extrato (250 µL) foi separada e 3 mL de etanol adicionado para promover a hidrólise e precipitação do glicogênio, seguido de centrifugação a 3200 rpm por 10 min, de acordo com o protocolo descrito por Bidinotto et al. (1997). Para medir aminoácidos e as aminotransferases, subamostras de 50 mg foram homogeneizadas em 1 mL de tampão fosfato de potássio 20 mM pH 7,5 e o homogeneizado foi centrifugado a 3200 rpm durante 10 min. O sobrenadante neutro foi utilizado para determinar a concentração de aminoácidos de acordo com Spies (1957), usando ninhidrina 1,5 % em álcool isopropílico como reagente de cor. Outra parte deste extrato foi utilizada para medir a atividade das enzimas alanina e aspartato aminotransferase (U/mg proteína), utilizando *Kits* colorimétricos (Bioclin[®], MG, Brasil).

2.6 Análises antioxidantes hepáticas

Quanto aos parâmetros antioxidantes, foi avaliada a atividade das enzimas catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST) e a peroxidação lipídica através dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Para tanto, amostras de 50 mg de fígado foram homogeneizadas, em gelo, em 1 mL de tampão tris-HCl 50 mM pH 7,4, usando um processador tipo turrax. Após homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 10 min a 4 °C e o sobrenadante armazenado em microtubos a -18 °C até a realização das análises.

A atividade de CAT foi ensaiada seguindo o protocolo descrito por Nelson & Kiesov (1972). A mistura do ensaio consistiu de 185 µL de tampão fosfato de potássio (50 mmol/L, pH 7,0), 5 µL de homogeneizado de fígado e 10 µL de H₂O₂ (0,3 mol/L). A absorbância foi medida durante 5 min a 37 °C usando um leitor de placas. A mudança na concentração de H₂O₂ a 240 nm foi usada para expressar a atividade de CAT como U/mg proteína.

A atividade de GST foi medida usando o protocolo descrito por Habig et al. (1974), usando 1-cloro-2,4Dinitrobenzeno (CDNB 20 mM, 10 µL) em etanol, glutathione reduzida (GSH 100 mM, 10 µL), tampão fosfato de potássio 100 mM pH 7,5 (240 µL), homogeneizado de tecido hepático (20 µL) e água milli-Q (20 µL). A absorbância foi medida durante 2 min a 340

nm usando um leitor de microplacas. A atividade enzimática foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de 9,6 mM/cm e expressa como $\mu\text{mol GS-DNB/min/mg}$ proteína.

O ensaio para avaliar a formação de TBARS foi conduzido seguindo o protocolo descrito por Buege & Aust (1978). A mistura de reação foi composta por homogeneizado de fígado (0,1 mL), ácido tricloroacético 30% (0,25 mL) e ácido tiobarbitúrico 0,67% (0,5 mL). A reação ocorreu em tubos de ensaio, incubados durante 15 min em banho maria a 95 °C. Após resfriamento, foi adicionado 1,5 mL de álcool butílico em cada tubo, seguido de agitação individual em agitador tipo vórtex durante 40 s e centrifugação a 3500 rpm por 10 min. A absorvância foi medida a 532 nm e os níveis de TBARS expressos como nmol MDA/mg proteína. Os níveis de proteína para expressar a atividade das enzimas antioxidantes e aminotransferases foi estimado pelo método descrito por Bradford (1976).

2.7 Análise de muco proteínas

Oito peixes de cada tratamento foram amostrados para coleta de muco. Cada peixe foi colocado dentro de um saco plástico contendo 10 ml de NaCl 50 mM e agitados suavemente durante 1 minuto para extração do muco corporal, que a seguir foi coletado e armazenado em tubos a -18 °C até a análise de muco proteínas (Adorian et al., 2019).

A concentração de muco proteínas (mg/dL) no muco foi determinada através do uso de *Kit* colorimétrico comercial (Bioclin[®], MG, Brasil).

2.8 Análise estatística

Os dados obtidos são apresentados como média \pm desvio padrão. Os dados foram analisados primeiramente para identificação de outliers. Logo após submetidos ao teste de normalidade, seguido de análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, utilizando o programa estatístico SPSS 21.0.

3. Resultados

3.1 Desempenho

Não houve diferença em relação ao peso final (PF), taxa de crescimento específico (TCE), ganho em peso diário (GPD) e ganho em peso relativo (GPR) para os juvenis alimentados com a dieta controle em comparação àqueles que receberam as dietas contendo a inclusão do peptídeo bioativo (0,5 e 1,0%) (Tabela 2). Os peixes do grupo controle apresentaram maior índice de eficiência alimentar (IEA), seguido dos juvenis que receberam 1,0%PBTM e daqueles alimentados com 0,5%PBTM na dieta (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros de crescimento de jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com níveis crescentes de peptídeos bioativos de *Tenebrio molitor*

Parâmetro	CONTROLE	0,5% PBTM	1,0% PBTM
PF	6,38±2,11	6,16±1,84	6,45±2,47
TCE	1,30±0,12	1,22±0,21	1,33±0,05
GPD	0,065±0,00	0,060±0,01	0,067±0,00
GPR	66,40±7,77	65,88±11,59	68,07±3,76
IEA	52,37±5,16 ^c	39,40±4,90 ^a	45,69±1,93 ^{ab}

Dados apresentados como média ± desvio padrão (n = 4). PF: Peso final (g); TCE: taxa de crescimento específico (%/dia); GPD: ganho em peso diário (g); GPR: Ganho de Peso Relativo (%); IEA: Índice de Eficiência Alimentar (%); Diferentes letras nas linhas da tabela representam diferença significativa pelo teste de Tukey (p < 0,05).

3.2 Metabolismo intermediário hepático

Não foram observadas alterações nos níveis de glicogênio, proteína total, aminoácidos livres e para a enzima aspartato aminotransferase entre os peixes que receberam as dietas controle; 0,5 e 1,0%PBTM (Tabela 3). Os peixes do tratamento 1,0%PBTM apresentaram maior atividade de alanina aminotransferase em relação àqueles alimentados com 0,5%PBTM, mas sem diferir daqueles do tratamento controle.

Tabela 3. Parâmetros metabólicos hepáticos de jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com níveis crescentes de peptídeos bioativos de *Tenebrio molitor*.

Parâmetro	CONTROLE	0,5% PBTM	1,0 % PBTM
Glicogênio	196,93±77,60	198,36±93,17	220,86±72,73
Proteína total	64,93±17,07	68,15±23,50	55,71±13,88
Aminoácidos livres	240,07±30,73	247,87±19,76	217,51±39,19
Alanina aminotransferase (ALT)	16,79±1,89 ^{ab}	12,48±4,21 ^a	22,33±2,68 ^b
Aspartato aminotransferase (AST)	1261,2±769,2	1340,5±670,1	1469,1±921,7

Dados apresentados como média ± desvio padrão (n = 8). Glicogênio = μmol glicose/g tecido; Proteína = mg/tecido; Aminoácidos livres = μmol/g tecido; ALT e AST = U/mg proteína. Diferentes letras nas linhas da tabela representam diferença significativa pelo teste de Tukey (p < 0,05).

3.3 Parâmetros antioxidantes hepáticos

A atividade das enzimas catalase (CAT) e glutathiona S-transferase (GST) não foram alteradas significativamente entre os juvenis de jundiá dos grupos controle, 0,5%PBTM e 1%PBTM (Figura 1). Foi observado maior nível de TBARS nos jundiás que receberam a dieta 0,5%PBTM em relação aos animais alimentados com 1,0%PBTM na dieta, mas sem diferir dos peixes do grupo controle.

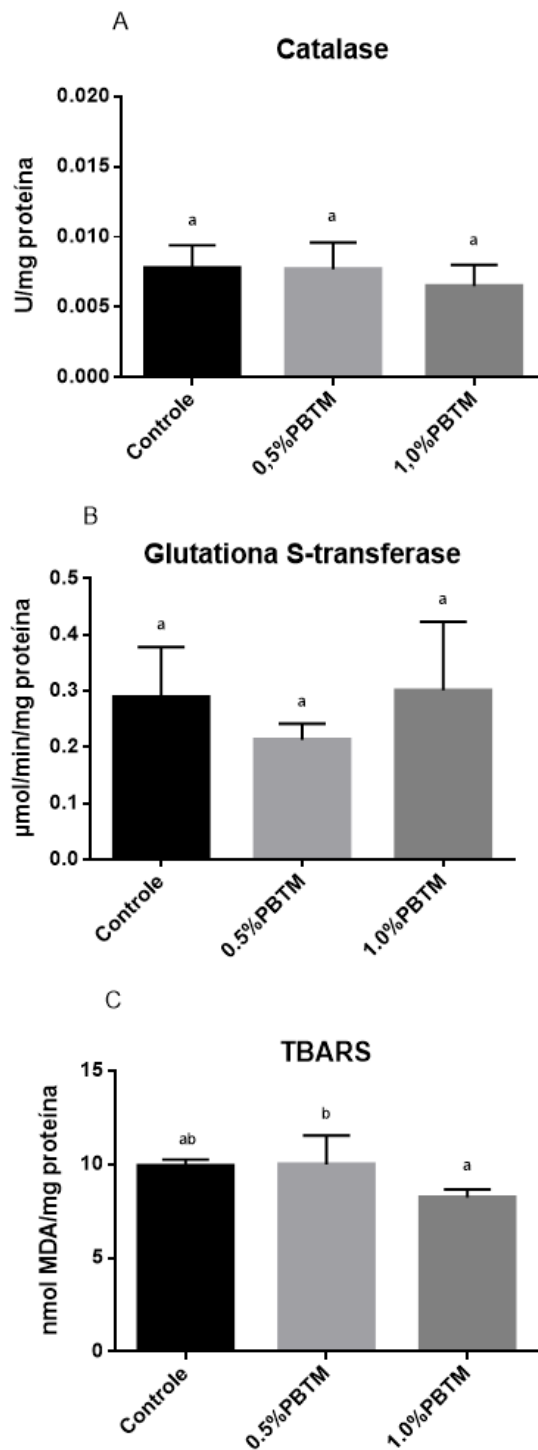


Figura 1. Parâmetros antioxidantes de jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com níveis crescentes de peptídeos bioativos de *Tenebrio molitor*.

Dados apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). Diferentes letras representam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4. Muco proteínas

A concentração de muco proteínas não diferiu nos juvenis nos diferentes tratamentos. Os valores variaram de 0,90 mg/dL (dieta controle) a 0,79 mg/dL (tratamento 1,0%PBTM) (Figura 2).

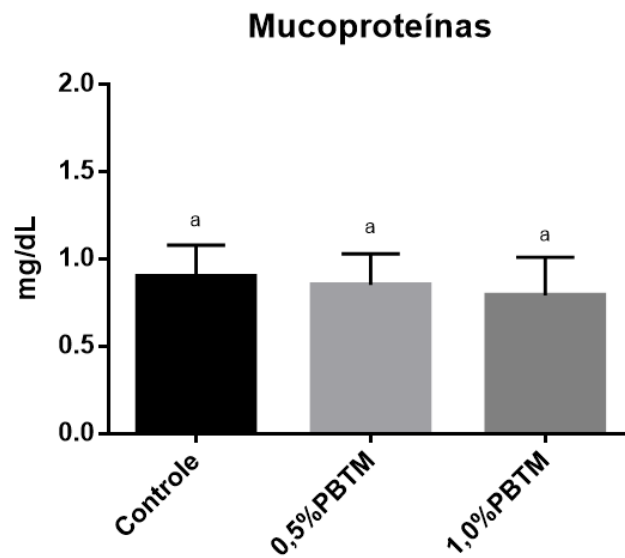


Figura 2. Níveis de mucoproteínas de jundiás (*Rhamdia quelen*) alimentados com peptídeos bioativos de *Tenebrio molitor*.

Dados apresentados como média \pm desvio padrão (n = 8). Diferentes letras representam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

5. Discussão

Nos últimos anos esforços têm sido feitos para a obtenção de peptídeos que possuam propriedades bioativas, incluindo efeitos nutricionais, antioxidantes, antimicrobianos, imunoestimulantes e anti-inflamatórios (Ko et al., 2014). Estudos estão sendo conduzidos a fim de desenvolver processos eficazes de extração de peptídeos a partir de modificações enzimáticas e químicas das proteínas (Mamauag et al., 2011), para que gerem benefícios ao serem incluídos em dietas para animais. Peptídeos obtidos a partir de diversas fontes já vem sendo investigadas em dietas para peixes (Aksnes et al., 2006; Bogwald et al., 1996; Kotzamanis et al., 2007; Gui et al., 2010; Yuan et al., 2017). No entanto, limitada atenção tem sido dada a estudos sobre o efeito de peptídeos que tenham sido extraídos a partir de insetos para peixes. No presente trabalho investigamos o efeito de peptídeos bioativos obtidos de larvas de *Tenebrio molitor* na dieta de jundiás;

Conforme os resultados obtidos, a inclusão dos peptídeos não promoveu alterações significativas nos parâmetros de crescimento, apenas o índice de eficiência alimentar foi maior nos peixes que receberam a dieta controle.

Segundo Mamauag et al. (2011) esse resultado pode ser explicado pela falta de sincronismo na disponibilidade de peptídeos e aminoácidos, refletindo-se em níveis diferentes de acumulação, o que proporciona divergências nas rotas metabólicas dos aminoácidos e consequentemente em sua disponibilidade para a formação de proteínas.

Para que a síntese de proteínas aconteça nas células, é fundamental que os aminoácidos essenciais sejam disponibilizados no momento exato, caso contrário, se o aminoácido não estiver presente em quantidades suficientes, os aminoácidos remanescentes serão alternativamente metabolizados em energia (Corrêia et al. 2021).

Da mesma forma que no presente estudo, Parma et al. (2023) não observaram diferença significativa para as variáveis peso final, taxa de crescimento específico, conversão alimentar e consumo de alimento de juvenis de “sea bass” (*Dicentrarchus labrax*) quando foram administrados níveis de 5 e 10% de peptídeos bioativos derivados de co-produtos (cabeça e espinhas dorsais) de salmão na dieta. No entanto, após serem submetidos a uma situação de estresse durante 7 dias, os peixes alimentados com a dieta contendo 5% de peptídeos bioativos demonstraram melhor utilização de lipídeos como fonte de energia para enfrentar este período de maior demanda energética. Já, a inclusão de hidrolisado produzido com resíduos de atum resultou em maior peso corporal final e taxa de crescimento específico em juvenis de *Lates*

calcarifer (perca gigante) nos níveis de 5 e 10% na dieta, em relação aos animais que não receberam este ingrediente (Siddik et al., 2018).

Da mesma forma, peptídeos obtidos de fontes vegetais como a soja, também demonstraram melhora no desempenho de “*Paralichthys olivaceus*” quando adicionadas ao nível de 20% na dieta (Mamauag et al., 2011). Os efeitos de peptídeos sobre o crescimento podem ser controversos dependendo dos seus níveis na dieta e da espécie estudada. Isso pode ser explicado em função dos mecanismos de ação para os efeitos promotores de crescimento ainda não estarem totalmente esclarecidos, dessa forma mais estudos são necessários a fim de elucidar essas respostas em peixes.

Conforme Parma et al. (2023) há a necessidade de intensificar estudos em que sejam avaliados o efeito de peptídeos bioativos para peixes cultivados em condições desafiadoras, o que pode evidenciar os efeitos positivos desses compostos. Por exemplo, no estudo de Khosravi et al. (2015) foram testados os hidrolisados produzidos a partir de camarão, tilápia e krill, onde a inclusão de 3% de qualquer um desses ingredientes na dieta de sea bream (*Pragus major*) afetou positivamente a resposta de crescimento dos peixes (peso final, ganho de peso, TCE, CAA) e também a sobrevivência quando os animais foram desafiados com exposição a bactéria *Edwardsiella tarda*.

No presente estudo os parâmetros metabólicos hepáticos, proteína, glicogênio e aminoácidos livres, que são indicadores das condições de saúde dos peixes, não sofreram alterações com a inclusão dos peptídeos bioativos na dieta. Conforme relatos na literatura, o desequilíbrio de parâmetros metabólicos do fígado, bem como enzimas hepáticas, indica danos hepáticos, sendo ótimos biomarcadores da função desse órgão (Ghafariarsani et al., 2021; Ghafariarsani et al., 2022).

Conforme nossos resultados, a diminuição da atividade da enzima alanina aminotransferase (ALT) no fígado dos peixes que receberam a adição de 0,5% de peptídeos bioativos na dieta pode ser atribuída a proteção dos peptídeos aos hepatócitos. Alterações nas principais enzimas metabólicas são fundamentais na mediação de mudanças metabólicas adaptativas nas células (Zhao et al., 2016). Outros compostos bioativos, como óleos essenciais e extratos de plantas, já vem demonstrando um efeito protetor aos hepatócitos (Heseini & Yousefi, 2019; Kong et al., 2021; Euony et al., 2020).

Estudos com *Clarias batrachus* (bagre-ambulante) e *Labeo rohita* (carpa rohu) mostram que os animais dependem mais de aminoácidos para produção de energia, possivelmente por via de transporte metabólica de aspartato malato e gliconeogênese (Srivastava et al, 2004). Outros autores relataram que o uso do peptídeo bioativos extraído de produtos vegetais pode

afetar o metabolismo de aminoácidos. Zhao et al., (2016) estudaram o efeito de diferentes níveis de peptídeo de soja em dietas de *Pelteobagrus fulvidraco* (catfish ou bagre-amarelo), e observaram que, maiores níveis de peptídeo em dietas, podem melhorar a absorção proteica da enzima ALT em uma faixa adequada. Entretanto, com o aumento do nível de peptídeo de soja, os valores de ALT tendem a diminuir. Isso pode ser devido às respostas adaptativas ao excesso de peptídeo de soja (Zhao et al., 2016).

O interesse sobre a ação benéfica dos antioxidantes presentes em peptídeos bioativos, tanto para organismos vivos como para alimentos, tem levado à realização de inúmeras pesquisas. No presente estudo, não foram observadas diferenças estatísticas para os parâmetros antioxidantes hepáticos como catalase e glutathione S-transferase, porém os níveis de TBARS foram menores nos jundiás que receberam 1% de PBTM na dieta comparado aos animais do tratamento que receberam a inclusão de 0,5%PBTM.

Estes resultados concordam com os achados de Andriamialinirina et al. (2020) que observaram redução nos níveis de malondialdeído (MDA) em tilápias do Nilo suplementadas com 1% de hidrolisados de levedura. O MDA é uma medida de peroxidação lipídica das membranas celulares, sendo amplamente estudado como biomarcador de dano oxidativo (Ghafarifarsani et al., 2021).

Os resultados da nossa pesquisa demonstram que a suplementação na dieta com peptídeos não traz efeitos negativos e podem evitar alterações hepáticas conforme observado pelos resultados de TBARS.

Os peixes apresentam na pele e no muco uma barreira natural como mecanismos de defesa contra agentes patogênicos e infecciosos (Maita, 2007). O muco dos peixes é responsável por atuar como um protetor fisiológico em condições desfavoráveis (Goulart et al., 2018). Nossos resultados não demonstraram diferenças na concentração de mucoproteínas do muco dos peixes alimentados com as diferentes dietas. Contrariando nossos resultados, outros compostos bioativos já tem demonstrado efeitos positivos sobre os níveis de mucoproteínas de jundiás, como pode ser observado no estudo desenvolvido por Adorian et al. (2020), esses autores observaram que a adição de compostos bioativos, como a fibra da linhaça em diferentes concentrações na dieta de *Rhamdia quelen* promove aumento na produção de mucoproteína, agindo positivamente na primeira linha de defesa contra patógenos. Da mesma forma, Hoseinifar et al. (2014) observaram que o prebiótico como xilooligossacarídeos é capaz de promover aumento dos níveis de proteína do muco, assim como a atividade antibacteriana do muco de *Rutilus frisii kutum*.

6. Conclusão

A inclusão de peptídeos bioativos derivados de larvas de *T. molitor*, na dieta de juvenis de jundiá não afetou negativamente o desempenho dos peixes. A concentração de muco proteínicas e a maioria dos parâmetros hepáticos permaneceram estáveis, mas a inclusão de 1,0% de peptídeo melhorou a proteção contra a peroxidação lipídica no fígado dos peixes. Novos estudos devem ser conduzidos a fim de esclarecer níveis ideais de inclusão deste ingrediente funcional, para uso durante curtos ou longos períodos na alimentação de peixes.

7. Referências

Adorian, T. J.; Mombach, P. I.; Pianesso, D.; Loureiro, B. B.; Lovatto, N. M.; Goulart, F. R.; Telles, Y. B.; Macedo, M.; Silva, L. P. 2019. Evaluation of immune response and performance of silver catfish fed functional linseed fibres in response to hypoxia stress. *Aquaculture Research*, 50: 3060-3069. Doi: <https://doi.org/10.1111/are.14266>.

Adorian, T. J.; Mombach, P. I.; Fagundes, M. B.; Wagner, R.; Pianesso, D.; Telles, Y. B.; Dalcin, M. O.; Silva, L. P. 2020. Linseed fibers modulate the production of short-chain fatty acids and improve performance and plasma and skin mucus parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 46: 2355-2366. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00885-7>.

Andriamialinirina, H. J. T.; Irm, M.; Taj, S.; Lou, J. H.; Jin, M.; Zhou, Q. 2020. The effects of dietary yeast hydrolysate on growth, hematology, antioxidant enzyme activities and non-specific immunity of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & shellfish immunology*, 101, 168-175. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.03.037>;

A. Aksnes , B. Esperança , Ø. Høstmark , S. Albrektsen. Inclusão de hidrolisado de peixe fracionado por tamanho em dietas ricas em proteínas vegetais para bacalhau do Atlântico, *Gadus morhua*. *Aquicultura* , 261 (2006) , pp . 1102-1110

Akbarian, M.; Khani, A.; Eghbalpour, S.; Uversky, V. N. 2022. Bioactive peptides: synthesis, sources, applications, and proposed mechanisms of action. *International Journal of Molecular Sciences*, 23:1445. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms23031445>.

Bueno, G. W.; Camargo, T. R.; Sampaio, F. G.; Machado, L. P.; Roubach, R. 2021. Challenges to advance aquaculture 4.0 in Brazil. *World Aquaculture*, 52: 1-7.

Corrêia, V.; Pretto, A.; Pianesso, D.; Pedron, F. A.; Lazzari, R.; Bergamin, G. T.; Martinelli, S. G.; Rossato, S.; Ferrigolo, F. R. G.; Silva, L. P.; Radünz Neto, J. 2021. Synchronic use of protein and carbohydrate sources for improved growth performance in jundiá. *Aquaculture Research*, 52: 5777-5786. Doi: <https://doi.org/10.1111/are.15453>.

Dan Gui, Wenbin Liu*, Xianping Shao, Weina Xu. Effects of different dietary levels of cottonseed meal protein hydrolysate on growth, digestibility, body composition and serum biochemical indices in crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Animal Feed Science and Technology* 156 (2010) 112–120.

Dawood, M. A. O.; Koshio, S.; Esteban, M. A. 2018. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, 10: 950-974. Doi: <https://doi.org/10.1111/raq.12209>.

Esteban, M. A. 2012. An Overview of the Immunological Defenses in Fish Skin. ISRN, Immunology. 1-29.

Fracalossi, D. M. et al. Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região Sul do Brasil. Acta Scientiarum, Maringá, v. 26, n. 3, p. 345-352, 2004.

Francielle Miranda de Matos , Ruann Janser Soares de Castro. Insetos comestíveis como potenciais fontes de proteínas para obtenção de peptídeos bioativos. Braz. J. Food Technol., Campinas, v. 24, e2020044, 2021.

Goulart, F. R.; Adorian, T. J.; Lovatto, N. M.; Loureiro, B. B.; Pianesso, D.; Barcellos, L. G.; Koakoski, G.; Silva, L. P. 2018. Effect of supplementation of dietary fibre concentrates on biochemical parameters, stress response, immune response and skin mucus of jundiá (*Rhamdia quelen*). Aquaculture Nutrition, 24: 375-382. <https://doi.org/10.1111/anu.12568>.

Hardy Joël Timothée Andriamialinirina, Misbah Irm, Sehrish Taj, Jia Hen Lou, Min Jin, Qicun Zhou. The effects of dietary yeast hydrolysate on growth, hematology, antioxidant enzyme activities and non-specific immunity of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish and Shellfish Immunology, 2020.

Hamed Ghafarifarsani , Seyed Hossein Hoseinifar , Taida Juliana Adorian , Fernanda Rodrigues Goulart Ferrigolo , Mehdi Raissy, Hien Van Doan. The effects of combined inclusion of *Malvae sylvestris*, *Origanum vulgare*, and *Allium hirtifolium* boiss for common carp (*Cyprinus carpio*) diet: Growth performance, antioxidant defense, and immunological parameters. Fish & Shellfish Immunology, v. 119, 2021, Pages 670-677.

Hamed Ghafarifarsani , 1 Seyed Hossein Hoseinifar , 2 Atefeh Sheikhlar , 3 Mehdi Raissy , 4 Fatemeh Heidarinezhad Chaharmahali , 5 Worawit Maneepitaksanti , 6,7 Mehwish Faheem , 8 and Hien Van Doan. The Effects of Dietary Thyme Oil (*Thymus vulgaris*) Essential Oils for Common Carp (*Cyprinus carpio*): Growth Performance, Digestive Enzyme Activity, Antioxidant Defense, Tissue and Mucus Immune Parameters, and Resistance against *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture Nutrition, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/7942506>

Hoseinifar, S. H., Sharifian, M., Vesaghi, M. J., Khalili, M., & Esteban, M. A. (2014). The effects of dietary xylooligosaccharide on mucosal parameters, intestinal microbiota and morphology and growth performance of Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) fry. Fish and Shellfish Immunology, 39, 231–236.

J. Bogwald , RA Dalmo , RM Leifson , E. Stenberg , A. Gildberg. O efeito estimulador de um hidrolisado de proteína muscular do bacalhau do Atlântico, *Gadus morhua* L., no salmão do Atlântico, *Salmo salar* L., leucócitos dos rins da cabeça. Imunologia de Peixes e Mariscos , 6 (1996) , pp. 3-16.

Ju-Young Ko a , Eun-A. Kim a , Ji-Hyeok Lee a , Min-Cheol Kang a , Jung-Suck Lee b , Jin-Soo Kim c , Won-Kyo Jung d,*¹ , You-Jin Jeon a,*¹. Protective effect of aquacultured flounder fish-derived peptide against oxidative stress in zebrafish. *Fish & Shellfish Immunology* 36 (2014) 320e323. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2013.11.018>

Kotzamanis, Y.P., Gisbert, E., Gatesoupe, F.J., Zambonino Infante, J., Cahu, C., 2007. Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Comp. Biochem. Physiol., Part A* 147, 205–214.

Maita, M., Satoh, K. I., Fukuda, Y., Lee, H. K., Winton, J. R., & Okamoto, N. (1998). Correlation between plasma component levels of cultured fish and resistance to bacterial infection. *Fish Pathology*, 33, 129–133.

Mamauag, R. E. P.; Koshio, S.; Ishikawa, M.; Yokoyama, S.; Gao, J.; Nguyen, B. T.; Ragaza, J. A. 2011. Soy peptide inclusion levels influence the growth performance, proteolytic enzyme activities, blood biochemical parameters and body composition of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 321: 252-258. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.09.022>.

Matos, F. M.; Castro, R. J. S. 2021. Insetos comestíveis como potenciais fontes de proteínas para obtenção de peptídeos bioativos. *Brazilian Journal of Food Technology*, 24: e2020044. Doi: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.04420>.

Meyer, G. and D.M. Fracalossi. 2004. Protein requirement of jundia fingerlings, *Rhamdia quelen*, at two dietary energy concentrations. *Aquaculture*, 240: 331-343.

O. I. El Euony, S. S. Elblehi, H. M. Abdel-Latif, M. M. AbdelDaim, and Y. S. El-Sayed, “Modulatory role of dietary *Thymus vulgaris* essential oil and *Bacillus subtilis* against thiamethoxam-induced hepatorenal damage, oxidative stress, and immunotoxicity in African catfish (*Clarias garipenus*),” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 27, no. 18, pp. 23108–23128, 2020.

Parma, L.; Busti, S.; Ciulli, S.; Volpe, E.; Errani, F.; Oterhals, A.; Romarheim, O. H.; Aspevik, T.; Dondi, F.; Gatta, P. P.; Bonaldo, A. 2023. Growth, plasma biochemistry and immune-related gene expression of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed bioactive peptides from farmed salmon by-products. *Aquaculture*, 563:738982. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738982>.

Peixe BR, 2023. Anuário 2023 Peixe BR da Piscicultura. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario/>. Acesso em: 22/11/23.

Quah, Y.; Tong, S-R.; Bojarska, J.; Giller, K.; Tan, S-A.; Ziora, Z. M.; Esatbeyoglu, T.; Chai, T-T. 2023. Bioactive peptide discovery from edible insects for potential applications in human health and agriculture. *Molecules*, 28:1233. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules28031233>.

S. M. Hoseini and M. Yousefi, “Beneficial effects of thyme (*Thymus vulgaris*) extract on oxytetracycline- induced stress response, immunosuppression, oxidative stress and enzymatic changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*),” *Aquaculture Nutrition*, vol. 25, no. 2, pp. 298–309, 2019.

Samyah Darwish Saddig Jastaniah , 1 Hafsan Hafsan , 2 Cheng-jui Tseng , 3 Yasir Salam Karim,4 Mohammed Ubaid Hamza,5 Noora M. Hameed,6 Sura Hasan Al-Zubaidi,7 Saif Sabbar Kemil Almotlaq,8 Ghulam Yasin , 9 A. Heri Iswanto,10 Mahnaz Dadras , 11 and Mohammad Mansouri Chorehi 12. Effects of Dietary Pectin and *Lactobacillus salivarius* ATCC 11741 on Growth Performance, Immunocompetence, Gut Microbiota, Antioxidant Capacity, and Disease Resistance in Narrow-Clawed Crayfish, *Postantacus leptodactylus*. *Aquaculture nutrition*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/1861761>

Sarker, A. 2022. A review on the application of bioactive peptides as preservatives and functional ingredients in food model systems. *Journal and Food Processing and Preservation*, 46:e16800. Doi: <https://doi.org/10.1111/jfpp.16800>.

Siddik, M. A. B.; Howieson, J.; Partridge, G. J.; Fotedar, R.; Gholipourkanani, H. 2018. Dietary tuna hydrolysate modulates growth performance, immune response, intestinal morphology and resistance to *Streptococcus iniae* in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. *Nature Scientific Reports*, 8: 15942. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34182-4>.

Srivastava, A. S.Oohara, I.; Suzuki, T.Shenouda, S.; Singh, S. N.; Chauhan, D. P.; Carrier, E. 2004. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B* 137, 197-207. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2003.11.006>.

Teixeira, C. S. S.; Villa, C.; Costa, J.Ferreira, I. M. P. L. V. O.; Mafra, I. 2023. Edible insects as a novel source of bioactive peptides: a systematic review. *Foods*, 12: 2026. Doi: <https://doi.org/10.3390/foods12102026>.

YP Kotzamanis , E. Gisbert , FJ Gatesoupe , J. Zambonino Infante , C. Cahu. Efeitos de diferentes níveis dietéticos de hidrolisados de proteína de peixe no crescimento, enzimas digestivas, microbiota intestinal e resistência a *Vibrio anguillarum* em larvas de robalo europeu *Dicentrarchus labrax*. *Bioquímica Comparada e Fisiologia. Parte A, Fisiologia Molecular e Integrativa* , 147 (2007) , pp .

Y. D. Kong, M. Li, C. G. Xia et al., “The optimum thymol requirement in diets of *Channa argus*: effects on growth, antioxidant capability, immune response and disease resistance,” *Aquaculture Nutrition*, vol. 27, no. 3, pp. 712–722, 2021.

Zhen-xin Zhao.; Chang-you Song.; Jun Xie.; Xian-ping Ge.; Bo Liu.; Si-lei Xia.; Shun Yang.; Qing Wang.; Sai-hua Zhu. 2016. Japanese Society of Fisheries Science. 82:665-673. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12562-016-0996-6>.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, os esforços recentes para obtenção de peptídeos bioativos visam explorar suas propriedades nutricionais e funcionais, incluindo efeitos antioxidantes, antimicrobianos e imunostimulantes. Este estudo específico investigou os efeitos de peptídeos obtidos de larvas de *Tenebrio molitor* na dieta de jundiás. Os resultados indicaram que a inclusão desses peptídeos não promoveu alterações significativas nos parâmetros de crescimento, exceto pelo índice de eficiência alimentar.

A literatura revisada revelou resultados mistos em relação aos efeitos dos peptídeos bioativos em dietas para peixes, dependendo dos níveis na dieta e da espécie estudada. Além disso, a resposta ao estresse e a adaptação metabólica podem desempenhar um papel significativo nos benefícios observados, como demonstrado por estudos adicionais.

Em resumo, embora este estudo tenha contribuído para o entendimento dos efeitos dos peptídeos bioativos de *T. molitor* na dieta de jundiás, ainda são necessárias pesquisas adicionais para esclarecer completamente os mecanismos de ação, a influência nos diferentes parâmetros e a aplicabilidade prática desses peptídeos em condições de cultivo de peixes.

Esses resultados destacam a complexidade das interações entre peptídeos bioativos, dieta e respostas fisiológicas em peixes, ressaltando a importância contínua da pesquisa nessa área para otimizar o uso desses compostos na aquicultura.

REFERÊNCIAS

AWAD, E.; AWAAD, A. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. **Fish & Shellfish Immunology**, 67 (2017) 40e54.

BARROSO, F. G.; DE HARO, C.; SÁNCHEZ-MUROS, M. J.; VENEGAS, E.; MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, A.; PÉREZ-BAÑÓN, C. The potential of various insect species for use as food for fish. **Aquaculture**, 422–423, p.193–201, 2014.

BRASIL., Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004. Aprova o regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal, segundo as boas práticas de fabricação, contendo os procedimentos sobre avaliação da segurança de uso, registro e comercialização. Disponível em https://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/outras_normas/intrucao_normativa_013.htm. Acesso em 02 de dez. 2023.

BORGES, A. **Valores hematológicos e bioquímicos séricos, efeitos de doses subletais da cipermetrina e características físico-químicas do sêmem do Jundiá *Rhamdia quelen***. Porto Alegre, 2005. 175 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

CASTRO, R. J. S., & SATO, H. H. (2015). Biologically active peptides: Processes for their generation, purification and identification and applications as natural additives in the food and pharmaceutical industries. **Food Research International**, 74, 185-198. PMID:28411983. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.013>

COSTA, J. R. **Proteína da farinha do inseto *Tenebrio molitor* em substituição a proteína da farinha de peixe em dietas para Acará Bandeira (*Pterophyllum scalare*)**. Dissertação (Pós-graduação em Aquicultura). Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, p. 30. 2022.

CULJAK, V.; BOGUT, G.; HAS-SHON, E.; MILAKOVIC, Z; CANEKI, K. Effect of BioMOS on performance and health of juvenile carp. In: ALLTECCH'S ANNUAL SYMPOSIUM Lexington. **Nutrition and biotechnology in the feed and food industries** 2006. p. 153-161.

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

EBLING, M. **Digestibilidade aparente de farinha de *Tenebrio molitor* e concentrado proteico de sementes de porongo para jundiás (*Rhamdia quelen*)**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia., 2022, 86 p.

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. **Animal Feed Science and Technology**, v. 220, 2016, p. 34-45.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B.; Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, p. 401 - 412, 1995.

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

GRAU, T.; VILCINSKAS, A.; JOOP G. Sustainable farming of the mealworm *Tenebrio molitor* for the production of food and feed. **Z. Naturforsch.** 72(9–10)c: 337–349, 2017.

H. Ghafarifarsani, R. Kachuei, and A. Imani, “Dietary supplementation of garden thyme essential oil ameliorated the deteriorative effects of aflatoxin B1 on growth performance and intestinal inflammatory status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*),” **Aquaculture**, vol. 531, article 735928, 2021.

HOSEINIFAR, S.H., KHALILI, M., RUFCHAEI, R., RAEISI, M., ATTAR, M., CORDERO, H., ESTEBAN, M.A. Effects of date palm fruit extracts on skin mucosal immunity, immune related genes expression and growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. **Fish and Shellfish Immunology**, v.47, p.706-711, 2015.

LLAGOSTERA, P. F.; KALLAS, Z.; REIG, L.; GEA, D. A. The use of insect meal as a sustainable feeding alternative in aquaculture: Current situation, Spanish consumers’ perceptions and willingness to pay. **Journal of Cleaner Production**, v.229, p.10-21, 2019.

LI-CHAN, E. C. Y. (2015) Bioactive peptides and protein hydrolysates. Research trends na challenges fos aplication as nutraceuticals and functional food ingredientes. **Current Opinion in Food Science**, 1, 28-37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2014.09.005>.

MATOS, F. M., & CASTRO, R. J. S. (2021). Edible insects as potential sources of proteins for obtaining bioactive peptides. **Brazilian Journal of Food Technology**, 24, e2020044. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.04420>

MATOS, F. M.; Insetos comestíveis como potenciais fontes de proteínas para obtenção de peptídeos bioativos. **Brazilian Journal of Food Technology**. 24, 2021.

MOHAMMADI, G.; RAFIEE, G.; BASUINI, M.F.E.; ABDEL-LATIF, H.M.R.; DAWOOD, M.A.O. The growth performance, antioxidant capacity, immunological responses, and the resistance against *Aeromonas hydrophila* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed Pistacia vera hulls derived polysaccharide. **Fish and Shellfish Immunology** 106, p.36–43, 2020.

NOWAK, V., PERSIJN, D., RITTENCCHOBER, D., & CHARRONDIERE, U. R. (2016). Review of food composition data for edible insects. **Food Chemistry**, 193, 39-46. PMID:26433285. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.114>

PAMPLONA, J. H. **Avaliação dos efeitos tóxicos da dipirona sódica em peixe *Rhamdia quelen***: estudo bioquímico, hematológico e histopatológico. Curitiba, 2009. 70 f. Dissertação

(Mestrado em Farmacologia) - Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

PEIXE BR - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA - ANUÁRIO Peixe BR da Piscicultura, 2023. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario2023/>>. Acesso em 27 ago. 2023.

RAMOS-ELORDUY, J.; GONZÁLEZ, E.A.; HERNÁNDEZ, A.R.; PINO, J.M. Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n.1, 214-220, 2002.

RIOS, C. **Perfil de enzimas digestivas em juvenis do camarão-branco-do-pacífico *Litopenaeus vannamei* alimentados com dietas contendo diferentes níveis de substituição de farinha de peixe por farinha das larvas do inseto *Tenebrio molitor*.** Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Florianópolis, 2017, 60p.

RUMBOS, C.I.; KARAPANAGIOTIDIS, I.T.; MENTE, E.; PSOFAKIS, P.; ATHANASSIOU, C. Avaliação de vários produtos para o desenvolvimento da larva-da-farinha-amarela, *Tenebrio molitor*. **Scientific Reports** 10, 11224, 2020.

RUMPOLD, B. A., & SCHLUTER, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. **Molecular Nutrition & Food Research**, 57(5), 802-823. PMID:23471778. <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201200735>

SÁNCHEZ-MUROS, M., 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(5), 943-955, 2015.

SUN-WATERHOUSE, D., WATERHOUSE, G. I. N., YOU, L., ZHANG, J., LIU, Y., MA, L., GAO, J., & DONG, Y. (2016). Transforming insect biomass into consumer wellness foods: A review. **Food Research International**, 89(Pt 1), 129-151. PMID:28460898. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.001>

VAN HUIS, A. Insects as food and feed, a new emerging agricultural sector: a review. **Journal of Insects as Food and Feed**, v.6, p.27-44, 2020.

ANEXO

Normas de submissão para Caderno de Ciências Agrárias

Instruções para autores

As Normas, procedimentos gerais e especificações especiais sobre o **Caderno de Ciências Agrárias** são apresentados nesta seção.

TIPOS DE PUBLICAÇÕES

Os manuscritos submetidos ao **Caderno de Ciências Agrárias** devem ser originais, ainda não relatados ou submetidos em outros periódicos ou veículos de divulgação. O Periódico publica ARTIGOS ORIGINAIS, COMUNICAÇÕES TÉCNICAS e REVISÕES DE LITERATURA em Português ou Inglês. **Os manuscritos em língua inglesa terão prioridade na publicação.**

ARTIGOS ORIGINAIS: são manuscritos originados de pesquisas e estudos cujos resultados são baseados em dados concretos obtidos experimentalmente, ou coletados na literatura, ou de outras fontes confiáveis. Devem ser basicamente estruturados da seguinte forma: Introdução, Material e métodos, Resultados e discussão, Conclusão e Referências. **COMUNICAÇÕES TÉCNICAS:** são manuscritos que descrevem eventos inovadores e muito importantes na área das Ciências Agrárias. Devem ser escritos com foco nos resultados diretos e ou nas propostas originais. Espera-se que as Comunicações apresentem importantes contribuições para a comunidade científica.

REVISÃO DE LITERATURA: são manuscritos que tragam contribuições científicas sobre temas importantes na área de Ciências Agrárias, definidos pelo comitê editorial. Somente serão publicadas a convite dos Editores.

INFORMAÇÕES SOBRE O PREPARO DOS MANUSCRITOS

DIGITAÇÃO

Deve-se usar a última versão do Word. Fonte Time New Roman. Tamanho 12. Espaçamento 1,5. Justificado. Papel A4. Todas as margens 2 cm. Recuo parágrafo 1 cm. Páginas numeradas

na parte inferior direita. Todas as linhas numeradas sequencialmente na versão para avaliação. Os artigos originais devem ser apresentados em no máximo 15 páginas e as Comunicações Científicas em no máximo oito páginas. Máximo de 2,0 MB.

AUTORIA

Na versão para avaliação deve-se retirar os nomes dos autores do texto. Após aprovação os autores serão incluídos. No entanto, somente os autores registrados no momento do envio do artigo pela plataforma OJS poderão ser incluídos na versão para publicação. Todos os autores devem incluir o ORCID (informações para criar o orcid estão disponíveis em: <https://orcid.org/signin> . O número máximo é de DEZ **autores**. Deve-se anexar a Declaração de autoria e de ausência de conflito de interesse assinadas por cada autor. Este é requisito obrigatório para a submissão dos manuscritos.

Todos os autores deverão ser incluídos no metadados de envio dos artigos, preenchendo os dados solicitados e inclusive autorizar o acesso ao ORCID.

Informações sobre o que se considera como autoria poderão ser obtidas em:

https://www.abecbrasil.org.br/arquivos/whitepaper_CSE.pdf

<https://publicationethics.org/>

<https://www.councilscienceeditors.org/resource-library/editorial-policies/white-paper-o-publication-ethics/>

ESTRUTURA DO TEXTO

Título e subtítulo (se houver)

Em negrito. Centralizado. Nome científico só para espécies desconhecidas.

Resumo

A palavra **Resumo** alinhada à esquerda e em negrito. Texto justificado. Mínimo de 140 e máximo de 250 palavras. Não contém citações. Deve apresentar objetivo, metodologia, resultados/discussão e conclusão.

Palavras-chave

Justificadas. Máximo de três a cinco palavras. Separadas por ponto. Evitar palavras do título. Para textos redigidos em português ou espanhol, a versão final deverá apresentar Key words. Para textos redigidos em Inglês, a versão final deverá apresentar Palavras-chave.

Os itens Título, Resumo e Palavras chaves deverão ser apresentados em português e inglês, na mesma sequência.

Introdução

A palavra **Introdução** é alinhada à esquerda e em negrito. Deve-se fazer exposição breve do tema, do problema da pesquisa e relacionando à literatura consultada. Pode conter citações. Objetivos no último parágrafo da introdução.

Material e métodos

As palavras **Material e métodos** são alinhadas à esquerda e em negrito. Itens e subitens alinhados à esquerda. Negrito. Descrever o material e métodos desenvolvidos. Indicação breve das temáticas e processos. Deve conter citações. Apresentar Análises estatísticas. Números e códigos de processos e comitês de aprovação com humanos ou animais.

Resultados e discussão

As palavras **Resultados e discussão** são alinhadas à esquerda e em negrito. Apresentar os resultados em Tabelas e Figuras. A discussão dos resultados deve ser embasada na literatura científica.

Conclusão

A palavra Conclusão é alinhada à esquerda e em negrito. Usar o presente do indicativo. Apresentar a resposta ao problema proposto na Introdução. Destacar as conclusões fundamentadas e sustentadas pela Discussão.

Agradecimentos (Opcional)

A palavra Agradecimentos é alinhada à esquerda e em negrito. Agradecer às pessoas e ou entidades relacionadas ao trabalho com a forma de contribuição.

Financiamento (Opcional)

A palavra Agradecimentos é alinhada à esquerda e em negrito. Deve-se citar as agências de financiamento que participaram da pesquisa.

Aprovação do Comitê de Ética

As palavras Aprovação do Comitê de Ética são alinhadas à esquerda e em negrito. Alinhado à esquerda. Negrito. Citar a aprovação da pesquisa pelos Comitês de Ética da Instituição, com humanos ou animais.

Ilustrações e Equações

Nomear ilustrações apenas por Tabelas e/ou Figuras.

Modelos de ilustrações e equações estão disponíveis para auxiliar na elaboração de manuscritos.

- Figuras

São inseridas no texto, próximas ao trecho mencionado. São apresentadas centralizadas na página.

Título centralizado na parte superior com numeração sequencial. Abaixo da ilustração: Legenda, Notas e outras informações pertinentes.

São Figuras:

Gráficos, Fórmulas, Lâminas, Quadros, Figuras, Desenhos, Gravuras, Mapas, Fotografias, etc.

Gráficos gerados em MS Excel. Fotografias em arquivos separados. Figuras em formatos GIF ou JPEG com resolução mínima de 300 dpi.

- Tabelas

São inseridas no texto, próximas ao trecho mencionado. São apresentadas centralizadas na página.

Geradas em "Tabela" do Word. Citadas no texto. Título centralizado na parte superior com numeração sequencial.

Abaixo da Tabela: Legenda, Notas e outras informações pertinentes. Proibido colar Figuras como sendo Tabelas.

- Equações

São elaboradas em editor de equações (*Equation*) do Word, alinhadas à esquerda no texto e numeradas e precedidas da sigla "Eq." entre parênteses.

(Eq. 13)

Padrão de tamanho:

Inteiro = 12 pt

Subscrito/sobrescrito = 8 pt

Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt

Subsímolo = 14 pt

Recursos linguísticos

Usar unidades de valores de acordo com o sistema internacional de unidades.

Siglas e abreviaturas

Definir o significado na primeira vez que citar, após sigla ou abreviatura entre parênteses.

Citações

Usar o método autor-data. Sobrenome do autor e o ano de publicação. Texto é documentado ao citar o autor e a data. Citar documento original. Não usar “citado por” ou “*Apud*”. Citar só obras consultadas. Pode usar o “et al.” Somente nas citações.

Referências

A palavra Referências é alinhada à esquerda e em negrito.

Padrão autor-data. Referências só de material citado. Referenciar todos os autores.

Apresentar Lista completa em ordem alfabética. Recomendado o uso do DOI ou endereços eletrônicos obtidos as referências. Resumir links usando aplicativos próprios. Os autores são responsáveis pela exatidão das suas referências. Referências atualizadas, preferencialmente nos últimos cinco anos. Abreviar só o nome dos autores. Títulos de periódicos por extenso. Não usar caixa alta (letras maiúsculas). Separar autores por ponto-e-vírgula. Não usar (&) nas citações e nem na lista de referências. Não usar grifo ou negrito para destacar qualquer parte da Referência. Usar vírgula para separar o título e o volume do periódico. Separar números de volume do periódico das páginas por dois pontos. Usar os números completos das páginas. Separar os números de página por um traço (-) página inicial e página final. Indicar a edição a partir da primeira edição.

ANÁLISE DOS MANUSCRITOS

A Equipe Editorial analisa os trabalhos antes de submetê-los ao Comitê Científico. Nessa análise, são considerados aspectos como escopo, apresentação do manuscrito de acordo com as Normas e atendimento aos itens obrigatórios para envio, incluindo o texto com artigo, declarações de autores.

No envio, os autores deverão sugerir no mínimo três avaliadores, informando nome, e-mail, Link para lattes ou Lattes ID e ORCI, conforme modelo.

Os trabalhos rejeitados nessa etapa serão devolvidos aos autores e os demais serão submetidos à avaliação de revisores especialistas da área técnica do manuscrito.

A avaliação é realizada pelo modelo de dupla revisão às cegas (Double blind review). Nessa etapa são adotados critérios , quanto à qualidade do trabalho, relevância, formulação de objetivos de forma exata, clareza da redação, fundamentação teórica, atualização e abrangência da literatura citada, coerência e precisão metodológica, resultados com contribuição científica significativa, discussão dos fatos observados em relação aos descritos na literatura, qualidade das tabelas e figuras, originalidade e consistência da conclusão.

Cada avaliador fará recomendações para o artigo e ainda poderá incluir indicações diretas no texto do artigo avaliado.

Em caso de discordância entre as indicações feitas pelos avaliadores, um terceiro avaliador “ad hoc” será incluído na avaliação.

Os autores receberão o parecer com datas específicas para atender às correções solicitadas, ou com recusa do artigo.

Após conclusão da avaliação e aprovação final, os autores receberão uma cópia da prova para avaliação antes da publicação, que será disponibilizada em fluxo contínuo, em ordem de aprovação final.

TAXA DE PUBLICAÇÃO

Após a aprovação do trabalho, o autor deverá realizar o pagamento da taxa de publicação do trabalho, no valor de R\$30,00 (trinta reais) por página diagramada. As informações para pagamento serão enviadas na ocasião da aprovação da Cópia de Prova do artigo.

ACOMPANHAMENTO DA TRAMITAÇÃO DO MANUSCRITO

Qualquer mudança de status do manuscrito submetido e qualquer tipo de decisão serão comunicadas aos autores via e-mail cadastrado no sistema. Porém, cabe ao autor correspondente acompanhar todo o fluxo editorial do manuscrito submetido na plataforma OJS/SEER, uma vez que ele possui senha para acesso.

PLÁGIO

O plágio é crime previsto no Código Penal Brasileiro e na Lei 9610/98. O artigo submetido ao Caderno de Ciências Agrárias adota Antiplagiarism.net para detecção de plágio.