

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

EVANDER MATOS PENCHEL

Efeito de peptídeos bioativos, obtidos a partir de *Tenebrio molitor*, sobre crescimento, índices somáticos, composição corporal, parâmetros bioquímicos e atividade de enzimas digestivas de jundiás (*Rhamdia quelen*)

Uruguiana

2023

EVANDER MATOS PENCHEL

Efeito de peptídeos bioativos, obtidos a partir de *Tenebrio molitor*, sobre crescimento, índices somáticos, composição corporal, parâmetros bioquímicos e atividade de enzimas digestivas de jundiás (*Rhamdia quelen*)

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 Técnico em Aquicultura.

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

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

Uruguaiiana

2023

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

P397e	Penchel, Evander Matos
Efeito de peptídeos bioativos, obtidos a partir de <i>Tenebrio molitor</i> , sobre crescimento, índices somáticos, composição corporal, parâmetros bioquímicos e atividade de enzimas digestivas de jundiás (<i>Rhamdia quelen</i>) / Evander Matos Penchel.	
50p.	
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)-- Universidade Federal do Pampa, AQUICULTURA, 2023.	
"Orientadora: Fernanda Rodrigues Goulart Ferrigolo".	
1. Nutrição animal. 2. aquicultura. 3. peptídeo bioativo. I. Título.	

EVANDER MATOS PENCHEL

Efeito de peptídeos bioativos, obtidos a partir de *Tenebrio molitor*, sobre crescimento, índices somáticos, composição corporal, parâmetros bioquímicos e atividade de enzimas digestivas de jundiás (*Rhamdia quelen*)

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.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: dia, mês e ano.

Banca examinadora:

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

Orientador

UNIPAMPA

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

Prof.^a Dr.^a Taida Juliana Adorian
UFFS

Dedico esse trabalho a minha família e a todos que se envolveram neste trabalho. O oceano nos deu a vida, está na hora de retornarmos o favor.

Sylvia Earle, oceanógrafa

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais Jordeane Muniz de Matos e Evandro Costa Penchel, e a minha irmã Camila Matos Penchel pelo sustento, amor e compreensão que me fizeram chegar a este momento.

Ao meu companheiro, Fernando Dias Gomes, que os nossos dias futuros sejam ainda mais bonitos do que o nosso presente, obrigado por me incentivar a continuar e ser meu ponto de calma.

Ao meu amigo, Luis Henrique Barbano Silva que sempre me ajudou e acreditou em mim mesmo quando eu não acreditava.

À minha orientadora Prof.^a Dra. Fernanda Rodrigues Goulart Ferrigolo, agradeço profundamente pela oportunidade de trabalhar com a Sra. Agradeço a todos os conselhos que me ajudaram tanto na vida profissional.

À minha coorientadora Dra. Alexandra Pretto, por todos os ensinamentos, sua amizade, auxílio nas análises e conselhos que me ajudaram em momentos difíceis deste processo.

Aos meus colegas de classe que se dispuseram a me ajudar quando eu estava com dúvidas ou precisava de ajuda.

Aos meus colegas Luiz Felipe Silva Oliveira e Sergio Domingos Serra pela contribuição com o trabalho e auxílio nas análises, agradeço também a amizade de vocês.

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

Em suma, agradeço a todos aqueles que me ajudaram nessa jornada de forma direta ou indireta.

Os meus mais sinceros agradecimentos.

RESUMO

A aquicultura, que tem como objetivo o cultivo de organismos aquáticos e semiaquáticos, destaca-se pela produção de proteína de boa qualidade em sistemas que possibilitam um cultivo mais sustentável, trazendo segurança alimentar. Entretanto, a intensificação da produção, aliada a falta de boas práticas de manejo podem gerar estresse aos animais e com isso facilitar a entrada de doenças e parasitas. A adoção do uso de aditivos naturais em dietas para peixes ganha cada vez mais destaque no cenário aquícola por promoverem melhorias na saúde de peixes cultivados, reforçando assim sua resistência a patógenos. Entre estes novos aditivos é possível mencionar os peptídeos bioativos, que são ligações peptídicas que promovem funções de melhoria no desempenho animal e podem ser obtidos por meio de diferentes fontes. O objetivo deste trabalho foi incluir peptídeos bioativos obtidos por meio de larvas do inseto *Tenebrio molitor* (PBTM), em níveis crescentes de 0%PBTM, 0,5%PBTM e 1%PBTM em dietas para juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). A obtenção dos peptídeos bioativos foi realizada por meio de hidrólise enzimática e incluída em dietas experimentais isoproteicas e isoenergéticas. 336 juvenis de jundiá foram mantidos (peso médio inicial de $3,83 \pm 0,69$ g) em 12 unidades experimentais em sistema de recirculação de água (RAS) em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e quatro repetições. Os peixes foram alimentados com as dietas experimentais até a saciedade aparente durante 40 dias. Ao final do ensaio, foi realizada biometria, colheita de sangue e de tecidos corporais. Não foram observadas diferenças no peso final, comprimento total, ganho de peso, fator de condição, índices somáticos, hepato somático e quociente intestinal, entre os tratamentos. Quanto à composição corporal, houve diferença nos valores de água e matéria mineral, maiores concentrações nos peixes alimentados com 0,5%PBTM e 1,0%PBTM, respectivamente. A atividade das enzimas tripsina e quimotripsina intestinal não foram afetadas, bem como os parâmetros plasmáticos (glicose, colesterol, triglicerídeos, proteína, albumina). Conclui-se que a inclusão de peptídeos bioativos obtidos a partir de *Tenebrio molitor* não afetou negativamente os resultados, porém mais estudos precisam ser realizados para elucidar um nível ideal de inclusão de peptídeos.

Palavra-chave: Nutrição animal, aquicultura, peptídeo bioativo.

ABSTRACT

Aquaculture, which aims to cultivate aquatic and semiaquatic organisms, stands out for the production of good quality protein in systems that enable a more sustainable cultivation, bringing food security. However, the intensification of production, combined with the lack of good management practices can generate stress to animals and thus facilitate the entry of diseases and parasites. The adoption of natural additives in fish diets is increasingly highlighted in the aquaculture scenario for promoting improvements in the health of farmed fish, thus reinforcing their resistance to pathogens. Among these new additives it is possible to mention the bioactive peptides, which are peptide bonds that promote improvement functions in animal performance and can be obtained from different sources. The objective of this work was to include bioactive peptides obtained by larvae of the insect *Tenebrio Molitor* (PBTM), at increasing levels of 0%PBTM, 0.5%PBTM and 1%PBTM in diets for juveniles of jundiá (*Rhamdia quelen*). The bioactive peptides were obtained by enzymatic hydrolysis and included in isoproteic and isoenergetic experimental diets. 336 juniper juveniles were maintained (initial average weight of 3.83 ± 0.69g) in 12 experimental units in water recirculation system (RAS) in a completely randomized design with three treatments and four replications. The fish were fed the experimental diets until apparent satiety for 40 days. At the end of the test, biometrics, blood and body tissue collection were performed. There were no differences in final weight, total length, weight gain, condition factor, somatic index, somatic hepato and intestinal quotient between treatments. Regarding body composition, there was a difference in water and mineral matter values, higher concentrations in fish fed 0.5% PBTM and 1.0% PBTM, respectively. The activity of the enzymes trypsin and intestinal chymotrypsin were not affected, as well as the plasma parameters (glucose, cholesterol, triglycerides, protein, albumin). It is concluded that the inclusion of bioactive peptides obtained from *Tenebrio Molitor* did not negatively affect the results, but more studies need to be performed to elucidate an ideal level of peptide inclusion.

Keywords: Animal nutrition, aquaculture, bioactive peptide.

LISTA DE FIGURAS

Contextualização

- FIGURA 1. Ciclo de vida *Tenebrio molitor*..... 17
- FIGURA 2. Alevino de jundiá (*Rhamdia quelen*) 20

Artigo

- FIGURA 1. Atividade de enzimas digestivas e níveis de proteína intestinal de jundiás (*R. quelen*) suplementados com níveis crescentes de peptídeos bioativos..... 31

APÊNDICES

- FIGURA 1. Busca dos alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*)..... 44
- FIGURA 2. Sistemas de Recirculação de água do Pavilhão 1 Aquicultura..... 44
- FIGURA 3. Preparo das dietas experimentais..... 45
- FIGURA 4. Processamento das dietas experimentais..... 45
- FIGURA 5. Dietas Experimentais..... 46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formulação e composição proximal das dietas experimentais (g/Kg)	24
Tabela 2. Parâmetros de desempenho e índices somáticos de jundiás (<i>R. quelen</i>) suplementados com níveis crescentes de peptídeos bioativos.....	28
Tabela 3. Composição Corporal e Deposição de nutrientes de jundiás (<i>R. quelen</i>) suplementados com níveis crescentes de peptídeos bioativos.....	29
Tabela 4. Parâmetros bioquímicos plasmáticos de jundiás (<i>R. quelen</i>) suplementados com níveis crescentes de peptídeos bioativos.	29

SUMÁRIO

1. Contextualização	14
1.2 <i>Tenebrio molitor</i>	15
1.3 Peptídeos bioativos.....	16
1.4 Aditivos Naturais.....	17
1.5 Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>).....	18
2. Objetivos	19
2.1 Objetivo Geral.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
3. Artigo	21
1. Introdução.....	22
2. Material e métodos.....	23
2.1 Produção de Tenebrio.....	23
2.3 Dietas experimentais.....	24
2.4 Ensaio experimental.....	26
2.5 Coleta de dados e parâmetros avaliados.....	26
2.6 Composição corporal e deposição de nutrientes.....	27
2.7 Análises em plasma.....	28
2.8 Análise de enzimas digestivas.....	28
2.9 Análise estatística.....	28
3. Resultados.....	29
3.2 Composição Corporal e Deposição de nutrientes.....	29
3.3 Parâmetros bioquímicos plasmáticos.....	31
3.4 Atividade de enzimas digestivas.....	32
4. Discussão.....	33

Conclusão	35
Referências	36
Considerações Finais	40
Referências	41
APÊNDICES	46
ANEXO	49

1. Contextualização

Os objetivos de desenvolvimento sustentável da ONU (Organização das Nações Unidas) contemplam erradicar a fome e insegurança alimentar até 2030 (CAVALLI *et al.*, 2021), porém devido à covid-19 e o aumento de atividades exploratórias essa meta se vê cada vez mais longe do seu objetivo. Nesse sentido, os profissionais das ciências agrárias são pressionados a atender uma necessidade, reformulando seus sistemas para garantir melhor segurança alimentar e qualidade nutricional dos produtos destinados ao consumo humano.

Os sistemas que contemplam a produção de organismos aquáticos se apresentam como uma chave para a segurança alimentar e nutricional, fornecendo proteína de ótima qualidade, rica em ácidos graxos essenciais e em diversos outros micronutrientes essenciais (FAO, 2022). No Brasil, a atividade está em crescimento em um ritmo que atinge em torno de 5% ao ano. Nesse sentido, de acordo com a FAO, o Brasil está entre os 15 maiores produtores mundiais de organismos aquáticos (FAO,2022; PeixeBr, 2023).

Para acompanhar este crescimento, a atividade adensa e intensifica os seus sistemas de produção, o que pode causar estresse aos animais (AWAD *et al.*, 2017). Isto pode acarretar supressão imunológica dos peixes, possibilitando o surgimento de doenças e, conseqüentemente, facilitando a entrada de parasitas (ISHIKAWA *et al.*, 2020) interferindo assim na qualidade do produto destinado ao mercado consumidor.

Essas questões têm gerado uma variedade de estratégias que visam garantir o aumento da produção e a saúde dos animais (CORNÉLIO, 2023). Na aquicultura, os antibióticos têm sido utilizados para o controle sanitário, porém seu uso inadequado, assim como seu emprego como tratamento profilático, pode gerar desequilíbrio no ambiente aquático, levando a longo prazo uma maior resistência das bactérias, toxicidade e ainda, a possibilidade de acúmulo de resíduos no tecido de peixes e sedimentos do ambiente (CARVALHO *et al.*, 2016).

Desta maneira, medidas que visam o investimento na formulação de dietas funcionais estão sendo desenvolvidas com o objetivo de promover melhor performance animal, evitando a propagação de doenças e melhorando a imunidade dos peixes para a obtenção de um ciclo produtivo sem prejuízos econômicos e conseqüentemente obter também, um produto de melhor qualidade.

1.2 *Tenebrio molitor*

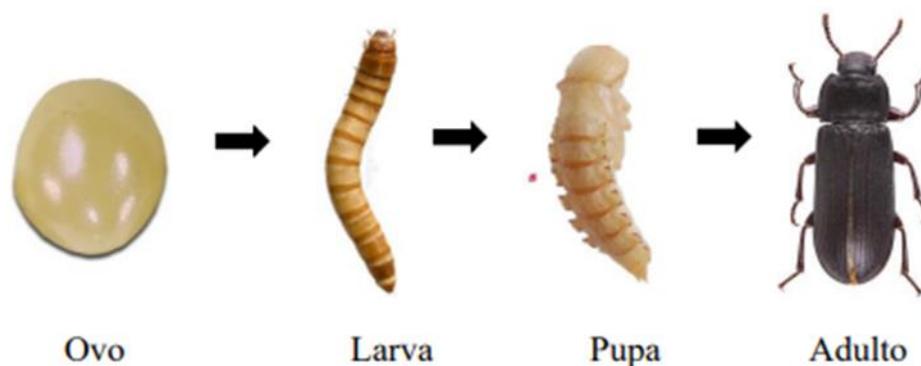
A utilização de insetos para formular dietas para peixes tem ganhado destaque nos últimos anos devido ao alto teor de proteína bruta (20 a 70%) (CASTRO, 2021). Em grande parte dos estudos envolvendo o uso de insetos na nutrição de peixes, seu uso está voltado apenas para a substituição de fontes proteicas mais onerosas ao produtor (VASCONCELOS, 2021), porém trabalhos recentes demonstram um interesse crescente nestes animais para extração de compostos bioativos, por exemplo testando a capacidade antioxidante de peptídeos de insetos produzidos comercialmente na Europa (ZIÉLISNKI *et al.*, 2016) ou testando a capacidade anti-inflamatória, como no do estudo com grilos (*Gryllodes sigillatus*) realizado por HALL *et al.*, (2020)

Diferentes insetos têm sido estudados nesse sentido, entre eles destaca-se o *Tenebrio molitor* que já é utilizado na substituição de farinha de peixe, demonstrando potencial de substituição de até 75% para algumas espécies de peixes (NG *et al.*, 2001; Sousa, 2021).

O *T. molitor*, conhecido popularmente como bicho-da-farinha ou apenas como tenebrio, pertence à ordem Coleoptera e à família Tenebrionidae, e desenvolve-se preferencialmente nas regiões temperadas do hemisfério norte. A espécie infesta grãos armazenados e têm distribuição cosmopolita, sendo suas larvas bastante utilizadas como referência em laboratório para testes com outros agentes biológicos (MORUZZO *et al.*, 2020).

O ciclo de vida do *T. molitor* pode chegar a até 6 meses, variando conforme as influências de fatores externos (CASTRO, 2021). A espécie é holometábola, passa por quatro fases da vida: ovo, larva, pupa e adulto (Figura 1). As larvas eclodem após 12 dias em temperatura de 18 a 20°C. A fase de larva é a mais demorada do animal, indo de 3 a 4 meses, geralmente é nessa fase que os produtos à base de *T. molitor* são desenvolvidos e processados. A fase da pupa dura cerca de 9 dias em temperatura de 25°C, e em temperaturas menores essa fase chega a 20 dias. Após atingir a fase adulta a expectativa de vida do inseto é de três meses (VILELLA, 2018).

Figura 1: Ciclo de vida *Tenebrio molitor*



Fonte: Castro, 2021

Na fase larval, em que é comumente utilizada para a fabricação de produtos, o *T. molitor* apresenta valores de até 58% de proteína bruta, 34,54% de lípidos e 4,20% de matéria mineral (HONG *et al.*, 2020). Para o processamento das larvas, as mesmas devem passar por secagem e moagem. A partir disso é possível obter a farinha que serve como matéria prima base para a obtenção de diversos outros produtos (HONG *et al.*, 2020).

A larva do *T. molitor* possui aminoácidos essenciais (Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Treonina, Triptofano e Valina) e não essenciais como Alanina e Arginina, ácidos poliinsaturados essenciais (ômega-3 e ômega-6), minerais essenciais (destaque para o zinco) e vitaminas (HONG *et al.*, 2020). Dessa forma, este invertebrado apresenta grande potencial para utilização na indústria de alimentos, seja para produção de produtos alimentícios como também para obtenção de peptídeos que podem servir como suplemento alimentar.

1.3 Peptídeos bioativos

Sabendo-se que animais aquáticos cultivados em sistemas de grande adensamento vivem sob estresse diário, é de grande importância fornecer uma dieta de qualidade de maneira a mitigar os danos bioquímicos, de exemplo a produção de radicais livres que catalisam o processo de oxidação ou mudança hematológicas, causados pelo estresse (CIJI & AKHTAR, 2021). Estudos demonstram que níveis elevados de proteína na dieta podem aliviar diversos efeitos adversos causados pelo estresse devido a necessidade de aminoácidos específicos (CIJI & AKHTAR, 2021).

Conforme à complexidade e o peso molecular, os peixes não digerem toda a proteína contida na dieta, dessa forma a extração de peptídeos bioativos por hidrólise enzimática permite a quebra da proteína em ligações específicas de aminoácidos que permitem ao animal

melhor aproveitamento dos aminoácidos livres (SARKER, 2022). Uma vez ingerido, esses peptídeos podem ser absorvidos pelo intestino tendo ação direta no trato gastrointestinal ou agindo em receptores que sinalizam o recebimento desses peptídeos causando uma resposta fisiológica ao animal (RUTHERFURD-MARKWICK, 2011). Os efeitos fisiológicos que os peptídeos desempenham são diversificados e vão desde ações antimicrobianas, antioxidantes, redutores de estresse, imunomoduladora e outras funções que precisam ser mais bem exploradas (SARKER, 2022; MATOS & CASTRO, 2021).

A obtenção de peptídeos realizada por meio de hidrólise enzimática permite a obtenção de peptídeos mais previsíveis àquele desejado, dessa maneira diferentes enzimas são utilizadas de acordo com a finalidade do uso do peptídeo. A enzima Alcalase, por exemplo, produz peptídeo com menor tamanho e com propriedades antioxidantes (RUTHERFURD-MARKWICK, 2012). Após o processo de hidrólise, o hidrolisado obtido pode ser inserido como aditivo em dietas para peixes.

Estes peptídeos estão naturalmente inseridos em alimentos ou fazem parte de uma proteína inativa em sua estrutura primária, porém atingindo ativação decorrente do processo de hidrólise no trato gastrointestinal ou no processo de fermentação (JAKUBCZYK *et al.*, 2020). Com isso as fontes de obtenção de peptídeos são múltiplas, partindo de tecidos de plantas, vegetais, legumes, grãos, tecidos musculares, insetos, gelatinas e outros produtos diários (RUTHERFURD-MARKWICK, 2012).

Os insetos, principalmente das ordens Díptera, Himenóptera, Lepidoptera, Coleoptera, Odonata e Hemiptera são considerados as maiores fontes de peptídeos com capacidade antimicrobiana, contendo um amplo espectro de atividade contra bactérias, fungos, alguns parasitos e vírus (YI *et al.*, 2014). Alguns peptídeos antimicrobianos obtidos de insetos possuem capacidade antiviral e capacidade antimicrobiana a bactérias gram-negativas resistentes a antibióticos, com isso o uso destes peptídeos também está sendo investigado para a saúde humana (TONK & VILCINSKAS, 2017). Peptídeos bioativos obtidos a partir de insetos também já vem demonstrando potencial antioxidante e anti-inflamatório, sendo o *T. molitor* considerado uma nova fonte sustentável para obtenção e utilização destes peptídeos (RIVERA-JIMENEZ *et al.*, 2022).

1.4 Aditivos Naturais

O uso de aditivos naturais que promovem melhorias no desempenho de peixes cultivados ganha cada vez mais espaço no cenário da aquicultura por causar um efeito imunoestimulante no animal, diminuindo suas chances de desenvolver doenças (DAWOOD *et*

al., 2017). A inclusão de aditivos no alimento para peixes modifica as propriedades físico-químicas da dieta e promovem a eficiência nutricional, fazendo com que o animal potencialize suas funções imunológicas (DAWOOD *et al.*, 2017). Dentre os aditivos que atuam como imunoestimulantes estão os prebióticos, que são considerados ingredientes não digeríveis que estimulam o crescimento e/ou a atividade bacteriana alóctone do sistema gastrointestinal; probióticos, que são considerados microrganismos que vão estimular a colonização de microrganismos alóctones do sistema gastrointestinal e simbióticos que é a combinação dos últimos citados (QUIGLEY *et al.*, 2018). Estudos utilizando hidrolisados e peptídeos obtidos através de leite, queijo, soro e outras fontes, demonstraram função prebiótica ao promover o crescimento de bactérias ácido lácticas (LAB), *Bifidobacterium* e *Lactobacillus lactis* (ZHANG *et al.*, 2020). Além disso, peptídeos obtidos do leite demonstraram capacidade antimicrobiana a microrganismos patogênicos como *E. coli*, *Salmonella* e *Staphylococcus*, além de capacidade antifúngica e antiviral (MOHANTY *et al.*, 2015).

Estudos testando a capacidade prebiótica de peptídeos bioativos obtidos a partir de inseto são escassos, porém devido à grande capacidade antimicrobiana destes revisada por WU *et al.*, (2018), é possível utilizá-los como aditivos naturais ou promover estudos que se aprofundem não só na obtenção de peptídeos antimicrobianos, mas como também sirvam para estudos em que sejam avaliados suas propriedades estimulantes da microflora gastrointestinal, que provavelmente trarão benefícios ao animal como promoção do crescimento e da saúde.

1.5 Jundiá (*Rhamdia quelen*)

A aquicultura brasileira destaca-se principalmente pelo cultivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) seguida pelo cultivo de tambaqui (*Colossoma macropomum*). A atividade na última década cresceu exponencialmente, não somente devido a produção, mas também a busca pelo conhecimento do mercado consumidor (EMBRAPA, 2021). Entender o mercado consumidor brasileiro permite compreender quais espécies podem ser cultivadas em determinadas regiões. Na região sul do país, mais especificamente no Rio Grande do Sul destaca-se o cultivo de carpas e tilápia (*Oreochromis niloticus*), e dentre as espécies nativas o jundiá (*Rhamdia quelen*) (SCHREIBER *et al.*, 2021).

O jundiá (*Rhamdia quelen*), pertencente à ordem dos siluriformes e a família Heptapteridae, é uma espécie que se destaca entre as cultivadas no estado por ser nativa brasileira, possuindo distribuição do sudeste do México ao Centro da Argentina (GOMES *et*

al., 2000). Sua produção no Rio Grande do Sul em 2017 foi em torno de 20.378 toneladas (PEIXEBR, 2020).

A espécie prefere ambientes calmos e procura se esconder entre pedras e cascalhos, e à noite sai para buscar alimento. Seu hábito alimentar é onívoro com tendência piscívora, porém se alimenta também de crustáceos, detritos orgânicos e insetos (GOMES *et al.*, 2000). Apesar da espécie apresentar características zootécnicas favoráveis à produção como boa adaptação ao cultivo, boa conversão alimentar (1,5:1) e ausência de espinhas no filé (SANTOS *et al.*, 2021), diversos desafios, principalmente sanitário com o surgimento do “ictio” nos primeiros meses de vida, impedem o crescimento do seu cultivo.

Figura 2. Alevino de Jundiá (*Rhamdia quelen*)



Fonte: Autoria própria.

É sabido que a espécie *R. quelen* apresenta, principalmente nas primeiras semanas de vida, susceptibilidade à infestação pelo ectoparasito *Ichthyophthirius multifiliis* conhecido popularmente como “ictio” (CARNEIRO *et al.*, 2005). O “ictio” é um ectoparasito importante na aquicultura devido ao seu elevado potencial de deixar o animal suscetível a outras doenças ou causar morte nos animais (ANDRADE *et al.*, 2006).

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito de níveis crescentes de peptídeos bioativos em dietas para jundiá para promover melhor desempenho animal.

2.2 Objetivos específicos

- A) Avaliar os parâmetros de desempenho.
- B) Avaliar composição corporal.
- B) Avaliar os índices somáticos.

C) Avaliar índices de enzimas digestivas.

3. Artigo

Artigo a ser submetido para à Revista Caderno de Ciências Agrária

Efeito de peptídeos bioativos, obtidos a partir de *Tenebrio molitor*, sobre crescimento, índices somáticos, composição corporal, parâmetros bioquímicos e atividade de enzimas digestivas de jundiás (*Rhamdia quelen*)

Evander Matos Penchel¹, Alexandra Pretto², Luiz Felipe Oliveira³, Sergio Domingos de Almeida⁴, Andressa Rodrigues Tellechea⁵, Fernanda Rodrigues Goulart Ferrigolo⁶

¹Universidade Federal do Pampa, RS. Brasil.

<https://orcid.org/0009-0005-4944-5355>

²Universidade Federal do Pampa, RS. Brasil.

<https://orcid.org/0009-007-8773-0768>

³Universidade Federal do Pampa, RS. Brasil.

<https://orcid.org/0009-0003-9865-2436>

⁴Universidade Federal do Pampa, RS. Brasil.

<https://orcid.org/0009-0000-6777-2580>

⁵Universidade Federal do Pampa, RS. Brasil.

<https://orcid.org/0000-0002-2479-9967>

⁶Universidade Federal do Pampa, RS. Brasil

<https://0000-0001-6096-0132>

Resumo

Conforme a atividade aquícola cresce para atender a demanda populacional, os sistemas de cultivo se intensificam. Assim, novas pesquisas buscam encontrar aditivos nutricionais que reflitam positivamente, reduzindo seu tempo de criação e mortalidade. O presente estudo aborda os efeitos da inclusão de níveis crescentes de peptídeos bioativos obtidos a partir de *Tenebrio molitor* (PBTM) sobre o crescimento, índices somáticos, composição corporal, metabólitos circulantes e atividade de enzimas digestivas de juvenis de jundiás (*Rhamdia quelen*). Três dietas isoprotéicas e isocalóricas foram formuladas para conter níveis de 0%, 0,5% e 1,0% de inclusão de PBTM. Em um sistema de recirculação de água foram distribuídos 336 juvenis de jundiá (peso médio inicial de $3,83 \pm 0,69$ g) em 12 unidades experimentais (delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e quatro repetições). Os peixes foram alimentados com as dietas experimentais até a saciedade

aparente durante 40 dias. Ao final do ensaio, foi realizada biometria, coleta de sangue e de tecidos corporais. Não foram observadas diferenças significativas para o peso final, comprimento total, ganho de peso, fator de condição, índices digestivo somático, hepato somático e quociente intestinal, entre os tratamentos. Quanto à composição corporal, houve diferença nos valores de umidade e cinzas (maiores concentrações nos peixes dos tratamentos 0,5% e 1,0% de peptídeos, respectivamente). A atividade de tripsina e quimotripsina intestinal não foi afetada, bem como os parâmetros plasmáticos avaliados. Conclui-se que a inclusão de PBTM não afetou negativamente os resultados, porém mais estudos precisam ser realizados para elucidar um nível ideal de inclusão de peptídeos.

Palavras-chave: intensidade de produção. alimento funcional. crescimento animal. promotor de saúde.

1. Introdução

O Brasil desempenha papel importante na produção de organismos aquáticos, sendo o segundo maior produtor da América Latina com produção ultrapassando 860 mil toneladas em 2022. Neste cenário, destacam-se os peixes nativos, os quais contribuem com cerca de 31,2% da produção nacional (Marques et al., 2021; PeixeBR, 2022, 2023).

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um peixe onívoro que vem ganhando destaque na produção de espécies nativas na região sul do Brasil. Apresenta características desejáveis como crescimento satisfatório em temperaturas baixas, uso eficiente de dietas comerciais, adaptabilidade às diversas condições de cultivo, além de possuir carne saborosa e ausência de espinhas no filé, característica bastante apreciada pelos consumidores (Kubota et al, 2004). No entanto, a intensificação da produção, aliada ao adensamento de animais e desequilíbrio da qualidade da água, leva ao aumento dos fatores de estresse para o jundiá, aumentando a sua susceptibilidade a patógenos infecciosos.

Para conter o surgimento de doenças, o uso de terapia antibiótica foi um dos métodos utilizados por anos na aquicultura, porém o aumento da resistência bacteriana, em função do uso equivocado e indiscriminado destes fármacos, fez com que esse método de tratamento fosse restringido na produção de peixes (Chen et al., 2020). Além da resistência bacteriana, a aplicação de antibióticos na aquicultura prejudica as células benígnas, causa distúrbios no equilíbrio da microbiota autóctone e acumula-se no ambiente, o que os tornam ineficazes no combate a doenças (Pereira et al., 2022). Como alternativa ao uso de antibióticos, destaca-se o uso de aditivos naturais, que resultam em longo prazo na redução da resistência de doenças

bacterianas, auxiliando assim em um melhor desempenho em sistemas de cultivo (Khanzadeh et al., 2023).

Diante disso, identifica-se notável crescimento de pesquisas direcionadas ao desenvolvimento de novos aditivos funcionais que proporcionem melhorias sobre a saúde animal e que em paralelo possibilitem aumento do crescimento animal (Pandyian et al., 2013). Diferentes fontes alimentares servem para obtenção de compostos bioativos que podem ser purificados e inseridos em dietas para promoção da saúde (Shahidi e Yong, 2008). Estes compostos bioativos, também denominados como peptídeos bioativos, são pequenas moléculas formadas por ligações peptídicas específicas que promovem melhorias na saúde do organismo que o ingere, bem como no seu crescimento (Shahidi e Yong, 2008).

Em sua estrutura primária intacta, os peptídeos não apresentam bioatividade, sendo necessário passar pelo processo de hidrólise enzimática para a liberação das sequências que apresentam algum tipo de função bioativa (Matos et al., 2021). Entre as diferentes fontes proteicas que podem ser utilizadas para geração desses peptídeos, destacam-se os insetos, como o *Tenebrio molitor*, que já vem sendo usado na produção de dietas comerciais para peixes. A farinha de *Tenebrio molitor* tem se mostrado benéfica para a saúde animal, com a produção de enzimas com atividade antioxidante, permitindo assim melhores respostas na promoção da saúde e no crescimento (Lima, 2021).

Em geral, peptídeos obtidos através de insetos também são conhecidos por suas ações anti-inflamatórias, anti hipertensivas e inibitórias de enzimas como lipase e enzima conversora de angiotensina, além de ação antimicrobiana no animal (Jakubczyk et al., 2020). Em diferentes estudos a enzima Alcalase é utilizada para obtenção de hidrolisados proteicos, demonstrando eficiência em obter, principalmente, peptídeos menores que por sua vez podem ser mais facilmente digeridos pelo animal devido ao seu tamanho (Matos e Castro, 2021).

Logo, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial uso de peptídeos bioativos para suplementação em dietas de juvenis de jundiá, sobre parâmetros de crescimento, deposição corporal de nutrientes, atividade de enzimas digestivas e respostas bioquímicas plasmáticas.

2. Material e métodos

2.1 Produção de *Tenebrio*

As larvas de *Tenebrio molitor* foram produzidas no Laboratório de Biodiversidade Animal da Universidade Federal do Pampa, campus Uruguaiana, RS, Brasil. As larvas foram

alimentadas com ração comercial para frangos, composta por milho moído, farelo de glúten de milho, farelo de soja e farelo de arroz, contendo $19,96 \pm 0,70\%$ de proteína bruta (PB), $3,83 \pm 0,13\%$ de lipídeos, $89,53 \pm 1,16\%$ de matéria seca (MS) e $10,28 \pm 0,98\%$ de matéria mineral (MM). As larvas foram criadas por 80 dias até atingirem o comprimento de 2 cm.

2.2 Obtenção do peptídeo bioativo

A metodologia utilizada neste processo segue o proposto por Tang et al. (2018) com modificações. As larvas do *T. molitor* foram parcialmente secas em estufa (55°C por 48 h) e moídas para obtenção da farinha de insetos. Posteriormente, a farinha foi desengordurada através de quatro lavagens com hexano (peso:volume 1:2). Amostra de farinha de tenébrio desengordurada foi homogeneizada e pré-incubada em água destilada (proporção p:v 1:10) a 55°C por 30 minutos. Após a pré-incubação, foi adicionada enzima alcalase (0,04%) e o pH ajustado a 7,0 com NaOH 0,1 N para ação enzimática. Passada a etapa de hidrólise (8 horas a 55°C), a enzima foi inativada através de aquecimento a 95°C durante 15 minutos. A mistura obtida foi resfriada até $20\text{-}25^{\circ}\text{C}$ em banho de gelo e então centrifugada (8000 rpm por 20 minutos) para isolar materiais insolúveis dos peptídeos solúveis.

2.3 Dietas experimentais

Para o ensaio nutricional foram formuladas três dietas isoprotéicas (360 g/Kg de proteína bruta) e isocalóricas (13,55 MJ/kg de energia digestível), considerando as exigências nutricionais da espécie *R. quelen* (Goulart et al., 2018), adicionadas de níveis crescentes de peptídeos bioativos obtidos a partir de larvas de *Tenebrio molitor*, como segue: 0% ou dieta controle; 0,5%PBTM e 1%PBTM (tabela 1). Para o preparo das dietas, os ingredientes foram pesados e misturados manualmente até completa homogeneização. Logo após, cada dieta experimental foi peletizada em moedor de carne e mantida em estufa a 55°C por 24 h, embalada em sacos plásticos identificados e armazenada em freezer a -18°C até o fornecimento aos 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	670	670
Amido de milho	159,8	159,8	159,8
Celulose microcristalina	60	55	50
Peptídeo bioativo	0	5	10
Óleo de linhaça	30	30	30
Mistura de vitaminas/minerais ¹	30	30	30
Cloreto sódio iodado	5	5	5
Hidroxitolueno butilado	0,2	0,2	0,2
Areia	45	45	45
Total	1000	1000	1000
Composição calculada (g/Kg)			
Proteína bruta	360,4	360,4	360,4
Energia digestível (MJ/Kg) ²	13,55	13,55	13,55
Extrato etéreo	103,9	103,9	103,9
Amido	159,8	159,8	159,8
Materia 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; Etoxicina: 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.

²Energia 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).

³Peptídeo bioativo de larvas de *Tenebrio molitor* (PBTM).

2.4 Ensaio experimental

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animais da Universidade Federal do Pampa (protocolo nº 009/2021) e conduzido no Centro de Tecnologia em Pesca e Aquicultura da Universidade Federal do Pampa, campus Uruguaiana, RS, Brasil, em um período de 40 dias. O ensaio foi conduzido em sistema de recirculação de água (tanques de polipropileno de 280 L de volume útil), motobomba e filtro biológico. Um total de 336 juvenis de jundiá (peso médio inicial $3,83 \pm 0,69$ g) foram distribuídos em 12 unidades experimentais (28 peixes/caixa) em um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e quatro repetições de cada tratamento. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, às 9:30 e 16:30 hs, até a saciedade aparente. Além disso, diariamente às 8:30 e 15:30 h foram realizadas sifonagens para retirada de fezes.

Ao longo do experimento, foram verificados os parâmetros de qualidade da água. A temperatura e o oxigênio dissolvido foram medidos duas vezes ao dia com oxímetro, e as médias observadas de temperatura foram $18,70 \pm 1,80^\circ\text{C}$ pela manhã e $19,37 \pm 1,43^\circ\text{C}$ à tarde e para oxigênio $6,07 \pm 0,90$ mg/L pela manhã e $5,81 \pm 0,74$ mg/L à tarde. Demais parâmetros foram avaliados semanalmente e as médias mantidas como segue: alcalinidade total $235,83 \pm 29,40$ 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.

2.5 Coleta de dados e parâmetros avaliados

Ao final do período experimental, os peixes passaram por jejum de 18 horas antes do processo de biometria. Dois peixes de cada unidade experimental (oito/tratamento) foram amostrados para retirada de sangue através de punção na veia caudal, com seringas heparinizadas. As amostras de sangue foram centrifugadas (1000 g por 10 minutos) para obtenção do plasma para posteriores análises. A seguir, todos os peixes foram anestesiados com eugenol (óleo de cravo) na concentração de 50 mg/L (Cunha et al., 2010) para realização de biometria, onde foram coletados os dados de peso (g) e comprimento total (cm) e a seguir estimados os seguintes parâmetros de desempenho:

(Eq. 1)

$$\text{fator de condição (FC): } 100 \cdot \left[\frac{(\text{peso corporal})}{(\text{comprimento total})^3} \right]$$

(Eq. 2)

$$\text{ganho de peso (GP, g): } (\text{peso final} - \text{peso inicial})$$

(Eq. 3)

$$\text{convers\~{a}o a lim e ntar aparente (CAA): } \left(\frac{\text{a lim e nto consumido}}{\text{ganho de peso}} \right)$$

(Eq. 4)

$$\text{sobreviv\~{e}ncia (S, \%): } \left(\frac{\text{n\~{u}mero de animais vivos no per\~{i}odo}}{\text{n\~{u}mero inicial de animais na caixa}} \right)$$

Para an\~{a}lise dos par\~{a}metros som\~{a}ticos, oito peixes por tratamento foram abatidos por overdose de eugenol (\~{o}leo de cravo) na concentra\~{c}o de 500mg/L e usados para determinar os seguintes par\~{a}metros:

(Eq. 5)

$$\text{\~{i}ndice digestivo som\~{a}tico (IDS, \%): } \left[\left(\frac{\text{peixe trato digest\~{o}rio}}{\text{peso total peixe}} \right) \cdot 100 \right]$$

(Eq. 6)

$$\text{\~{i}ndice hepato som\~{a}tico (IHS, \%): } \left[\left(\frac{\text{peso figado}}{\text{peso peixe}} \right) \cdot 100 \right]$$

(Eq. 7)

$$\text{quociente intestinal (QI): } \left(\frac{\text{comprimento do trato digest\~{o}rio}}{\text{comprimento total do peixe}} \right)$$

Estes tecidos foram armazenados congelados (-18 °C) para posteriores an\~{a}lises enzim\~{a}ticas.

2.6 Composi\~{c}o corporal e deposi\~{c}o de nutrientes

Para determina\~{c}o da composi\~{c}o centesimal de peixe inteiro e c\~{a}lculos de deposi\~{c}o de nutrientes oito animais de cada tratamento foram abatidos por overdose de eugenol (\~{o}leo de cravo) na concentra\~{c}o de 500mg/L e usados para determinar o conte\~{u}do de umidade, cinzas (mufla a 550°C por 4 h) e prote\~{i}na bruta (m\~{e}todo de Micro-Kjeldahl, utilizando 6,25 como fator de convers\~{a}o) de acordo com metodologias descritas na AOAC (1995), bem como o teor de gordura, avaliado pelo m\~{e}todo de extra\~{c}o a frio, segundo Bligh e Dyer (1959).

Os \~{i}ndices de prote\~{i}na e gordura corporal depositados foram calculados pelas seguintes equa\~{c}oes:

(Eq. 8)

$$\text{Deposi\~{c}o de prote\~{i}na corporal (DPC)(g): } [Pf * \left(\frac{\%PBCf}{100} \right)] - [Pi * \left(\frac{\%PBCi}{100} \right)]$$

(Eq. 9)

$$\text{Deposição de gordura corporal (DGC)}(g): [Pf * \left(\frac{\%GCf}{100}\right)] - [Pi * \left(\frac{\%GCI}{100}\right)]$$

Sendo: Pf = peso final; Pi = peso inicial; PBCi = proteína corporal inicial; PBCf = proteína corporal final; GCi = gordura corporal inicial; GCf = gordura corporal final.

2.7 Análises em plasma

No plasma foram analisados os níveis de glicose (mg/dL), colesterol total (mg/dL), triglicerídeos (mg/dL), proteínas totais (g/dL) e albumina (g/dL) utilizando *kits* colorimétricos comerciais (Bioclin®, MG, Brasil). O teor de globulinas (g/dL) foi obtido por diferença: (proteínas totais - albumina).

2.8 Análise de enzimas digestivas

O intestino inteiro foi homogeneizado em solução tampão contendo 10 mM de fosfato de potássio e 20 mM de tris aminometano, pH 7,5 em 50% [v/v] de glicerol. A proporção tecido:tampão utilizada foi de 1:20 e a homogeneização foi realizada com homogeneizador tipo potter (Tecnal, SP, Brasil). Após homogeneizadas, as amostras foram centrifugadas a 1200 g por 10 min, e o sobrenadante armazenado a -18 °C como fonte enzimática.

As atividades de metabolitos circulantes seguiram o protocolo descrito por Hummel (1959). A atividade de tripsina foi ensaiada utilizando TAME (α -p-toluenosulphonhyl-L-arginine methyl ester hydrochloride) como substrato. Homogeneizados de intestino foram incubados por 2 min em 2 mL de tampão Tris/CaCl₂ pH 8,1 e a absorbância lida em espectrofotômetro a 247 nm. A atividade da enzima foi expressa em μ mol TAME/min/mg proteína.

Para determinação da atividade de quimotripsina foi utilizado benzoyl-L-tyrosine ethyl ester (BTEE) como substrato. Os extratos foram incubados por 2 min a 30 °C em 2 mL de solução tampão Tris/CaCl₂ pH 7,8 e a absorbância lida a 256 nm. A atividade de quimotripsina foi expressa em μ mol BTEE/min/mg proteína. O conteúdo de proteína para expressar a atividade enzimática das amostras foi determinado segundo Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina como padrão.

2.9 Análise estatística

Os dados foram 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

Ao final do período experimental, não foram observadas diferenças significativas nas variáveis de desempenho e taxa de sobrevivência nos peixes suplementados com os peptídeos bioativos em relação ao tratamento controle ($P > 0,05$) (tabela 2). Da mesma forma, os índices somáticos não diferiram entre os peixes suplementados com os diferentes níveis de peptídeos bioativos.

Tabela 2. Parâmetros de desempenho e índices somáticos de jundiás (*R. quelen*) suplementados com níveis crescentes de peptídeos bioativos

Parâmetros	Dietas experimentais		
	Controle	0,5%PBTM	1,0%PBTM
Peso final (g)	6,38±2,11 ^a	6,16±1,84 ^a	6,45±2,47 ^a
CT (cm)	8,95±0,91 ^a	8,90±0,82 ^a	8,96±1,00 ^a
Fator de condição	0,86±0,12 ^a	0,85±0,07 ^a	0,86±0,09 ^a
Ganho de peso (g)	2,54±0,28 ^a	2,34±0,49 ^a	2,61±0,15 ^a
CAA	2,61±0,44 ^a	3,23±0,48 ^a	2,99±0,34 ^a
Sobrevivência (%)	99,00±0,00 ^a	100,00±0,00 ^a	100,00±0,00 ^a
QI	1,27±0,17 ^a	1,33±0,23 ^a	1,40±0,15 ^a
IHS (%)	2,03±0,44 ^a	2,04±0,50 ^a	2,05±0,28 ^a
IDS (%)	5,05±1,40 ^a	5,90±1,66 ^a	6,55±2,11 ^a

Valores são apresentados como média ± DP (N=4). CT: Comprimento total; CAA: Conversão alimentar aparente; IDS: índice digestivo somático; IHS: índice hepatossomático; QI: quociente intestinal.

3.2 Composição Corporal e Deposição de nutrientes

Ao final do período experimental, não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) nos níveis de proteína bruta e extrato etéreo de todos os peixes suplementados com os níveis crescentes de peptídeos bioativos, conforme pode ser observado na tabela 3. Os jundiás do grupo controle apresentaram significativamente menores níveis de água comparado aos

animais dos tratamentos 0,5%PBTM e 1%PBTM. Com relação aos níveis de matéria mineral, os peixes que receberam a dieta 1%PBTM apresentaram maiores teores comparado aos demais grupos.

Tabela 3. Composição Corporal e Deposição de nutrientes de jundiás (*R. quelen*) suplementados com níveis crescentes de peptídeos bioativos.

Parâmetros	Diets experimentais		
	Controle	0,5%PBTM	1%PBTM
Água (%)	74,12±0,37 ^c	76,58±0,47 ^a	75,40±0,06 ^b
Proteína Bruta (%)	15,50±0,54 ^a	15,71±1,39 ^a	16,22±1,01 ^a
Extrato etéreo (%)	3,82±1,01 ^a	3,18±1,21 ^a	4,48±0,91 ^a
Matéria mineral (%)	3,20±0,13 ^b	2,77±0,23 ^b	3,92±0,16 ^a
Deposição de Proteína Corporal	0,44±0,04 ^a	0,47±0,08 ^a	0,49±0,02 ^a
Deposição de Gordura Corporal	0,11±0,01 ^b	0,06±0,01 ^c	0,15±0,00 ^a

Os dados na mesma linha com sobrescritos diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$). Valores são apresentados como média ± DP (N=8).

3.3 Parâmetros bioquímicos plasmáticos

Após 40 dias de alimentação com as diferentes dietas experimentais, os jundiás não apresentaram diferenças ($P > 0,05$) para os parâmetros bioquímicos sanguíneos, conforme pode ser observado na tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos plasmáticos de jundiás (*R. quelen*) suplementados com níveis crescentes de peptídeos bioativos.

Parâmetros	Diets experimentais		
	Controle	0,5%PBTM	1%PBTM
Glicose (mg/dL)	48,00±10,80 ^a	55,16±13,98 ^a	50,75± 6,68 ^a
Colesterol total (mg/dL)	72,76±21,11 ^a	77,23,32±31,92 ^a	81,16±26,40 ^a
Triglicerídeos (mg/dL)	51,90±16,76 ^a	59,46,8±25,09 ^a	72,05±20,02 ^a
Albumina (g/dL)	0,44±0,16 ^a	0,74±0,33 ^a	0,71±0,11 ^a
Proteína Total (g/dL)	3,16±1,07 ^a	3,14±1,01 ^a	3,03±0,26 ^a
Globulinas (g/dL)	2,70±0,84 ^a	2,22± 0,40 ^a	2,24± 0,40 ^a

Os dados na mesma linha com sobrescritos diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$). Valores são apresentados como média ± DP (N=8).

3.4 Atividade de enzimas digestivas

Após 40 dias de alimentação com as diferentes dietas experimentais, os jundiás não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$) para a atividade das enzimas digestivas. Da mesma forma, os níveis avaliados de peptídeos bioativos não influenciaram nos níveis de proteína intestinal (Figura 1).

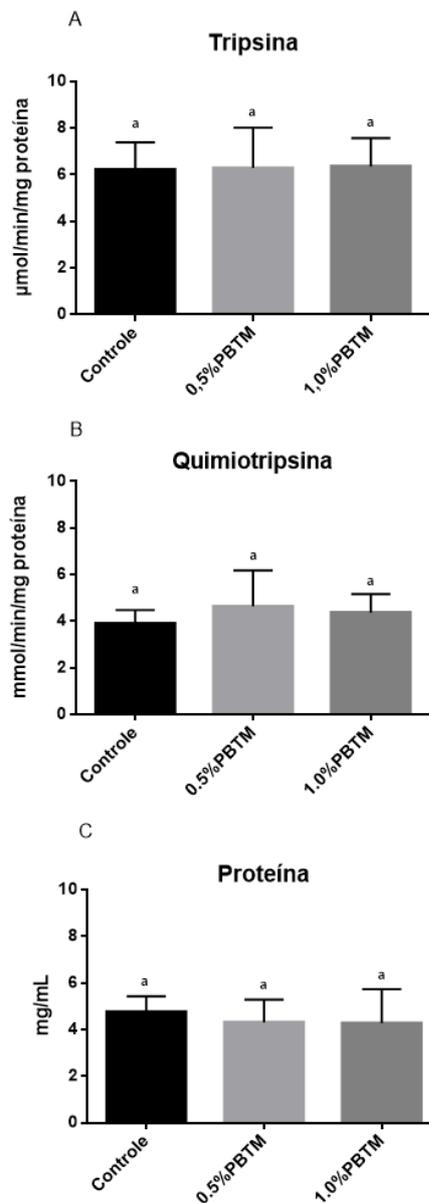


Figura 1. Atividade de enzimas digestivas e níveis de proteína intestinal de jundiás (*R. quelen*) suplementados com níveis crescentes de peptídeos bioativos. Valores são apresentados como média \pm DP (N=8).

4. Discussão

Vários esforços têm sido feitos para reduzir a aplicação de antibióticos na aquicultura, com isso, estudos têm aplicado suplementos naturais com o objetivo de promover o crescimento e trazer benefícios à saúde dos animais. Nesse sentido, diferentes fontes de peptídeos bioativos já vem sendo testados na nutrição de diferentes espécies de peixes, como por exemplo: o efeito de peptídeos derivados de peixe linguado sobre dano oxidativo induzido em zebrafish (*Danio rerio*) (Ko et al., 2014); também já foram estudados o efeito de peptídeos obtidos de levedura na nutrição de juvenis de carpa Jian (*Cyprinus carpio var. Jian*) (Yuan et al., 2017), além de estudos que avaliaram o efeito de peptídeos obtidos de fontes vegetais como de farelo de algodão em dietas de Carpa prussiana (*Carassius auratus gibelio*) (Gui et al., 2010) e em dietas de Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*) (Yuan et al., 2020), entre outros. Esses estudos demonstram que os peptídeos bioativos podem trazer benefícios sobre o desempenho de crescimento, no entanto os mecanismos que promovem essas melhorias ainda não estão bem estabelecidos (He et al., 2023).

Nesse contexto, são escassos os estudos avaliando a obtenção de aditivos a partir de insetos com potencial promotor de crescimento e imunoestimulante. No presente estudo, a inclusão de níveis crescentes de peptídeos bioativos, obtidos a partir de larvas de *Tenebrio molitor*, não afetou os parâmetros de crescimento. Da mesma forma, a sobrevivência e índices somáticos dos jundiás alimentados com as diferentes dietas não apresentaram influência dos níveis de peptídeos empregados. Ainda não está bem esclarecido, mas sugere-se que os parâmetros de crescimento não tenham sido influenciados pela inclusão dos peptídeos em função da dosagem utilizada ser abaixo do ideal. Além disso, conforme Sarker et al. (2022) a bioatividade e biodisponibilidade dos peptídeos pode ser influenciada por vários fatores, como peso molecular, composição e sequência de aminoácidos, entre outros, o que pode estar diretamente relacionado com sua forma de obtenção. Para garantir a funcionalidade é importante que os peptídeos permaneçam inalterados e prontamente disponíveis para a absorção intestinal. Como os estudos sobre obtenção de peptídeos de larvas de *Tenebrio molitor* são recentes, estudos futuros devem ser realizados para elucidar formas de potencializar a bioatividade destes compostos e que não prejudiquem a sua absorção e promoção do crescimento animal, considerando assim sua aplicação na aquicultura.

A avaliação da composição corporal dos peixes é uma ferramenta importante que permite avaliar a eficiência da transferência dos nutrientes da dieta para o animal (Gonçalves, 2011). No presente estudo, a inclusão de peptídeos bioativos alterou alguns parâmetros da

composição corporal. Os peixes que receberam 0,5% de peptídeos bioativos na dieta apresentaram significativamente maior teor de água corporal comparado aos demais tratamentos. Já o conteúdo de matéria mineral foi significativamente maior nos jundiás suplementados com 1,0% de peptídeos bioativos.

A água e matéria mineral estão correlacionados negativamente, uma vez que a água é expressa pela perda do peso da amostra após processo de secagem e o volume de matéria mineral se dá pela incineração da matéria orgânica (Park, 1996), assim entre os tratamentos é possível notar que o tratamento 0,5%PBTM contém maior teor de água. Isso pode indicar que o tratamento 0% e 0,5% tiveram menor solubilidade de minerais comparado ao tratamento com adição de 1%PBTM que possui maior quantidade de matéria mineral. Em trabalho realizado Andriamialinirina et al., (2020) foi observado que dietas adicionadas de hidrolisado de levedura promoveram menor conteúdo de matéria mineral em juvenis de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) suplementadas com 1% e maior conteúdo de matéria mineral no tratamento 0% e 3% de inclusão. Também foi observado que a suplementação com hidrolisado de vísceras de atum em dietas para pampo (*Rachinotus blochii*) não refletiu em diferenças nos valores de água e matéria mineral corporais quando incluído até 20% de hidrolisado (Pham et al., 2022). Da mesma forma, a inclusão de 10% de hidrolisado de *Tenebrio molitor* em substituição parcial à farinha de peixe em dietas para truta marisca (*Salmo trutta m. trutta*) também não demonstrou diferenças em relação aos valores de água e matéria mineral corporais em comparação aos demais tratamentos (Mikołajczak et al., 2020). Minerais quelados com aminoácidos ou peptídeos possuem maior solubilidade no intestino, aumentando assim sua absorção (Guo et al., 2014). A deficiência de minerais na dieta ocasiona diferentes impactos que vão desde susceptibilidade a doenças até deficiência no crescimento do peixe, dependendo do mineral. Assim, a maior absorção de minerais, como ocorreu no tratamento 1% PBTM, por conta dos peptídeos pode contribuir para a redução de gastos em suplementação mineral na ração (Luo et al., 2020).

Conforme Li et al. (2023) a avaliação de parâmetros bioquímicos sanguíneos, assim como a avaliação da atividade enzimática digestiva são indicadores do estado nutricional e de saúde dos peixes. No presente estudo, nenhuma diferença nos parâmetros bioquímicos sanguíneos foi observada entre os tratamentos, indicando que esses valores encontram-se similares ao encontrado por Adorian et al. (2016): Glicose 73-74 (mg/dL), Colesterol 75-93 (mg/dL), Proteína total 2-3,05 (g/dL). Dessa maneira, não houve comprometimento dos parâmetros sanguíneos avaliados, o mesmo ocorreu com dietas contendo até 20% de

hidrolisados de soja para jundiá (*Rhamdia quelen*) em que nenhum tratamento obteve diferenças nos parâmetros sanguíneos (Uczay et al., 2019). Estes achados demonstram que os peptídeos bioativos, obtidos a partir de *Tenebrio molitor*, incluídos na dieta em níveis de até 1% não promovem efeitos negativos sobre a saúde dos peixes.

Conforme Naveed et al. (2023), para os peixes, a natureza do alimento, bem como o hábito alimentar, interfere diretamente na atividade enzimática digestiva e assimilação do alimento. Diante disso, o intestino é considerado como um efetivo indicador de desempenho e saúde animal, devido a sua função na defesa imunológica, digestão e absorção dos nutrientes. No presente estudo não foram observadas diferenças significativas para a atividade das enzimas digestivas dos peixes alimentados com os níveis crescentes de peptídeos bioativos, o mesmo ocorreu com a inclusão de 20% de hidrolisado de *tenebrio molitor* em dietas para truta marisca (*Salmo trutta m. trutta*), onde não foram observadas diferenças na atividade da enzima tripsina (Hoffmann et al., 2020). Em estudo testando 25% e 50% de hidrolisado de músculo de peixe, manto da lula e farinha de soja em dietas para larvas de Parco-Gigante (*Lates calcarifer*) foram observadas diferenças significativas na atividade da quimotripsina entre os níveis crescentes de hidrolisado de manto de lula obtidos com enzima alcalase, porém a atividade de tripsina não sofreu alterações no mesmo tratamento comparado ao grupo controle (Srichanun et al., 2014).

Em nosso estudo, sugere-se que os dados obtidos são positivos, pois demonstra que a atividade enzimática digestiva não foi influenciada negativamente, e que o processo de digestão e assimilação dos nutrientes seguiu comportamento semelhante ao grupo que recebeu uma dieta para jundiá (controle). Em dietas que contenham insetos ou derivados, pode ocorrer a redução na atividade enzimática digestiva devido a presença da quitina dos insetos (Naveed et al., 2023). A redução da atividade enzimática do trato gastrointestinal está relacionada com a piora na digestibilidade do alimento e conseqüentemente reflete-se negativamente sobre o desempenho animal. Como no presente estudo não foi observada redução da atividade enzimática infere-se que o processo empregado para a obtenção dos peptídeos foi efetivo em reduzir/eliminar qualquer fator antinutricional advindo de insetos, assim como a quitina.

Conclusão

A inclusão de peptídeos bioativos, produzidos a partir de *T. molitor*, em níveis de até 1,0% em dietas para juvenis de jundiá tiveram boa aceitação pelos peixes e nenhum resultado negativo no desempenho, índices somáticos, atividade de enzimas digestivas e bioquímica plasmática foram observados. Estes dados servem como ponto de referência para futuras

pesquisas que devem ser realizadas a fim de elucidar os níveis ideais de inclusão dos peptídeos em dietas para jundiá.

Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande Do Sul (FAPERGS – TERMO DE OUTORGA 21/2551-0000605-6) pelo auxílio financeiro.

Referências

AOAC. 1995. Official methods of analysis of the AOAC International (16th ed.). Association of Official Analytical Chemists Supplement.

Adorian, T. J.; Goulart, F. R.; Mombach, P. I.; de Menezes Lovatto, N.; Dalcin, M.; Molinari, M.; Lazzari, R.; da Silva, L. P. 2016. Effect of different dietary fiber concentrates on the metabolism and indirect immune response in silver catfish. *Animal Feed Science and Technology*, 215, 124-132. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.03.001>

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>;

Bligh, E. G.; Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911– 917. Doi: <https://doi.org/10.1139/o59-099>

Bradford, M. M. 1976. A sensitive method for the total protein determination using the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem*, 72, 249-251. Doi: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Chen, J.; Sun, R.; Pan, C.; Sun, Y.; Mai, B.; Li, Q. X. 2020. Antibiotics and Food Safety in Aquaculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03996>

Cunha, M. A. D.; Zeppenfeld, C. C.; Garcia, L. D. O.; Loro, V. L.; Fonseca, M. B. D.; Emanuelli, T.; Veeck, A. P. de L.; Copatti, C. E.; Baldisserotto, B. 2010. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. *Ciência Rural*, 40, 2107-2114. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000154>

Gui, D.; Liu, W.; Shao, X.; Xu, W. 2010. 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(3-4), 112-120. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.01.012>.

Gonçalves Junior, L. P.; Selvatici, P. D.; Souza, J. G. S.; Faria, B. P.; Mendonça, P. P. 2014. *Tópicos especiais em Ciência Animal III*. 1.ed. CAUFES, Alegre - ES.

Gonçalves, A. A. *Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação*. São Paulo: Editora Atheneu, 2011.

Goulart, F. R.; Adorian, T. J.; Lovatto, N. M.; Loureiro, B. B.; Pianesso, D.; Barcellos, L. G.; Koakoski, G.; da 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. Doi: <https://doi.org/10.1111/anu.12568>

Ha, N.; Jesus, G. F. A.; Gonçalves, A. F. N.; de Oliveira, N. S.; Sugai, J. K.; Pessatti, M. L.; Mourinho, J. L. P.; Fabregat, T. E. H. P. 2019. Sardine (*Sardinella spp.*) protein hydrolysate as growth promoter in South American catfish (*Rhamdia quelen*) feeding: Productive performance, digestive enzymes activity, morphometry and intestinal microbiology. *Aquaculture*, 500, 99-106. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.004>

He, L.; Wang, X.; Wang, Y.; Luo, J.; Zhao, Y.; Han, G.; Han, L.; Yu, Q. 2023. Production and identification of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides from discarded cowhide collagen. *Food Chemistry*, 405, 134793. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134793>

Hoffmann, L.; Rawski, M.; Nogales-Merida, S.; Mazurkiewicz, J. 2020. Dietary inclusion of *Tenebrio molitor* meal in sea trout larvae rearing: Effects on fish growth performance, survival, condition, and GIT and liver enzymatic activity. *Annals of Animal Science*, 20, 2, 579-598. Doi: <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0002>

Hummel, B. C. W. 1959. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Canadian Journal Biochemistry Physiology*, 37, 1393–1399. Doi: <https://doi.org/10.1139/o59-157>

Jakubczyk, A.; Karaś, M.; Rybczyńska-Tkaczyk, K.; Zielińska, E.; Zieliński, D. 2020. "Current Trends of Bioactive Peptides—New Sources and Therapeutic Effect". *Foods* 9, 7: 846. Doi: <https://doi.org/10.3390/foods907084>

- Jobling, M. 1983. A short review and critique of methodology used in fish growth and nutrition studies. *Journal of Fish Biology*, 23(6), 685-703. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1983.tb02946.x>
- Khanzadeh, M., Beikzadeh, B., & Hoseinifar, S. H. 2023. The Effects of *Laurencia caspica* Algae Extract on Hemato-Immunological Parameters, Antioxidant Defense, and Resistance against *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*. Doi: <https://doi.org/10.1155/2023/8882736>
- Ko, J. Y.; Kim, E. A.; Lee, J. H.; Kang, M. C.; Lee, J. S.; Kim, J. S.; Jung, W. K.; Jeon, Y. J. 2014. Protective effect of aquacultured flounder fish-derived peptide against oxidative stress in zebrafish. *Fish & Shellfish Immunology*. 36, 1, 320-323. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.11.018>
- Kubota, E.; Emanuelli, T.; Balidsserotto, B.; Radünz Neto, J. 2004. Criação de jundiá, Editora UFSM, Santa Maria – RS.
- Lima, J. S. de.; Pittaluga, M. L.; Lovatto, N. de M.; Veiverberg, C. A.; Borille, R.; Lazzari, R. Mealworm (*Tenebrio molitor*) potencial in fish nutrition: a review. *Research, Society and Development, [S. l.]*, v. 10, n. 16, p. e269101623229. Doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i16.23229>
- Li, B.; Su, L.; Sun, Y.; Huang, H.; Deng, J.; Cao, Z. 2023. Evaluation of Cottonseed Meal as an Alternative to Fish Meal in Diet for Juvenile Asian Red-Tailed Catfish *Hemibagrus wyckiioides*. *Aquaculture Nutrition*, v. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/1741724>
- Luo, J.; Zhou, Z.; Yao, X.; Fu, Y. 2020. *Mineral-chelating peptides derived from fish collagen: Preparation, bioactivity and bioavailability*. *LWT*, 134. Doi: <https://doi.org/doi:10.1016/j.lwt.2020.110209>
- Marques, F. B.; Watterson, A.; da Rocha, A. F.; Cavalli, L. S. (2020). Overview of Brazilian aquaculture production. *Aquaculture Research*, 51: 4838–4845. Doi: <https://doi.org/10.1111/are.14828>.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.04420>
- Mikołajczak, Z.; Rawski, M.; Mazurkiewicz, J.; Kierończyk, B.; Józefiak, D. 2020. The effect of hydrolyzed insect meals in sea trout fingerling (*Salmo trutta m. trutta*) diets on growth performance, microbiota and biochemical blood parameters. *Animals*, 10(6), 1031. Doi: <https://doi.org/10.3390/ani10061031>

Naveed, M.; Mateen, A.; Majeed, W.; Naeem, M.; Khattab, Y.; Hedfi, A.; Ansir, F.; Ali, M. B. 2023. Efficacy of an Insect-Based Diet with Addition of Probiotics on Growth, Proximate Composition, Enzymatic Efficiency, and Immune Response of Nile Tilapia. *Aquaculture Nutrition*. Doi: <https://doi.org/10.1155/2023/5557931>

Pandiyani, P.; Balaraman, D.; Thirunavukkarasu, R.; George, E. G. J.; Subramaniyan, K.; Manikkam, S.; Sadayappan, B. 2013 Probiotics in aquaculture, *Drug Invention Today*. 5, 1, 2013, 55-59. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.dit.2013.03.003>

Park, Y. W. 1996. Moisture and Ash Contents of Food. *Handbook of food analysis*. Texas, EUA.

PEIXE BR - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA - Anuário Peixe BR da Piscicultura, 2022. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>

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

Pereira, W.A.; Mendonça, C.M.N.; Urquiza, A.V.; Marteinsson, V.P.; LeBlanc, J.G.; Cotter, P.D.; Villalobos, E.F.; Romero, J.; Oliveira, R.P.S. 2022. Use of Probiotic Bacteria and Bacteriocins as an Alternative to Antibiotics in Aquaculture. *Microorganisms*, 10, 1705. Doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091705>

Pham, H. D.; Siddik, M. A.; Le, H. M.; Ngo, M. V.; Nguyen, M. V.; Francis, D. 2022. Effects of dietary tuna viscera hydrolysate supplementation on growth, intestinal mucosal response, and resistance to *Streptococcus iniae* infection in pompano (*Trachinotus blochii*). *Aquaculture Nutrition*. Doi: <https://doi.org/10.1155/2022/3645868>

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>

Rosa, G. M. da.; Camargo, A. C. da S.; Pretto, A.; Ferrigolo, F. R. G.; Kuroda, C. N.; Stefanello, C. M.; Bender, A. B. B. 2019. Desempenho zootécnico e parâmetros somáticos de carpa comum alimentada com *Azolla caroliniana*. *Caderno De Ciências Agrárias*, 11, 1–7. Doi: <https://doi.org/10.35699/2447-6218.2019.15931>

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

- Shahidi, F.; Zhong, Y. 2008. Bioactive peptides. Journal of AOAC international, 91, 4, 914-931. Doi: <https://doi.org/10.1093/jaoac/91.4.914>
- Srichanun, M.; Tantikitti, C.; Kortner, T. M.; Krogdahl, Å.; Chotikachinda, R. 2014. Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive capacity in Asian seabass (*Lates calcarifer Bloch*) larvae. Aquaculture, 428, 195-202. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.03.004>
- Tang, Y.; Debnath, T.; Choi, E. J.; Kim, Y.W.; Ryu, J.P.; Jang, S.; Chung, S.U.; Choi, Y. J.; Kim, E. K. 2018. Changes in the amino acid profiles and free radical scavenging activities of *Tenebrio molitor* larvae following enzymatic hydrolysis. Plos One, 13, 5. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196218>
- 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. 2019. Fish meal replaced by hydrolysed soybean meal in diets increases growth and improves the antioxidant defense system of silver catfish (*Rhamdia quelen*). Aquaculture Research, 50(5), 1438-1447. Doi: <https://doi.org/10.1111/are.14019>
- Yuan, X. Y.; Liu, W. B.; Liang, C.; Sun, C. X.; Xue, Y. F.; Wan, Z. D.; Jiang, G. Z. 2017. Effects of partial replacement of fish meal by yeast hydrolysate on complement system and stress resistance in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian), Fish & Shellfish Immunology. 67, 312-321. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.06.028>.
- Yuan, X. Y.; Liu, W. B.; Wang, C. C.; Huang, Y. Y.; Dai, Y. J.; Cheng, H. H.; Jiang, G. Z. 2020. Evaluation of antioxidant capacity and immunomodulatory effects of cottonseed meal protein hydrolysate and its derivative peptides for hepatocytes of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). Fish & Shellfish Immunology, 98, 10-18. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.008>.

Considerações Finais

A ausência de diferenças significativas entre os resultados avaliados indica que mais trabalhos devem ser feitos para entender os mecanismos de ação de peptídeos bioativos sobre parâmetros de crescimento animal. A maior parte dos trabalhos encontrados na literatura sobre peptídeos ou hidrolisados proteicos em dietas para peixes abordam a substituição da farinha de peixe por estes compostos, com isso a função dos peptídeos bioativos de *Tenebrio molitor* como aditivo nutricional ainda é pouco conhecida.

O trabalho realizado objetivou testar, compreender e elucidar de que maneira os peptídeos bioativos de *T. molitor* agem no metabolismo do jundiá (*Rhamdia quelen*),

estimulando que estudos futuros possam trabalhar com outros níveis de inclusão a fim de se encontrar um nível ideal.

Referências

- 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 agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 1, p. 192-195, 2002.
- AKHTER, N.; WU, B.; MEMON, A. M.; MOHSIN, M. Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 45, p. 733-741. 2015.
- ANDRADE, L. S. D.; ANDRADE, R. L. B. D.; BECKER, A. G.; BALDISSEROTTO, B. Sobrevivência e comportamento de jundiá, *Rhamdia quelen*, submetido a tratamento com antibióticos e cloreto de sódio. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1004-1007, 2006.
- AWAD, E.; AWAAD, A. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. **Fish & shellfish immunology**, v. 67, p. 40-54, 2017.
- CASTRO, T.; **Obtenção e análise da composição centesimal de farinha de larvas de *Tenebrio molitor***. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Amazonas, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia. p.29, 2021.
- CARNEIRO, P. C. F.; SCHORER, M.; MIKOS, J. D. Tratamentos terapêuticos convencionais no controle do ectoparasita *Ichthyophthirius multifiliis* em jundiá (*Rhamdia quelen*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 99-102, 2005.
- CARVALHO C.; T., MASCOLI JUNIOR R.; AMÉRICO-PINHEIRO J. H.; P. O uso indiscriminado de antibióticos e os impactos nos ambientes aquáticos. 2016. **Anais do fórum ambiental da alta paulista - Sociedade, Meio Ambiente e Desenvolvimento**. Tupã/SP. v. XII. p.226-235, 2016.
- CAVALLI, L. S.; DA ROCHA, A. F.; DE BRITO, B. G.; DE BRITO, K. C. T.; ROTTA, M. A. Principais Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis aplicados à Aquicultura. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 27, n. 1, p. 110-126, 14 jul. 2021
- CIJI, A.; AKHTAR, M. S. Stress management in aquaculture: A review of dietary interventions. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 4, p. 2190-2247, 2021.
- CORNÉLIO, J. P. DE S. OS BENEFÍCIOS DO USO DE ADITIVOS NA ALIMENTAÇÃO E SAÚDE DE PEIXES: UMA REVISÃO DESCRITIVA. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 1, p. 478-493, 2023.

DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S.; ESTEBAN, M. Á. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 4, p. 950-974, 2018.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. **Poultry science**, v. 84, n. 4, p. 634-643, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). The state of world Fisheries and Aquaculture. Fisheries and Aquaculture Department, Rome, 2022.

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

GUO, L.; HARNEDY, P. A.; LI, B.; HOU, H.; ZHANG, Z.; ZHAO, X.; FITZGERALD, R. J. Food protein-derived chelating peptides: Biofunctional ingredients for dietary mineral bioavailability enhancement. **Trends in Food Science & Technology**, v. 37, n. 2, p. 92-105, 2014.

HALL, F.; REDDIVARI, L.; LICEAGA, A. M. Identification and Characterization of Edible Cricket Peptides on Hypertensive and Glycemic In Vitro Inhibition and Their Anti-Inflammatory Activity on RAW 264.7 Macrophage Cells. **Nutrients**, v. 12, n. 11, p. 3588. 2020

HONG, j.; HAN, t.; KIM, y. y. Mealworm (*Tenebrio molitor* Larvae) as an alternative protein source for monogastric animal: A review. **Animals**, v. 10, n. 11, p. 2068, 2020.

ISHIKAWA, M.M; QUEIROZ J.F; NASCIMENTO J.L; PÁDUA S.B; MARTINS M.L. **Uso de biomarcadores em peixe e boas práticas de manejo sanitário para a piscicultura**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2020. 1º Edição. 28p.

JAKUBCZYK, A.; KARAŚ, M.; RYBCZYŃSKA-TKACZYK, K.; ZIELIŃSKA, E.; ZIELIŃSKI, D. Current trends of bioactive peptides—New sources and therapeutic effect. **Foods**, v. 9, n. 7, p. 846, 2020.

BALCÁZAR, J. L.; DE BLAS, I.; RUIZ-ZARZUELA, I.; CUNNINGHAM, D.; VENDRELL, D.; MÚZQUIZ, J. L. The role of probiotics in aquaculture. **Veterinary microbiology**, v. 114, n. 3-4, p. 173-186, 2006.

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. **Italian Journal of Animal Science**, v. 14, n. 4, p. 4170, 2015.

MATOS, F. M.; CASTRO, R. J. S. Edible insects as potential sources of proteins for obtaining bioactive peptides. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 24, 2021.

MOHANTY, D.; JENA, R.; CHOUDHURY, P. K.; PATTNAIK, R.; MOHAPATRA, S.; SAINI, M. R. Milk derived antimicrobial bioactive peptides: a review. **International Journal of Food Properties**, v. 19, n. 4, p. 837-846, 2016.

MORUZZO, R.; RICCIOLI, F.; ESPINOSA DIAZ, S.; SECCI, C.; POLI, G.; MANCINI, S. Mealworm (*Tenebrio molitor*): Potential and Challenges to Promote Circular Economy. **Animals**, v. 11, n. 9, p. 2568, 31 ago. 2021.

NG, W. K.; LIEW, F. L.; ANG, L. P.; WONG, K. W. Potential of mealworm (*Tenebrio molitor*) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 273-280, 2001.

PEDROZA FILHO, M. X.; FLORES, R. M. V.; CHAVES, T. C. B. O mercado consumidor de produtos da aquicultura no Brasil. **Embrapa Pesca e Aquicultura**, 2023.

PEIXE BR - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA - **Anuário Peixe BR da Piscicultura**, 2020. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario2020/>>. Acesso em: 05/08/2023.

PEIXE BR - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA - **Anuário Peixe BR da Piscicultura**, 2022. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>>. Acesso em: 11/10/2023.

PEIXE BR - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA - **Anuário Peixe BR da Piscicultura**, 2023. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario2023/>>. Acesso em: 15/09/2023.

QUIGLEY, E. M. M. Prebiotics and Probiotics in Digestive Health. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 17, n. 2, p. 333-344, 2019.

LUU, Q. H.; NGUYEN, T. B. T.; NGUYEN, T. L. A.; DO, T. T. T.; DAO, T. H. T.; PADUNGTOD, P. Antibiotics use in fish and shrimp farms in Vietnam. **Aquaculture Reports**, v. 20, p. 100711, 2021.

REIDEL, A.; SIGNOR, A. A.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W. R.; ROMAGOZA, E. Crescimento do jundiá (*Rhamdia quelen*) criado em tanques-rede com diferentes níveis de proteína e energia na dieta. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e56210212638-e56210212638, 2021.

RIVERA-JIMÉNEZ, J.; BERRAQUERO-GARCÍA, C.; PÉREZ-GÁLVEZ, R.; GARCÍA-MORENO, P. J.; ESPEJO-CARPIO, F. J.; GUADIX, A.; GUADIX, E. M. Peptides and protein hydrolysates exhibiting anti-inflammatory activity: Sources, structural features and modulation mechanisms. **Food & Function**, v. 13, n. 24, p. 12510-12540, 2022.

RUTHERFURD-MARKWICK, KAY J. Food proteins as a source of bioactive peptides with diverse functions. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. S2, p. S149-S157, 2012.

SANTOS, H. K. DOS.; DIAS, P. DA S.; BALEN, R. E.; ZADINELO, I. V.; BOMBARDELLI, R. A.; MEURER, F. Crescimento E Biologia De Alevinos De Jundiá (*Rhamdia Quelen*) Em Um Sistema De Criação Em Recirculação De Água. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n. 3, p. 32827–32848, 2021.

SARKER, A. A review on the application of bioactive peptides as preservatives and functional ingredients in food model systems. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 46, n. 8, p. e16800, 2022.

SCHREIBER, F. H. DA R.; ZUCATTO, L. C.; SCHNEIDER, T. L. S.; LAZZARI, R. Caracterização da piscicultura na região noroeste do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 27257–27275, 2021.

SIGNOR, A. A.; REIDEL, A.; COLDEBELLA, A.; FERREIRA, H. K. A.; SIGNOR, F. R. P.; NETO, C. C. B.; WATANABE, A. L. Densidade de estocagem de jundiá (*Rhamdia quelen*) em tanques-rede na fase inicial. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 43975–43985, 2020.

COSTA, N. DE C. **Farinha de tenébrio (*Tenebrio molitor*) em dietas para jundiá (*Rhamdia quelen*)**. Orientadora: Lilian Carolina Rosa da Silva. Dissertação (Mestrado em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável) Universidade Federal do Paraná. p.37, 2021

SUN-WATERHOUSE, D.; WATERHOUSE, G. I.N.; YOU, L.; ZHANG, J.; LIU, Y.; MA, L.; GAO, J.; DONG, Y. Transforming insect biomass into consumer wellness foods: A review. **Food Research International**, v. 89, p. 129-151, 2016.

TONK, M.; VILCINSKAS, A. The medical potential of antimicrobial peptides from insects. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 17, n. 5, p. 554-575, 2017.

VASCONCELOS, G. T. Uso de insetos na alimentação de peixes. **B. APAMVET**, p. 18-21, 2021.

VILELLA, L. DE M. **Produção de insetos para uso na alimentação animal**. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Zootecnia. p.69, 2018.

Wu, Q.; Patočka, J.; Kuča, K. Insect Antimicrobial Peptides, a Mini Review. **Toxins**, v. 10, p. 461. 2018

YI, H. Y.; CHOWDHURY, M.; HUANG, Y. D.; YU, X. Q. Insect antimicrobial peptides and their applications. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, p. 5807-5822, 2014.

ZIELIŃSKA, E.; KARAŚ, M.; JAKUBCZYK, A. Antioxidant activity of predigested protein obtained from a range of farmed edible insects. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 52, n 2, p. 306–312, 2016

ZHANG, C.; ZHANG, Y.; LI, H; LIU, X. The potential of proteins, hydrolysates and peptides as growth factors for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*: Current research and future perspectives. **Food & function**, v. 11, n. 3, p. 1946-1957, 2020.

APÊNDICES

Figura 1. Busca dos alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*)



Fonte: Autoria própria.

Figura 2. Sistemas de Recirculação de água do Pavilhão 1 Aquicultura.



Fonte: Autoria própria.

Figura 3. Preparo das dietas experimentais



Fonte: Autoria própria.

Figura 4. Processamento das dietas experimentais



Fonte: Autoria própria.

Figura 5. Dietas experimentais.



Fonte: Autoria própria.

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 veículo 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 à 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-on-publication-ethics/>

ESTRUTURA DO TEXTO

1. a) Título e subtítulo (se houver)

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

1. b) Resumo

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

1. c) 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.

1. **d) 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.

1. **e) 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.

1. **f) 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.

1. **g) 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.

1. **h) Agradecimentos(Opcional)**

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

1. **i) Financiamento(Opcional)**

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

1. **j) 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.

1. **k) 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/sobescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt

Subsímbolo = 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-lo 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 de 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 a senha para acesso.

PLAGIO

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