



DANIELA MARQUES DA SILVA

**EXÚVIA DE *Tenebrio molitor* NO DESEMPENHO PRODUTIVO
DE ALEVINOS DE TILÁPIA VERMELHA**

**LAVRAS-MG
2019**

DANIELA MARQUES DA SILVA

**EXÚVIA DE *Tenebrio molitor* NO DESEMPENHO PRODUTIVO DE ALEVINOS DE
TILÁPIA VERMELHA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Genética, Reprodução e Sanidade de Animais Aquáticos, para a obtenção do título de Mestre.

Prof.^a Dra. Priscila Vieira e Rosa
Orientadora

**LAVRAS-MG
2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Silva, Daniela Marques da.

Exúvia de *Tenebrio molitor* no Desempenho Produtivo de
Alevinos de Tilápia Vermelha / Daniela Marques da Silva. - 2019.
32 p. : il.

Orientador(a): Priscila Vieira e Rosa.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. *Oreochromis* sp. 2. Quitina. 3. Quitosana. I. Rosa, Priscila
Vieira e. II. Título.

DANIELA MARQUES DA SILVA

**EXÚVIA DE *Tenebrio Molitor* NO DESEMPENHO PRODUTIVO DE ALEVINOS DE
TILÁPIA VERMELHA**

**EXUVIE OF *Tenebrio molitor* IN THE PRODUCTION PERFORMANCE OF
FINGERLINGS OF RED TILAPIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Genética, Reprodução e Sanidade de Animais Aquáticos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 8 de março de 2019.
Dra. Priscila Vieira e Rosa – UFLA
Dra. Stefania Priscilla de Souza – UFLA
Dr. Renan Rosa Paulino – UFU

Prof.^a Dra. Priscila Vieira e Rosa
Orientadora

**LAVRAS-MG
2019**

RESUMO

Uma das estratégias alimentares para promover a resistência do indivíduo e estimular o crescimento, é a adição de aditivos alimentares. Partindo desse princípio, o presente trabalho teve como objetivo investigar os efeitos da inclusão de diferentes níveis da exúvia larval de *Tenebrio molitor* (tratada ou não) na alimentação de alevinos de tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.), levando em consideração o desempenho produtivo dos animais testados. Assim, o cultivo dos animais foi feito no Setor de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), utilizando 136 alevinos, com o peso médio e desvio padrão iniciais de $4,13 \pm 0,34$ g, alojados em 34 aquários de vidro em sistema de recirculação de água fechado. O delineamento experimental inteiramente casualizado foi adotado, composto por cinco dietas contendo 0; 1,5; 3 e 4,5% de inclusão de exúvia não tratada e uma contendo 3% de exúvia tratada com NaOH 50% (desacetilação da quitina, resultando em quitosana), e 7 parcelas experimentais para cada uma das dietas não tratada e 6 para a tratada. Após a adaptação, os animais foram alimentados três vezes ao dia, durante 36 dias. Ao final do período de cultivo, os peixes foram submetidos a realização da biometria final e a coleta do material biológico. Em destaque, a maior taxa de sobrevivência observada (91,67%) foi a do tratamento com 3% de exúvia tratada, sendo que, os demais tratamentos não atingiram 80% de sobrevivência cada, nas mesmas condições de cultivo. Nos parâmetros de desempenho dos animais avaliados (ganho de peso médio final e o diário; consumo médio diário de ração; conversão alimentar aparente; taxa de crescimento específico; diferença média da altura da cabeça e dos comprimentos corporais total e padrão e os índices hepatossomático e viscerossomático), não houve diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). Conclui-se que os níveis de inclusão testados da exúvia de *T. molitor* (quitina) na dieta dos alevinos de tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.), não promoveu melhoras para o crescimento dos animais. No entanto, o tratamento com a exúvia tratada (quitosana) foi promissor aos demais tratamentos em relação a taxa de sobrevivência, dando indícios de uma ação benéfica no organismo desses animais.

Palavras-chaves: *Oreochromis* sp. Quitina. Quitosana.

ABSTRACT

One of the food strategies to promote the individual's resistance and stimulate growth is the addition of food additives. The objective of this study was to investigate the effects of the inclusion of different levels of *Tenebrio molitor* larvae exuviae (treated or not) on red tilapia fingerlings (*Oreochromis* sp.), taking into account the productive performance of the tested animals. Thus, the cultivation of the animals was done in the Pisciculture Sector of the Federal University of Lavras (UFLA), using 136 fingerlings, with initial weight and standard deviation of 4.13 ± 0.34 g, housed in 34 glass aquariums in closed water recirculation system. The experimental design was completely randomized, composed of five diets containing 0; 1.5; 3 and 4.5% inclusion of untreated exuviae and one containing 3% exuviae treated with 50% NaOH (chitin deacetylation, resulting in chitosan), and 7 experimental plots for each of the untreated and 6 treated treatments. After adaptation, the animals were fed three times a day for 36 days. At the end of the growing period, the fish were submitted to final biometry and biological material collection. The highest observed survival rate (91.67%) was that of the treatment with 3% of treated exuviae, and the other treatments did not reach 80% of survival each, under the same conditions of cultivation. In the performance parameters of the evaluated animals (final and daily average weight gain, average daily feed intake, apparent feed conversion, specific growth rate, mean difference in head height and total and standard body lengths, and hepatosomatic and viscerosomatic), there were no differences significant statistics between treatments ($p > 0.05$). It was concluded that the inclusion levels of *T. molitor* exuviae (chitin) in the diet of red tilapia fingerlings (*Oreochromis* sp.) did not improve the growth of the animals. However, treatment with the treated exuviae (chitosan) was promising to the other treatments in relation to the survival rate, giving indications of a beneficial action in the body of these animals.

Key words: *Oreochromis* sp. Chitin. Chitosan.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	REFERENCIAL TEÓRICO	9
2.1	Tilápias	9
2.2	Insetos	10
2.2.1	<i>Tenebrio molitor</i>	12
2.2.2	<i>Quitina</i>	13
2.2.3	<i>Quitosana</i>	15
3	MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1	Tratamentos e delineamento experimental	17
3.2	Preparo dos ingredientes e das rações experimentais	18
3.2.1	<i>Preparo da exúvia do T. molitor</i>	19
3.3	Manejo	19
3.4	Desempenho dos animais	20
3.5	Análise estatística	21
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1	Taxa de sobrevivência	22
4.2	Desempenho produtivo dos animais	23
5	CONCLUSÃO	25
	REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

A criação de peixes em escala comercial é um dos mercados que mais cresce no mundo, com a produção atual de 80 milhões/t/ano (PEIXE BR, 2018). Entre as espécies aquáticas mais cultivadas mundialmente, as tilápias se destacam por possuírem grande resistência às condições químicas e físicas do ambiente. No entanto, acredita-se que ainda necessita de estudos quanto à sua nutrição, principalmente quanto ao uso de aditivos (AZEREDO et al., 2016; FURUYA, 2013; SCHWARZ et al., 2011, 2016).

Comumente os peixes estão submetidos a diferentes agentes estressantes como o manejo zootécnico, qualidade da água, mudanças climáticas e doenças, podendo assim induzir a um baixo rendimento da produção. Dessa forma, o desenvolvimento de formulações dietéticas que possam mitigar os efeitos negativos desses agentes é necessário para o crescimento da piscicultura. Um exemplo é à adição de aditivos alimentares, que segundo a instrução normativa 13/2004/MAPA¹ uma de suas funções é melhorar o desempenho dos animais.

Alguns polissacarídeos podem ser usados como aditivo alimentar, o segundo mais abundante na natureza é a quitina, que é um dos principais componentes do exoesqueleto dos insetos (GONIL; SAJOMSANG, 2012; ZHU et al., 2016). Esse polissacarídeo e seu principal derivado, a quitosana (produto de desacetilação da quitina), têm recebido considerável valor como biomateriais funcionais em uma ampla gama de aplicações potenciais, tais como alimentos, agricultura, medicina, farmacêutica, cosméticos, fabricação de papel e purificação de água (AL-MANHEL; AL-HILPHY; NIAMAH, 2016; HAHN et al., 2018; HASSAINIA; SATHA; BOUFI, 2017; PHILIBERT; LEE; FABIEN, 2017).

Nesse contexto, sabe-se que os insetos ao longo do seu desenvolvimento, realizam um processo chamado ecdise ou muda, em que ocorre o desprendimento da exúvia, na qual, engloba uma das camadas mais quitinosa da cutícula, a exocutícula (GALLO et al., 2002; ZHU et al., 2016). A espécie *Tenebrio molitor* por exemplo, ao longo do seu estágio larval realiza em torno de dezesseis mudas (PARK et al., 2014). Esta espécie tem suas larvas produzidas comercialmente em várias partes do mundo, principalmente para serem usadas como alimento (fonte proteica) tanto para animais como para seres humanos, podendo neste caso, podendo neste caso, promover um acúmulo considerável de sua exúvia no local de produção.

¹ Informação do regulamento, obtido em: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Secretaria de Apoio Rural e Cooperativismo (2019).

Dessa forma, a exúvia larval do *T. molitor*, um subproduto descartável no cultivo desse inseto e fonte primária de quitina, poderia ser utilizada como aditivo alimentar na piscicultura, contribuindo assim com uma prática sustentável de reaproveitamento de material biológico e promovendo a diversificação da produção. Diante disso, objetivou-se neste trabalho investigar os efeitos da inclusão de diferentes níveis da exúvia larval de *T. molitor* (tratada ou não) na alimentação de alevinos de tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.), levando em consideração o desempenho produtivo dos animais testados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Tilápias

O pescado é a proteína de origem animal mais produzida no planeta. Há estudos expondo, que a produção de peixes de cultivo cresceu 60% entre os anos de 2007 e 2017, passando de 50 milhões/t/ano para os atuais 80 milhões/t/ano (PEIXE BR, 2018). A partir desta perspectiva, vale ressaltar a grande importância da necessidade de realizar estudos, para aperfeiçoar cada vez mais essa grande produção. No entanto, deve-se levar em consideração os aspectos sociais, econômicos e ambientais da atividade.

A produção brasileira, especificamente de tilápias, representa 51,7% da Piscicultura nacional, com 357.639 toneladas em 2017, de acordo com o levantamento da Associação Brasileira da Piscicultura. Esse resultado acabou colocando o Brasil entre os quatro maiores produtores do mundo, atrás apenas da China, Indonésia e Egito, respectivamente (PEIXE BR, 2018).

As tilápias são peixes de origem africana, muito utilizadas na piscicultura desde o ano 2000 a.C., e os cultivos comerciais estão baseados num pequeno número de espécies e alguns híbridos. São elas: *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis mossambicus*, *Oreochromis aureus*, *Oreochromis hornorum*, *Coptodon rendalli*, *Coptodon zillii* e *Sarotherodon galilaeus* (FRACALOSSO; CYRINO, 2012; PASSOS, 2011).

Esse grupo de espécies apresentam agressividade, especialmente em baixas densidades de estocagem, comumente, em sistemas de recirculação de água o recomendado é entre 20 a 60 kg m⁻³ (KUBITZA; KUBITZA, 2000; SOMERVILLE et al., 2014). No entanto, há o risco maior de morte por falha instrumental ou por doenças, que é ampliada nos sistemas de recirculação, exigindo do piscicultor uma atenção maior quanto aos pontos críticos do sistema.

Esses animais também estão entre as principais espécies piscícolas cultivadas no mundo, *O. niloticus* é a quarta espécie de peixe mais produzida, ficando atrás apenas das carpas (FAO, 2018). De modo geral, dentro de condições ótimas de desenvolvimento, as tilápias podem crescer desde o estado de juvenis até à terminação em apenas 6 meses (MENEZES, 2015).

Em muitos países, com atividade piscícola e com potencial para tal, as tilápias foram incrementadas para aproveitar áreas limitantes ao desenvolvimento da piscicultura local. Isso aconteceu em função das tilápias possuírem rusticidade no seu cultivo às condições químicas

e físicas do ambiente (SCHWARZ et al., 2016). A tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.), por exemplo, é um híbrido que se adapta bem e tolera variações de salinidade, com melhor crescimento entre 6 a 14 ppt e 28 °C de temperatura da água (AMARAL JUNIOR et al., 2010).

No entanto, apesar dessa alta produção de tilápias no mundo e sua grande rusticidade, acredita-se que ainda faz-se necessário estudos quanto à sua nutrição, principalmente quanto ao uso de aditivos (FURUYA, 2013; SCHWARZ et al., 2011, 2016). Buscando assim a otimização de sua produção, especialmente em sistemas de cultivo intensivo e de grande consumo alimentar, de forma que os aspectos ambientais e os fisiológicos dos animais sejam levados em consideração.

2.2 Insetos

Os insetos são animais invertebrados que pertencem ao Filo Arthropoda e à Classe Insecta, estima-se que são conhecidas mais de um milhão de espécies dessa classe, somente na Ordem Coleoptera (besouros) foram catalogados mais de trezentos mil delas (GALLO et al., 2002). Anatomicamente são seres que possuem exoesqueleto quitinoso, corpo dividido em três tagmas (cabeça, tórax e abdômen), três pares de patas articuladas, olhos compostos e duas antenas (LOPES; ROSSO, 2013).

Estes indivíduos ao longo do seu desenvolvimento, para que haja a expansão corporal, é necessário que ocorra o rompimento do seu exoesqueleto, através de um processo chamado ecdise ou muda, que é um fenômeno de mudança de tegumento dos artrópodes (GALLO et al., 2002; NOH et al., 2018; ZHU et al., 2016). Para compreender o processo da muda dos insetos, é preciso entender a composição do seu tegumento (FIGURA 1), que segundo Gallo et al. (2002), é formado por três partes:

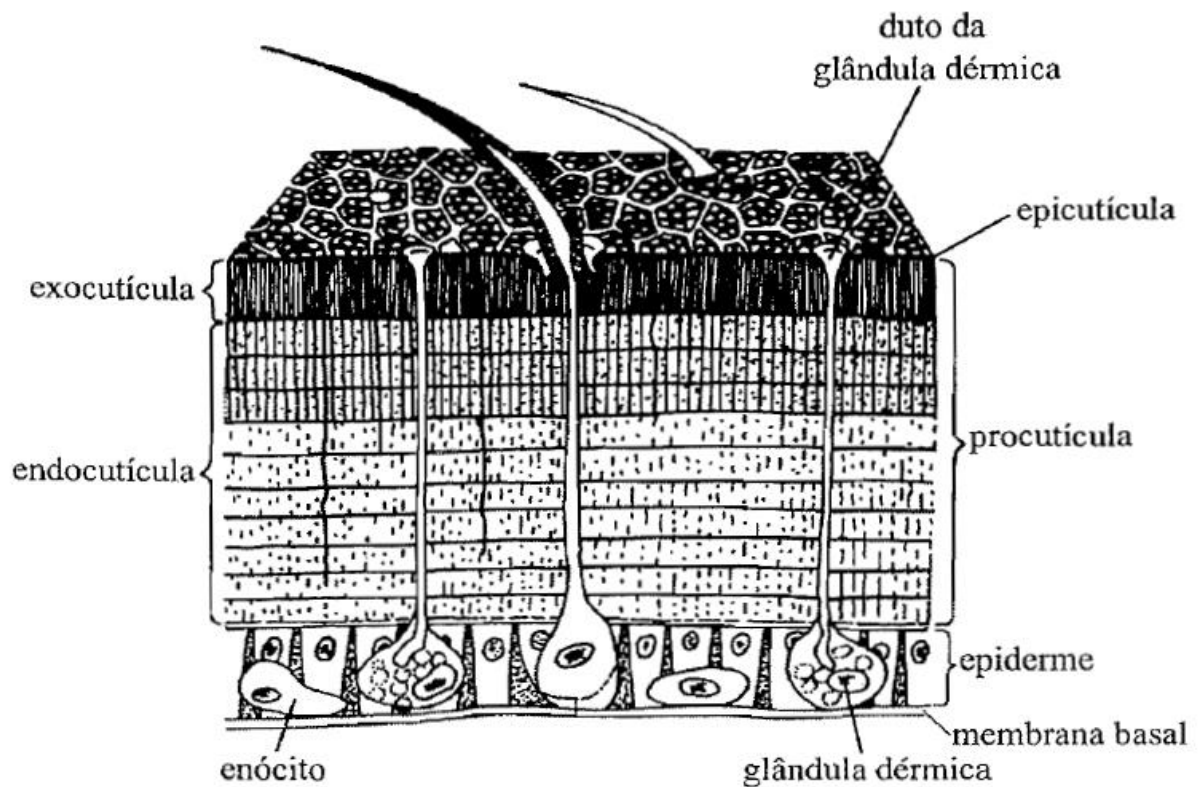
- a) **membrana basal**; camada de polissacarídeos secretada por um tipo de hemócitos², que separa a epiderme da hemocele³ e é penetrada por nervos e traqueias;
- b) **epiderme**; camada simples de células secretoras de enzimas e células especializadas, responsável pela produção da nova cutícula e digerir partes da antiga;
- c) **cutícula**; formada pelas secreções das células da epiderme que são depositadas na superfície externa do corpo do inseto e se solidificam formando o exoesqueleto. É composta pela epicutícula e procutícula:

² Hemócitos são células circulantes do sangue, hemolinfa em insetos (MIRANDA et al., 2013).

³ Hemocele cavidade por onde flui a hemolinfa (MICHAELIS, 2019).

- *epicutícula*, parte não quitinosa que atua como uma barreira contra a perda de água por evaporação, principalmente, durante a muda. Constituída, de dentro para fora, da camada de cuticulina, secretada pelos enócitos⁴, da camada de polifenóis e da camada de ceras, derivadas diretamente de secreções das células epidérmicas, além da camada de cimento, que é produto das glândulas dérmicas⁵;
- *procutícula*, parte quitinosa, dividida em *exocutícula* e *endocutícula*, tendo ambas, em sua composição, o glucosamino quitina, que está sempre associado com proteínas (por ligações covalentes de agentes oxidativos – quinonas) ou outros materiais complexos.

Figura 1 – Estrutura do tegumento de um inseto



Fonte: Adaptado de Gallo et al. (2002).

Em resumo, nos artrópodes a ecdise desenvolve-se a partir da formação de um descolamento entre a velha e a cutícula emergente, formando um espaço exuvial que é progressivamente preenchido por uma secreção, o fluido exuvial, rico em quitinases e proteinases, que dissolve apenas a endocutícula (GRIMALDI; ENGEL, 2005). Externamente,

⁴ Enócitos são inclusões epidérmicas apenas de insetos, que produzem uma lipoproteína (GALLO et al., 2002).

⁵ Glândulas dérmicas, também inclusões epidérmicas responsáveis pela formação da camada de cimento da epicutícula (GALLO et al., 2002).

no corpo do inseto, há as chamadas linhas de ecdise, por onde o tegumento fragilizado se abre e permite a saída do inseto através de movimentos musculares abdominais; o material despreendido na muda é agora chamado de *exúvia*, o qual, é formado pela exocutícula e epicutícula intactas (GALLO et al., 2002).

Após a liberação da exúvia, o inseto começa a deglutir água e/ou ar, contrair as musculaturas para elevar a pressão sanguínea possibilitando a expansão da nova cutícula, que ainda é mole e flexível, enquanto, que a epiderme realiza nova produção da epicutícula. Contudo, o novo tegumento escurece pela pigmentação na camada de polifenóis, e endurece pela formação dos complexo de quitina com as proteínas (GALLO et al., 2002).

2.2.1 *Tenebrio molitor*

Como fonte de alimento, as proteínas animais transformadas derivadas de 7 espécies de insetos de criação, foram autorizadas pela Comissão Europeia, para utilização em alimentos para peixes (Anexo II do Regulamento 2017/893, de 24 de maio de 2017)⁶. Entre as espécies liberadas temos as larvas de *Tenebrio molitor* L., 1758, as quais, são fáceis de serem cultivadas com restos mortais de animais, plantas de baixo valor nutritivo e até mesmo em resíduos de poliestireno (HENRY et al., 2018; MARIOD; MIRGHANI; HUSSEIN, 2017; YANG et al., 2017).

Essa espécie, também tem como perfil apresentar metamorfose completa (ovo, larva, pupa e adulto) e pertencer a Ordem Coleoptera, Família Tenebrionidae e Género Tenebrio. Outra característica observada, de acordo com Park et al. (2014), que antes do surgimento da pupa, a maioria das larvas dessa espécie, cultivadas nas melhores condições, passam por 17 ínstaes⁷ em média. Quanto a cor e comprimento, os animais adultos (besouros) apresentam coloração escura, brilhante e medem de 15 a 17 mm, enquanto que, no estágio larval medem até 30 mm e a coloração varia ao longo dos ínstaes, gradualmente, da branca, amarela a marrom (GALLO et al., 2002; PARK et al., 2014).

Sendo assim, correlacionando as características do *T. molitor*; mencionadas acima, com os aspectos fisiológicos dos insetos descritos na sessão anterior, esta espécie dispõe das condições ideais para servir como fonte de matéria prima de quitina, através da sua exúvia

⁶ Informação do regulamento, obtido em: Comissão Europeia e Direção-Geral da Saúde e da Segurança dos Alimentos (2017).

⁷ Ínstaes são os estágios entre as mudas, desde a eclosão da larva até o fim da última fase larvar (EIZEMBERG, 2006).

larval. Acarretando na redução de impacto negativo ao meio ambiente; causado pelo acúmulo crescente desse material biológico na produção comercial de suas larvas; que é cada vez maior; levando a uma atividade mais sustentável.

Ao mesmo tempo, se torna necessário o desenvolvimento de estudos científicos que estabeleçam alguns coeficientes básicos, do seu uso na alimentação animal, como por exemplo, o nível de inclusão ideal na dieta dos animais piscícolas e suas respostas produtivas, como os parâmetros de desempenho (conversão alimentar, taxa de crescimento, etc.).

2.2.2 *Quitina*

Entre os polissacarídeos naturais, a quitina gerou considerável interesse de pesquisa graças à sua biocompatibilidade e abundância. Entre os biopolímeros, a quitina e sua forma desacetilada, a quitosana (ver sessão 3.2.3), estão atraindo amplo interesse graças às suas propriedades não tóxicas, biodegradáveis, comestíveis, biocompatíveis, antioxidantes, antimicrobianas, termicamente estáveis, antioncogênicas, e por possuírem superfície nanofibrosa e porosa (KAYA et al., 2016, 2017; ROBLES et al., 2016).

Inclusive, é considerada o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza após a celulose, pois pode ser encontrado em mais de 70% de todos os organismos vivos do mundo, e é um dos principais componentes do exoesqueleto dos insetos (GONIL; SAJOMSANG, 2012; KAYA et al., 2017; ZHU et al., 2016). De acordo com Kaya et al. (2017) esse polissacarídeo possui diferentes estruturas cristalinas altamente ordenadas nas formas alomórficas designadas como α , β e γ .

No tegumento de insetos ela não existe de forma isolada, apenas combinada no complexo proteico, especificamente na cutícula, que é composta por quitina, melanina e proteínas (GALLO et al., 2002; HACKMAN, 1953; NEMTSEV et al., 2004; NOH et al., 2018). No procedimento de extração, a matriz quitinosa é separada fazendo-se o uso de produtos químicos em condições brandas (KAYA et al., 2016).

Quanto a sua degradação é realizada por métodos químicos mais intensos ou enzimáticos (pelas enzimas quitinase e quitobiase), dando forma a seus derivados quitoooligosacarídeo, acetilglucosamina ou quitosana (FINES; HOLT, 2010; KIM; RAJAPAKSE, 2005; LIN et al., 2012; LINDSAY et al., 1984; SHIAU; YU, 1999). No entanto, esses processos (extração e degradação) podem aumentar substancialmente os custos alimentares, caso sejam efetivados para melhorar a digestibilidade da quitina de uma ração (HENRY et al., 2015).

Alguns peixes apresentam as enzimas quitinolíticas (independente do hábito alimentar), a enzima quitinase encontrada no estômago e pâncreas age na quebra do complexo proteico da cutícula dos insetos, enquanto a quitobiase, presente no intestino, desempenha um papel nutritivo (absorção de nutrientes) (FÄNGE et al., 1979; FINES; HOLT, 2010; KONO; MATSUI; SHIMIZU, 1987; LINDSAY et al., 1984).

Segundo Lindsay et al. (1984), o crescimento de alevinos de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentada com dietas contendo 4; 10 e 25% de quitina, foi significativamente menor quando comparado com a dieta controle contendo 25% de amido. Também obtiveram evidências de uma origem endógena das enzimas quitinase e quitobiase no trato gastrointestinal da truta, e a presença de antibióticos ou bactérias quitinolíticas vivas (*Vibrio alginolyticus*) na dieta não teve efeito sobre a digestibilidade da quitina.

Conforme Fines e Holt (2010), em juvenil de *Rachycentron canadum* só se detectou quitinase e a quitobiase no estômago e ambas foram significativamente semelhantes com os tratamentos com antibióticos (controle), sugerindo assim substancial produção endógena e que a atividade, se alguma, de bactérias quitinolíticas não é significativa. O teste de digestibilidade da ração contendo 3 e 10% de quitina de crustáceos apresentaram resultados elevados.

No estudo de Kono, Matsui e Shimizu (1987) foi feita a suplementação de quitina e quitosana a 0 e 10% para juvenis de *Seriola quinqueradiata*, *Pagrus major* e *Anguilla japonica*. A quitina proporcionou a maior taxa de crescimento, e a eficiência alimentar da *A. japonica* e da *S. quinqueradiata* foram superiores. O estudo ainda demonstra que a inclusão de 10% de quitosana na dieta deve ter inibido os processos envolvidos com a digestão, absorção e assimilação da dieta basal, e foi detectada quitinase no estômago dos três tipos de peixes.

Em Shiau e Yu (1999), verificaram os efeitos em alevinos de tilápia híbrida (*O. niloticus* × *O. aureus*) da alimentação com quatro níveis de inclusão de quitina e quitosana (0; 2; 5 e 10%). Foi observado, menores ganhos de peso corporal e conversão alimentar nos peixes alimentados com dietas contendo quitina e quitosana do que com o controle, independentemente do nível de suplementação. Os autores concluíram que a suplementação de quitina e quitosana reduz o crescimento de tilápias.

Por fim, em Gopalakannan e Arul (2006) verificaram que alevinos de carpa comum (*Cyprinus carpio*), submetidos a suplementação de quitina e quitosana a 1%, apresentaram crescimento significativo em todos os peixes tratados com destaque para a quitosana. Resposta semelhante foi observada na resposta imune (desafiado com *Aeromonas hydrophila*)

dos peixes, onde a ingestão de quitosana na dieta aumentou o sistema imunológico inato e a sobrevivência dos animais, nesse mesmo estudo.

2.2.3 *Quitosana*

A quitosana é um amino-polissacarídeo natural derivado da quitina, industrialmente produzido a partir da desacetilação alcalina (40-50% NaOH) da quitina (EL KNIDRI et al., 2018). Esse polissacarídeo tem sido amplamente utilizado em diversas aplicações devido à sua origem natural e propriedades excepcionais como biocompatibilidade, biodegradabilidade, não-toxicidade e quelação de íons metálicos (AL-MANHEL; AL-HILPHY; NIAMAH, 2016; EL KNIDRI et al., 2018; HASSAINIA; SATHA; BOUFI, 2017). Mas, de acordo com Verlee, Mincke e Stevens (2017) o modo de ação da quitosana e seus derivados nem sempre é claro.

A diferenciação da quitina e quitosana é feita pelo grau de desacetilação, o qual, juntamente com o peso molecular, são as características químicas mais importantes e que podem influenciar o desempenho da quitosana em muitas das suas aplicações (EL KNIDRI et al., 2018; HASSAINIA; SATHA; BOUFI, 2017; VERLEE; MINCKE; STEVENS, 2017).

Em laboratório, a quitosana é geralmente preparada por um método termoquímico, consumindo tempo, energia e reagentes; passando-se pelas etapas de desmineralização, despigmentação, desproteínação e desacetilação (BEZERRA, 2015; EL KNIDRI et al., 2018).

No processo de obtenção a partir da exúvia de blatódeos⁸, a solução de NaOH 50% a 120 °C dissolve os componentes da cutícula, as proteínas e lipídeos, exceto a quitina e esta é convertida em quitosana, fazendo-se desnecessário as etapas de desmineralização e despigmentação; e as etapas de desproteínação e desacetilação acontecem ao mesmo tempo (BEZERRA, 2015).

Já em resíduos de pesca a síntese de quitosana envolve três etapas principais, desproteínação (NaOH 3-5%), desmineralização (HCl 3-5%) e desacetilação (KOH ou NaOH 40-50%) (EL KNIDRI et al., 2018; KUMARI et al., 2017). Tendo um gasto maior de reagentes, lavagens e tempo do que comparados com o processo realizado em insetos (BEZERRA, 2015).

Atualmente os estudos são mais avançados e em maior número com a quitosana, em suas variadas aplicações, do que com a quitina seu precursor. Entretanto, como a quitina,

⁸ Blatódeos são comumente conhecidos como baratas (BEZERRA, 2015).

ainda se faz necessário estudar seus efeitos como aditivo alimentar nos animais de produção, em especial aos peixes, que vem ganhando um grande espaço mercadológico. Ademais, se essa quitosana for oriunda de exúvia de insetos, como apontado em Bezerra (2015), o seu processamento tornasse-a mais cômodo, prático e econômico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi realizado na Estação de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e no Laboratório de Pesquisa Animal (LPA/DZO), Lavras, MG. O mesmo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais UFLA, certificado pelo Protocolo nº 008/12.

3.1 Tratamentos e delineamento experimental

Foram selecionados 136 alevinos de tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.) com peso médio e desvio padrão iniciais de $4,13 \pm 0,34$ g; do setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da UFLA. Para serem submetidos a um ensaio alimentar com duram de 36 dias. Esses animais foram aclimatados e introduzidos ao sistema de recirculação fechado com controle termostático de temperatura da água média de $27,91 \pm 0,83$ °C; e fotoperíodo controlado de 12 h (luz⁹ e escuro).

Os peixes foram distribuídos em 34 aquários de vidros, com volume d' água de 8,6 L; suas laterais maiores (opostas) foram vedadas com folhas de isopor branco, para impedir a visualização dos indivíduos de uma parcela experimental a outra.

O delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) foi adotado, compondo 5 tratamentos e 7 parcelas experimentais para cada uma das dietas de exúvia larval de *T. molitor* não tratada e 6 para a tratada (TABELA 1). O nível de inclusão de 3% da exúvia tratada (quitosana) é o nível médio dos não tratados.

Tabela 1 – Identificação dos tratamentos em seus respectivos níveis de inclusão de exúvia larval do *T. molitor*, não tratada e tratada com NaOH 50%, nas dietas dos alevinos de tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.)

Tratamentos (1)	Níveis de inclusão [%]	Tratado com NaOH 50% (2)
T1	0,0	-
T2	1,5	Não
T3	3,0	Não
T4	4,5	Não
T5	3,0	Sim

Fonte: Do autor (2019).

(1) Identificação dada para cada um dos tratamentos.

(2) Solução de hidróxido de sódio, utilizada para promover a desacetilação da quitina para quitosana, presente na exúvia larval do *T. molitor*.

⁹ Luz oriunda de lâmpadas fluorescentes tubulares cor branca dispostas logo acima dos aquários.

3.2 Preparo dos ingredientes e das rações experimentais

As rações experimentais fornecidas aos animais foram formuladas de acordo com a exigência da espécie e fase de desenvolvimento (TABELA 2). Os ingredientes utilizados no preparo, que possuíam em seu estado natural granulometria alta, foram moídos e peneirados para uniformização.

Tabela 2 – Composição e análises aproximadas das rações experimentais com níveis crescentes de inclusão da exúvia do *T. molitor*, não tratada e tratada

	Tratamentos				
	T1	T2	T3	T4	T5
Ingredientes [%]					
Farinha de peixe	13,00	13,00	13,00	13,00	13,00
Exúvia de <i>T. molitor</i>	-	1,50	3,00	4,50	-
Exúvia de <i>T. molitor</i> tratada (1)	-	-	-	-	3,00
Caulim	4,50	3,00	1,50	-	1,50
Farelo de Soja	26,00	26,00	26,00	26,00	26,00
Milho moído	27,10	27,10	27,10	27,10	27,10
Amido de Milho	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Glúten de Milho	9,00	9,00	9,00	9,00	9,00
Farelo de Trigo	9,55	9,55	9,55	9,55	9,55
BHT (2)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Óleo de soja	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Premix Min. e Vit. (3)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Lisina	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Metionina	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição calculada (4)					
Proteína bruta [%]			30,43		
Energia Bruta [kJ/g] (5)			16,88		
Fibra bruta [%]			3,98		
Extrato etéreo [%]			8,20		
Proteína Digestível [%]			28,04		
Energia Digestível [kJ/g]			13,40		
PD / ED (6)			2,09		

Fonte: Do autor (2019).

(1) Material teste tratado com NaOH 50%, ver Tabela 1.

(2) Hidroxitolueno butilado (antioxidante).

(3) Premix mineral e vitamínico: Vit. A = 500.000 UI; Vit. D3 = 250.000 UI; Vit. E = 5.000 mg; Vit. K3 = 500 mg; Vit. B1 = 1.500 mg; Vit. B2 = 1.500 mg; Vit. B6 = 1.500 mg; Vit. B12 = 4.000 mg; ácido fólico = 500 mg; pantotenato de cálcio = 4.000 mg; Vit. C = 10.000 mg; biotina = 10 mg; colina = 10.000 mg; ácido nicotínico = 24.000 mg; Fe = 5.000 mg; Cu = 1.000 mg; Mn = 1500 mg; Zn = 9.000 mg; I = 200 mg; Co = 10 mg e Se = 30 mg.

(4) A mesma para todos os tratamentos.

(5) Valor calculado de acordo com NRC (2011).

(6) PD / ED: relação proteína digestível / energia digestível.

3.2.1 Preparo da exúvia do *T. molitor*

A exúvia larval do *T. molitor* doada in natura pela empresa Vidaproteína Industria e Comercio Ltda., passou por uma série de procedimentos antes da confecção das rações. A seguir, serão listados cada uma das metodologias realizadas em ordem de execução:

- a) *moagem*, feita com o auxílio de um moinho de bolas tipo Bond capacitado em 21 L de volume útil, até obter um aspecto de pó fino; nos primeiros 30 min foi mantido uma velocidade de rotação de 80 rpm, logo após, reduzida para 60 rpm por mais 30 min e para finalizar a velocidade rotacional foi reduzida a 50 rpm durante 3 h;
- b) *autoclavagem*, todo o material moído foi autoclavado durante um ciclo de uma autoclave analógica de mesa;
- c) *tratamento com NaOH 50%*, em apenas uma porção do material autoclavado, que foi dividido em duas partes:
 - 225 g destinado ao tratamento com NaOH 50%, baseando-se na metodologia descrita em Marei et al. (2015) com modificações;
 - o restante foi destinada para a confecção das rações sem passar por esse tratamento, ver Tabela 1.

Na preparação de quitosana, a quitina é tratada com NaOH 50% (15 mL/g) a 100 °C durante 8 h (MAREI et al., 2015). Essa solução de hidróxido de sódio (NaOH 50%), foi utilizada com a mesma proporção, para causar a desproteinação e desacetilação (remoção do grupo acetila da quitina) em 225 g de exúvia larval do *T. molitor* autoclavada, resultando assim em quitosana, que neste estudo rendeu 18,67%.

A mistura gerada foi aquecida em banho-maria a 96 °C por 8 h, agitada algumas vezes ao longo desse tempo para promover uma reação homogênea. Logo após, deu-se início a filtragem; sendo indispensável o uso da bomba de vácuo; o resíduo foi lavado repetidas vezes com água deionizada quente (cerca de 80 °C) até a neutralidade. E no final, o material resultante (quitosana) foi seco em estufa a 50 °C por 24 h e reservada para a produção de uma das rações experimentais, como ingrediente teste, ver Tabela 1.

3.3 Manejo

Os parâmetros limnológicos foram aferidos diariamente durante o período experimental para o controle da qualidade da água. Para a medição de pH, amônia e nitrito utilizou-se kit colorimétrico, e para a temperatura utilizou-se termômetro de mercúrio.

A quantidade de ração diária fornecida foi calculada baseando-se no fornecimento de uma taxa diária de 4% do peso vivo (PV) do animal. A pesagem das rações foi efetuada semanalmente, depois da segunda refeição diária, nas quantidades estimadas na aplicação da equação abaixo, que de acordo com (SILVA, 2016) estima o ganho diário da biomassa total dos peixes do viveiro (EQUAÇÃO 1).

$$GPD = 0,18 \times W^{0,66} \quad (1)$$

Onde:

GPD = ganho de peso diário [g];

W = massa corporal dos peixes [g].

Considerando os resultados dos ganhos de peso previsto, calculou-se o peso final para o período de uma semana e multiplicando-se esse resultado pelo número de peixes, obtendo-se a biomassa semanal, o que permitiu estimar a quantidade de ração a ser ofertada semanalmente por aquário.

O arraçoamento foi realizado três vezes ao dia às 7, 13 e 17 h (fixamente), conforme a biomassa de cada parcela (pré-calculada) e o comportamento animal (se estavam receptivos ou não ao alimento).

3.4 Desempenho dos animais

No início e ao final do experimento fez-se a biometria dos peixes com auxílio de balança de precisão digital e paquímetro mecânico universal. A balança foi usada para pesar as rações e a massa corporal dos animais, e com o paquímetro aferiu-se a altura da cabeça (HA) e os comprimentos corporais total (CT) e padrão (CP), esse último medido entre a extremidade anterior da cabeça e a inserção da nadadeira caudal.

Com esses dados, calculou-se a:

- a) conversão alimentar aparente (CA), de acordo com a Equação 2;

$$CA = \frac{CR}{GP} \quad (2)$$

Onde:

CA = conversão alimentar aparente;

CR = consumo de ração [g] no tempo de experimento [d];

GP = ganho em peso [g] no tempo de experimento [d].

- b) taxa de crescimento específico (TCE), utilizando-se a Equação 3;

$$TCE = \left(\frac{\ln PMF - \ln PMI}{t} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde:

TCE = taxa diária de crescimento específico [%];

PMF = massa corporal média final [g];

PMI = massa corporal média inicial [g];

t = tempo de experimento [d].

- c) ganho de peso médio final (GPMF) e o diário (GPMD);
- d) consumo médio diário de ração (CMD);
- e) diferença média da HA e dos comprimentos corporais, CT e CP.

Além de todos esses dados acima calculados, também foi quantificado as mortes ao longo de todo o experimento, e calculou-se a taxa de sobrevivência (TS) pela Equação 4.

$$TS = \frac{N_f}{N_i} \times 100 \quad (4)$$

Onde:

TS = taxa de sobrevivência [%];

N_f = número da população final;

N_i = número da população inicial.

Por fim, no final do ensaio de alimentação, todos os animais sobreviventes foram eutanasiados em banho de imersão numa solução aquosa (10 g/L) do anestésico benzocaína diluída em álcool, e executada a biometria final (procedimento já descrito no 1º parágrafo desta mesma seção). Logo após, sucedeu a dissecação dos peixes, para a coleta dos órgãos. Os fígados e as vísceras foram pesados para calcular os índices hepatossomático (IHS) e viscerossomático (IVS), respectivamente de cada animal (EQUAÇÃO 5).

$$IS = \left(\frac{O}{M} \right) \times 100 \quad (5)$$

Onde:

IS = índice correspondente, IHS ou IVS [%];

O = massa do órgão correspondente, fígado ou vísceras [g];

M = massa corporal final [g].

3.5 Análise estatística

Foi feita a aplicação do teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) para verificação da normalidade dos dados, usando o software Past 3.22¹⁰. Os dados normais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) pelo teste “F” ao nível de 5% de significância e os anormais pelo teste de Kruskal-Wallis com mesma significância. Para casos de diferenças significativas entre os tratamentos, ranquear-se-ia as médias aplicando o teste de Tukey a 5%.

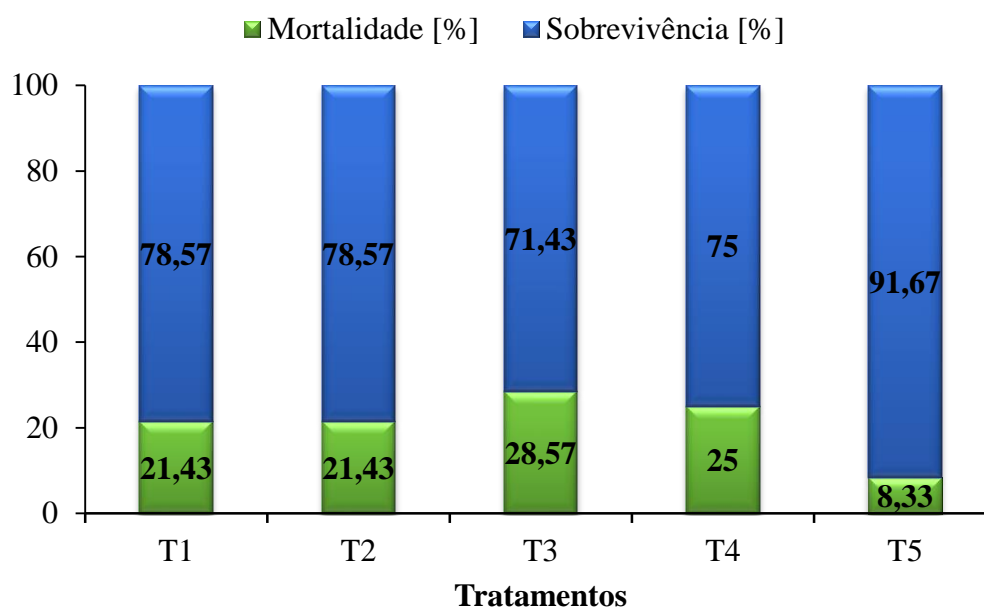
¹⁰ Software Past 3.22 elaborado por Hammer, Harper e Ryan (2001).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Taxa de sobrevivência

Ao longo de todo ensaio de alimentação foi presenciado uma certa agressividade (perseguição e canibalismo) entre os animais, causando sérios ferimentos ou mesmo óbito de alguns. Em destaque, a maior TS observada (91,67%) foi a do tratamento com quitosana (T5), sendo que, os demais não atingiram 80% nas mesmas condições de cultivo (FIGURA 2).

Figura 2 – Taxa de Sobrevivência e mortalidade relativa dos alevinos de tilápia vermelha (*Oreochromis sp.*) alimentados com ração contendo exúvia de *T. molitor*.



Fonte: Do autor (2019).

No gráfico da Figura 2 nota-se um padrão linear na mortalidade entre os indivíduos alimentados apenas com exúvia não tratada (1,5; 3 e 4,5%) e controle (0%). Podendo indicar uma não influência da exúvia larval de *T. molitor* no comportamento social das tilápias vermelhas, que viesse há possibilitar uma menor mortalidade na fase de desenvolvimento estudado (alevinagem). Nessa fase em questão os animais mais jovens se encontram suscetíveis imunologicamente e são frequentemente submetidos a agentes estressantes externos como o transporte.

No entanto, o tratamento com quitosana demonstrou dar indícios de uma ação benéfica no organismo desses animais, refletindo no convívio social menos turbulento com outros indivíduos semelhantes. Esse efeito benéfico da ação da quitosana também foi observado por

Gopalakannan e Arul (2006), suplementando 1% de quitosana na dieta de alevinos de *C. carpio*, aumentou a atividade do sistema imunológico inato e a sobrevivência dos animais.

4.2 Desempenho produtivo dos animais

Não houve diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos para nenhum dos parâmetros avaliados ($p > 0,05$) (TABELA 3). Ainda assim, neste estudo todos os animais apresentaram ganho de massa corporal e nenhuma aversão ao alimento (TABELA 4).

Tabela 3 – Resultados das análises de variância, nos parâmetros de desempenho dos alevinos de tilápia vermelha (*Oreochromis sp.*) submetidos a cinco tratamentos alimentares

	GPMF	GPMD	CMD	CA	TCE	HA	CP	CT	HSI	VSI
<i>p</i> -valor	0,80	0,80	0,22	0,87	0,84	0,76	0,38	0,85	0,98	0,65
CV [%]	19,04	19,04	5,15	20,03	12,90	14,45	11,14	12,71	30,19	9,39

Fonte: Do autor (2019).

Notas: GPMD = ganho de peso médio diário; CMD = consumo médio diário; CA = conversão alimentar aparente; TCE = taxa de crescimento específico; HA = altura da cabeça; CP = comprimento corporal padrão; CT = comprimento corporal total; IHS = índice hepatossomático; IVS = índice viscerossomático e CV = coeficiente de variação.

Tabela 4 – Crescimento e morfometria de tilápias vermelhas (*Oreochromis sp.*) submetidas a tratamentos com inclusão de diferentes níveis de exúvia do *T. molitor*, não tratada e tratada

Variáveis	Tratamentos				
	T1	T2	T3	T4	T5
Pi [g]	4,22 ± 0,15	4,19 ± 0,51	3,83 ± 0,43	4,35 ± 0,21	4,07 ± 0,35
Pf [g]	14,81 ± 2,10	16,38 ± 2,88	13,40 ± 2,30	15,39 ± 1,33	14,29 ± 2,86
GPMF [g]	11,84 ± 2,49	10,47 ± 2,16	9,99 ± 2,90	11,10 ± 1,89	10,99 ± 0,62
GPMD [g]	0,33 ± 0,07	0,29 ± 0,06	0,28 ± 0,08	0,31 ± 0,05	0,31 ± 0,02
CMD [g]	1,84 ± 0,06	1,81 ± 0,12	1,73 ± 0,12	1,89 ± 0,06	1,78 ± 0,08
CA	1,43 ± 0,23	1,62 ± 0,40	1,62 ± 0,44	1,56 ± 0,27	1,46 ± 0,09
TCE [%]	3,39 ± 0,35	3,47 ± 0,46	3,81 ± 0,79	3,51 ± 0,36	3,64 ± 0,19
HA [mm]	9,26 ± 0,79	8,17 ± 1,35	8,42 ± 1,94	9,04 ± 1,31	8,88 ± 0,42
CP [mm]	27,24 ± 3,51	24,47 ± 4,08	22,91 ± 2,16	25,33 ± 2,47	25,45 ± 1,55
CT [mm]	32,43 ± 5,05	30,48 ± 4,87	29,08 ± 4,06	30,92 ± 3,90	30,57 ± 1,55
IHS [%]	2,71 ± 0,42	2,95 ± 0,86	2,47 ± 0,45	2,67 ± 0,54	2,82 ± 1,24
IVS [%]	10,31 ± 0,98	10,28 ± 0,49	10,59 ± 0,40	10,91 ± 1,04	9,65 ± 1,39

Fonte: Do autor (2019).

Notas: Pi = peso inicial médio; Pf = peso final médio; GPMF = ganho de peso médio final; GPMD = ganho de peso médio diário; CMD = consumo médio diário; CA = conversão alimentar aparente; TCE = taxa de crescimento específico; HA = altura da cabeça; CP = comprimento

corporal padrão; CT = comprimento corporal total; IHS = índice hepatossomático; IVS = índice viscerossomático.

Como apontado por Tanaka et al. (1997) e Henry et al. (2015) acredita-se que as formas matriciais de quitina (complexo proteico) podem reduzir o acesso das enzimas quitinases ou proteinases a seus substratos, acabando por impedir a absorção de proteínas e lipídios pelo intestino, reduzindo assim não apenas a digestibilidade da quitina, mas também a digestibilidade lipídica e proteica, com conseqüente redução na utilização de nutrientes e no desempenho dos peixes.

Dois estudos, usando a quitina de crustáceos, mostrou reduzir a digestibilidade da dieta e o crescimento de alevinos de truta arco-íris (*O. mykiss*) alimentada com 25% de quitina (LINDSAY et al., 1984) e de alevinos híbridos de tilápia (*O. niloticus* × *O. aureus*) com 2; 5 e 10% de quitina (SHIAU; YU, 1999). Em contraste, de acordo com Henry et al. (2015) peixes de diferentes hábitos alimentares, alimentando-se naturalmente de crustáceos, insetos ou invertebrados bentônicos mostraram uma alta digestibilidade das refeições com restos de camarão e caranguejo.

Os IHS e IVS de acordo com Santos et al. (2009) são características importantes para uma melhor avaliação das condições fisiológicas, quando o animal está sendo submetido a dietas com alimentos alternativos, pois estes podem conter relações com fatores antinutricionais presentes nesses alimentos que venham a comprometer o normal funcionamento do organismo dos peixes, causando problemas no seu metabolismo. Entretanto, neste estudo não houve alterações significativas entre esses índices, ou seja, não foi identificado anormalidade aparente que mostre alteração no metabolismo dos animais experimentais.

Enfim, diante de tudo que foi relatado recomenda-se a realização de novas pesquisas, com níveis de inclusão maiores aos que foram testados neste experimento, tanto da exúvia larval de *T. molitor* não tratada (quitina) como a tratada (quitosana). Esta última em especial, por dar indícios de promover uma ação benéfica, refletido na maior taxa de sobrevivência dos alevinos de tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.) testados.

E nessas novas pesquisas, também verificar os efeitos metabólicos promovidos por esses aditivos; juntamente com as suas possíveis ações antimicrobianas e antioncogênicas relatadas por Kaya et al. (2016, 2017) e Robles et al. (2016); nos animais de alta produção como as tilápias, em suas diferentes fases de desenvolvimento.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que a exúvia do *T. molitor* tratada ou não (quitosana e quitina, respctivamente) não altera o desempenho produtivo dos alevinos de tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.) nos níveis de inclusão testados. Mas, o tratamento com a exúvia tratada (quitosana) foi promissor aos demais tratamentos em relação a taxa de sobrevivência, dando indícios de uma ação benéfica no organismo desses animais.

REFERÊNCIAS

- AL-MANHEL, A. J.; AL-HILPHY, A. R. S.; NIAMAH, A. K. Extraction of chitosan, characterisation and its use for water purification. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, [S.l.], v. 17, n. 2, p. 186–190, Apr. 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658077X16300224>>. Acesso em: 17 out. 2018.
- AMARAL JUNIOR, H. et al. Aclimação do híbrido da tilápia vermelha *Oreochromis niloticus* sp. e utilização em ambientes marinhos como isca viva para a pesca de tunídeos. **Revista Eletrônica de Veterinária**, [S.l.], v. 11, n. 3, p. 1–16, marzo 2010. Disponível em: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310/031008.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2018.
- AZEREDO, R. et al. The European seabass (*Dicentrarchus labrax*) innate immunity and gut health are modulated by dietary plant-protein inclusion and prebiotic supplementation. **Fish & Shellfish Immunology**, [S.l.], v. 60, p. 78–87, Nov. 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1050464816307148>>. Acesso em: 13 nov. 2017.
- BEZERRA, A. M. **Prospecção quantitativa e qualitativa de uma nova fonte renovável de quitosana**. 2015. 116 p. Tese (Doutorado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica)– Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9135/tde-25022016-111721/>>. Acesso em: 18 out. 2018.
- COMISSÃO EUROPEIA; DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE E DA SEGURANÇA DOS ALIMENTOS. Regulamento (UE) 2017/893 da Comissão, de 24 de maio de 2017, que altera os anexos I e IV do Regulamento (CE) n.º 999/2001 do Parlamento Europeu e do Conselho e os anexos X, XIV e XV do Regulamento (UE) n.º 142/2011 da Comissão no que respeita às disposiç. **Jornal Oficial da União Europeia**, [S.l.], v. 60, p. 94–118, maio 2017. Disponível em: <<https://publications.europa.eu/pt/publication-detail/-/publication/d07e2398-410c-11e7-a9b0-01aa75ed71a1>>. Acesso em: 21 nov. 2018.
- EIZEMBERG, R. **Glossário entomológico brasileiro**. 2006. Disponível em: <<http://imago.ufrj.br/glossario/GEB/glossario.insecta.tv.htm>>. Acesso em: 10 jan. 2019.
- EL KNIDRI, H. et al. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 120, p. 1181–1189, Aug. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139>>. Acesso em: 17 out. 2018.
- FÄNGE, R. et al. Chitinolytic enzymes in the digestive system of marine fishes. **Marine Biology**, [S.l.], v. 53, n. 4, p. 317–321, 1979. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF00391614>>. Acesso em: 14 fev. 2019.
- FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals**. Rome, Italy: FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/documents/card/en/c/I9540EN/>>. Acesso em: 23 out. 2018.

FINES, B. C.; HOLT, G. J. Chitinase and apparent digestibility of chitin in the digestive tract of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, [S.l.], v. 303, n. 1–4, p. 34–39, May 2010. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848610001547>>. Acesso em: 17 out. 2018.

FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. 1. ed. Florianópolis, Brasil: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012.

FURUYA, W. M. NUTRIÇÃO DE TILÁPIAS NO BRASIL. **Varia Scientia Agrárias**, [S.l.], v. 3, n. 1, p. 133–150, jul. 2013. Disponível em: <<http://e-revista.unioeste.br/index.php/variascientiaagraria/article/view/5766>>. Acesso em: 23 out. 2018.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba, SP: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2002. 10 v. 920 p.

GONIL, P.; SAJOMSANG, W. Applications of magnetic resonance spectroscopy to chitin from insect cuticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 51, n. 4, p. 514–522, June 2012. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813012002413>>. Acesso em: 17 out. 2018.

GOPALAKANNAN, A.; ARUL, V. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. **Aquaculture**, [S.l.], v. 255, n. 1–4, p. 179–187, May 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848606000512>>. Acesso em: 17 out. 2018.

GRIMALDI, D.; ENGEL, M. S. **Evolution of the Insects**. New York, NY: Cambridge University Press, 2005. 227 p.

HACKMAN, R. H. Chemistry of insect cuticle. 3. Hardening and darkening of the cuticle. **Biochemical Journal**, [S.l.], v. 54, n. 3, p. 371–377, June 1953. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1268999/pdf/biochemj01096-0034.pdf>>. Acesso em: 13 fev. 2019.

HAHN, T. et al. New methods for high-accuracy insect chitin measurement. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S.l.], v. 98, n. 13, p. 5069–5073, May. 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.9044>>. Acesso em: 30 set. 2018.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia electronica**, [S.l.], v. 4, n. 1, p. 9, 22 June 2001. Disponível em: <https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/past.pdf>. Acesso em: 17 fev. 2019.

HASSAINIA, A.; SATHA, H.; BOUFI, S. Chitin from *Agaricus bisporus*: Extraction and characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 117, p. 1334–1342, Dec. 2017. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813017336814>>. Acesso em: 17 out. 2018.

HENRY, M. et al. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. **Animal Feed Science and Technology**, [S.l.], v. 203, p. 1–22, May 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840115000802>>. Acesso em: 30 set. 2018.

HENRY, M. A. et al. Effect of partial dietary replacement of fishmeal by yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae meal on the innate immune response and intestinal antioxidant enzymes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish & Shellfish Immunology**, [S.l.], v. 83, p. 308–313, Sept. 2018. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1050464818305849>>. Acesso em: 30 set. 2018.

KAYA, M. et al. Changes in physicochemical properties of chitin at developmental stages (larvae, pupa and adult) of *Vespa crabro* (wasp). **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 145, p. 64–70, Mar. 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861716301850>>. Acesso em: 17 out. 2018.

KAYA, M. et al. On chemistry of γ -chitin. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 176, p. 177–186, Aug. 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861717309529>>. Acesso em: 17 out. 2018.

KIM, S.-K.; RAJAPAKSE, N. Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 62, n. 4, p. 357–368, Sept. 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861705003449>>. Acesso em: 13 fev. 2019.

KONO, M.; MATSUI, T.; SHIMIZU, C. Effect of Chitin, Chitosan, and Cellulose as Diet Supplements on the Growth of Cultured Fish. **NIPPON SUISAN GAKKAISHI**, [S.l.], v. 53, n. 1, p. 125–129, 1987. Disponível em: <<http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.Journalarchive/suisan1932/53.125?from=CrossRef>>. Acesso em: 17 out. 2018.

KUBITZA, F.; KUBITZA, L. M. M. Tilapias: Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. Parte I. **Panorama da Aqüicultura**, [S.l.], v. 10, p. 44–53, jun. 2000. Disponível em: <<https://panoramadaaquicultura.com.br/tilapias-qualidade-da-agua-sistemas-de-cultivo-planejamento-da-producao-manejo-nutricional-e-alimentar-e-sanidade-parte-i/>>. Acesso em: 27 jun. 2018.

KUMARI, S. et al. Physicochemical properties and characterization of chitosan synthesized from fish scales, crab and shrimp shells. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 104, part. B, p. 1697–1705, May 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813016326903>>. Acesso em: 17 out. 2018.

LIN, S. et al. Dietary administration of chitooligosaccharides to enhance growth, innate immune response and disease resistance of *Trachinotus ovatus*. **Fish & Shellfish Immunology**, [S.l.], v. 32, n. 5, p. 909–913, Feb. 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105046481200071X>>. Acesso em: 13 fev. 2019.

LINDSAY, G. J. H. et al. The growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing chitin and its relationship to chitinolytic enzymes and chitin digestibility. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 37, n. 4, p. 315–334, 1984. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0044848684902977>>. Acesso em: 13 fev. 2019.

LOPES, S.; ROSSO, S. **BIO volume único**. 3. ed. São Paulo: Saraiva, 2013. 800 p.

MAREI, N. H. et al. Isolation and characterization of chitosan from different local insects in Egypt. **International journal of biological macromolecules**, [S.l.], v. 82, p. 871–877, Oct. 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813015300313>>. Acesso em: 17 out. 2018.

MARIOD, A. A.; MIRGHANI, M. E. S.; HUSSEIN, I. Chapter 50 - *Tenebrio molitor* Mealworm. In: MARIOD, A. A.; MIRGHANI, M. E. S.; HUSSEIN, I. (Org.)... **Unconventional Oilseeds and Oil Sources**. [S.l.]: Academic Press, 2017. p. 331–336. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809435-8.00050-0>>. Acesso em: 27 jun. 2018.

MENEZES, J. F. F. **Utilização agrícola de produtos e sub-produtos resultantes da aquicultura e da vermicompostagem**. 2015. 97 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrônoma)–Universidade de Lisboa, Lisboa, PT, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10400.5/9235>>. Acesso em: 5 ago. 2016.

MICHAELIS, D. **Dicionário Brasileiro da Língua Portuguesa**. [S.l.]: Melhoramentos, 2019. Disponível em: <<http://michaelis.uol.com.br/>>. Acesso em: 20 jan. 2019.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO; SECRETARIA DE APOIO RURAL E COOPERATIVISMO. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 13, DE 30 DE NOVEMBRO DE 2004**. p. 1–14, 2019. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=133040692>>. Acesso em: 8 mar. 2019.

MIRANDA, D. E. de O. et al. TIPOS CELULARES PRESENTES NA HEMOLINFA DE ADULTOS DE *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE). In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, XIII, 2013, Recife. **Anais...** Recife: UFRPE, 2013. p. 3. Disponível em: <<http://www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R0224-2.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 2019.

NEMTSEV, S. V. et al. Isolation of Chitin and Chitosan from Honeybees. **Applied Biochemistry and Microbiology**, [S.l.], v. 40, n. 1, p. 39–43, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1023/B:ABIM.0000010349.62620.49>>. Acesso em: 15 fev. 2019.

NOH, M. Y. et al. A chitinase with two catalytic domains is required for organization of the cuticular extracellular matrix of a beetle. **PLOS Genetics**, [S.l.], v. 14, n. 3, p. 1–21, Mar. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007307>>. Acesso em: 30 set. 2018.

NRC. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. Washington, D.C., United State of America: National Academies Press, 2011. Disponível em: <<http://www.nap.edu/catalog/13039>>. Acesso em: 30 dez. 2018.

PARK, J. B. et al. Developmental characteristics of *Tenebrio molitor* larvae (Coleoptera: Tenebrionidae) in different instars. **International Journal of Industrial Entomology**, [S.l.], v. 28, n. 1, p. 5–9, Mar. 2014. Disponível em: <<http://doi.org/10.7852/IJIE.2014.28.1.5 TT> - Developmental characteristics of *Tenebrio molitor* larvae (Coleoptera: Tenebrionidae) in different instars>. Acesso em: 11 fev. 2019.

PASSOS, B. **Tilápias**. 2011. Disponível em: <<http://zootecniae10.blogspot.com.br/2011/07/tilapias.html>>. Acesso em: 26 jul. 2016.

PEIXE BR. **ANUÁRIO PeixeBR da Piscicultura 2018**. São Paulo, SP: Associação Brasileira da Piscicultura, 2018. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario2018/>>. Acesso em: 23 out. 2018.

PHILIBERT, T.; LEE, B. H.; FABIEN, N. Current Status and New Perspectives on Chitin and Chitosan as Functional Biopolymers. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, New York, NY, v. 181, n. 4, p. 1314–1337, Oct. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12010-016-2286-2>>. Acesso em: 13 nov. 2017.

ROBLES, E. et al. Self-bonded composite films based on cellulose nanofibers and chitin nanocrystals as antifungal materials. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 144, p. 41–49, Feb. 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861716300807>>. Acesso em: 17 out. 2018.

SANTOS, E. L. et al. Níveis de farelo de coco em rações para alevinos de tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, [S.l.], v. 10, n. 2, p. 390–397, abr./jun. 2009. Disponível em: <<http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/viewFile/1194/820>>. Acesso em: 17 fev. 2019.

SCHWARZ, K. K. et al. Mananoligossacarídeo em dietas para larvas de tilápia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [S.l.], v. 40, n. 12, p. 2634–2640, dez. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982011001200003&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 23 out. 2018.

SCHWARZ, K. K. et al. PROBIÓTICO, PREBIÓTICO E SIMBIÓTICO NA NUTRIÇÃO DE ALEVINOS DE TILÁPIA DO NILO *Oreochromis niloticus*. **Archives of Veterinary Science**, [S.l.], v. 21, n. 2, p. 43–51, nov. 2016. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/44179/29568>>. Acesso em: 18 out. 2018.

SHIAU, S.-Y.; YU, Y.-P. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. **Aquaculture**, [S.l.], v. 179, n. 1–4, p. 439–446,

Sept. 1999. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848699001775>>. Acesso em: 17 out. 2018.

SILVA, D. M. DA. **Produção de tilápia do Nilo e alface em sistema aquapônico**. 2016. 49 p. Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação em Engenharia Agrônômica) –Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

SOMERVILLE, C. et al. **Small-scale aquaponic food production: Integrated fish and plant farming**. Rome, Italy: FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014. Disponível em: <<http://www.fao.org/in-action/globefish/publications/details-publication/en/c/338354/>>. Acesso em: 27 jul. 2016.

TANAKA, Y. et al. Effects of chitin and chitosan particles on BALB/c mice by oral and parenteral administration. **Biomaterials**, [S.l.], v. 18, n. 8, p. 591–595, 1997. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961296001822>>. Acesso em: 14 fev. 2019.

VERLEE, A.; MINCKE, S.; STEVENS, C. V. Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 164, p. 268–283, 2 Feb. 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861717301133>>. Acesso em: 17 out. 2018.

YANG, S.-S. et al. Biodegradation of polystyrene wastes in yellow mealworms (larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus): Factors affecting biodegradation rates and the ability of polystyrene-fed larvae to complete their life cycle. **Chemosphere**, [S.l.], v. 191, p. 979–989, Oct. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.117>>. Acesso em: 21 nov. 2018.

ZHU, K. Y. et al. Biosynthesis, Turnover, and Functions of Chitin in Insects. **Annual Review of Entomology**, [S.l.], v. 61, n. 1, p. 177–196, Mar. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023933>>. Acesso em: 17 out. 2018.