

AVALIAÇÃO DO STATUS ANTIOXIDANTE E MORFOLÓGICO DE INTESTINOS DE TILÁPIAS ALIMENTADAS COM FARINHA DE GRILLUS ASSIMILIS

Luisa Helena Cazarolli¹

Pedro Trabulsi Junqueira Franco²

Charles Henrique Santos³

Milena Cia Retcheski⁴

Maria Eduarda Almeida Liandro⁵

Silvia Romão⁶

Leda Battestin Quast⁷

Vania Zanella Pinto⁸

Palabras-chave: farinha de grilo; estresse oxidativo; histologia intestinal; metabolismo.

INTRODUÇÃO

O uso de ingredientes alternativos na aquicultura tem se intensificado diante da crescente demanda global por proteína animal e das limitações ambientais e econômicas associadas às fontes tradicionais, especialmente à farinha de peixe. Entre as alternativas, as farinhas de insetos têm se destacado como ingredientes sustentáveis e nutricionalmente promissores. Entretanto, seus efeitos fisiológicos em peixes, particularmente sobre o status antioxidante e a morfologia intestinal ainda não estão completamente esclarecidos. Este estudo consistiu em um projeto de pesquisa que avaliou os efeitos da substituição da farinha de peixe por farinha de grilo (*Gryllus assimilis*) em dietas para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), com enfoque nos biomarcadores de estresse oxidativo e morfologia intestinal. No contexto do EIPOS este é um trabalho que apresenta caráter inovador na área de segurança alimentar e bioeconomia e tem potencial como promotor de intercâmbio de conhecimentos e

¹ Médico veterinário (Mestrando em Saúde, Bem-estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul) - UFFS, andriel.felichak@estudante.uffs.edu.br.

² Médico veterinário - UFFS, emanuel.caon@uffs.edu.br.

³ Doutoranda em ciências veterinárias - UFMS, marquesrana@gmail.com.

⁴ Doutoranda em ciências veterinárias - UFMS, marinamarangoni7@gmail.com.

⁵ Médico veterinário (Docente), UFFS.

⁶ Médico veterinário (Docente), UFFS.

⁷ Médico veterinário (Docente), UFFS.

⁸ Médico veterinário (Docente), UFFS.

parcerias internacionais, uma vez que o desafio de tornar a aquicultura mais sustentável perpassa pelos diferentes países e instituições que integram o EIPOS.

DESENVOLVIMENTO

Diante do rápido crescimento populacional e da escassez de áreas cultiváveis, a aquicultura destaca-se como o setor de produção de alimentos com maior expansão para garantir a segurança alimentar global (FAO, 2024; Hancz et al., 2024). Contudo, a alimentação dos peixes pode representar até 70% dos custos operacionais, ameaçando a sustentabilidade econômica da atividade (FAO, 2024; Rana et al., 2009). Nesse cenário, a farinha de insetos surge como uma alternativa sustentável à farinha de peixe e à soja, devido ao seu elevado teor proteico (40–60% na matéria seca), perfil lipídico equilibrado e riqueza em micronutrientes (Van Huis, 2013; Gasco et al., 2020). Entre as espécies promissoras, o grilo (*Gryllus assimilis*) desperta interesse pelo potencial de produção em larga escala e eficiência nutricional, com estudos prévios indicando índices de conversão alimentar efetivos em alevinos de tilápia (Alfaro et al., 2019; Magara et al., 2021). No entanto, a introdução de novos ingredientes modula diretamente o trato digestivo dos peixes. Componentes como a quitina e perfis lipídicos diferenciados podem alterar a morfologia intestinal impactando a superfície de absorção de nutrientes e desencadear alterações morfológicas e respostas oxidativas locais (Lushchak, 2011; Józefiak et al., 2016). Portanto, avaliar o impacto fisiológico e a integridade tecidual do intestino sob essas dietas alternativas é fundamental para validar sua segurança e viabilidade na piscicultura intensiva.

As atividades foram conduzidas nos Laboratórios de Experimentação Animal, Bioquímica e Genética da UFFS, campus Laranjeiras do Sul/PR, sob aprovação do CEUA/UFFS (protocolo nº 2545170619). Os exemplares de *Gryllus assimilis* foram produzidos conforme Pomari-Fernandes et al. (2025), abatidos por congelamento (-80 °C), liofilizados por 24h, moídos e armazenados. Foram formuladas quatro rações isoproteicas (30% PB) e isocalóricas com diferentes níveis de inclusão da farinha de grilo (0, 8, 16 e 24%), correspondendo à substituição da farinha de peixe em 0, 33, 66 e 100%, respectivamente. O ensaio utilizou 160 juvenis de tilápia-do-nilo (*O. niloticus*) com peso médio de 10 g, distribuídos em 16 aquários de 60 L (10 peixes/aquário) (4 repetições por tratamento) em sistema fechado de recirculação com filtragem e aeração.

Após 10 dias de aclimação, os animais foram alimentados por 45 dias, três vezes ao dia até a saciedade aparente, com sifonagem dos resíduos 10 minutos após o trato. Os parâmetros de qualidade da água foram monitorados e não houve registro de mortalidade durante o período experimental.

Ao final de 45 dias, após duas horas do último trato, os peixes foram eutanasiados (150 mg/L de benzocaína; Rocha *et al.*, 2012) para a coleta do intestino anterior. Para a histologia (método adaptado de Santos *et al.*, 2021), os tecidos foram fixados em ALFAC por 24h, desidratados, incluídos em parafina e cortados a 5 µm. As lâminas foram coradas com Hematoxilina-Eosina (H.E.) e analisadas no software Image J para a mensuração da altura e contagem de vilosidades lesionadas. Para as análises bioquímicas, o tecido foi homogeneizado em tampão Tris/HCl (pH 7,4) e centrifugado a 12.000 xg por 10 min a 4 °C. No sobrenadante, quantificou-se a proteína total (Bradford, 1976) e o status antioxidante/estresse oxidativo por meio da atividade das enzimas glutathione peroxidase - GPx (Wendel, 1981), glutathione reductase - GR (Sies *et al.*, 1979), glutathione S-transferase - GST (Keen *et al.*, 1976), além dos níveis de glutathione reduzida - GSH (Sedlak; Lindsay, 1968) e peroxidação lipídica - TBARS (Federici *et al.*, 2007).

RESULTADOS, AVANÇOS E REFLEXÕES

A morfologia intestinal é um indicador sensível da eficiência absorptiva e da resposta fisiológica dos peixes à dieta. No presente estudo, a inclusão de 8%, 16% e 24% de farinha de grilo não alterou significativamente a altura ou a arquitetura geral das vilosidades, indicando manutenção da integridade estrutural do epitélio. Apesar da estabilidade morfométrica, observou-se um aumento progressivo de vilosidades lesionadas com o incremento da farinha de grilo no presente estudo. Esse padrão é consistente com trabalhos que descrevem alterações histológicas associadas a ingredientes contendo quitina, especialmente em níveis mais elevados de inclusão (Kari *et al.*, 2023). Além disso, estudos recentes demonstram que a exposição a ingredientes alternativos de insetos pode gerar lesões intestinais mesmo sem alterações morfométricas clássicas, como observado por Liu *et al.* (2023) e Ihut *et al.* (2025), que relataram infiltrado inflamatório, alterações da lâmina própria e redução de células caliciformes em dietas com altos níveis de insetos.

A suplementação com farinha de grilo alterou significativamente o estado redox intestinal das tilápias. Os grupos com 16% e 24% de inclusão apresentaram níveis elevados de TBARS, indicando peroxidação lipídica no epitélio intestinal, padrão semelhante ao reportado em peixes sob dietas com concentrações elevadas de farinha de insetos (Guerreiro et al., 2023; Yang et al., 2025). No grupo 16%, o dano oxidativo ocorreu em paralelo ao aumento isolado da GST, sem incremento de GSH, GPx ou GR. Já no grupo 24%, houve uma ativação coordenada do ciclo da glutathione, com aumento de GPx, GR e GSH; contudo, a persistência de altos níveis de TBARS e GST sugere uma sobrecarga metabólica onde a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) superou a capacidade de neutralização do sistema de defesa (Yang *et al.*, 2025).

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PROJEÇÕES

Diante dos resultados, a farinha de *G. assimilis* apresenta potencial para substituir a farinha de peixe em dietas para tilápias, no entanto induz alterações e respostas redox dependentes do nível de inclusão. Enquanto baixos níveis (8%) são bem tolerados, níveis moderados (16%) já promovem estresse oxidativo, e níveis elevados (24%) desencadeiam forte ativação antioxidante que ainda assim não impede a peroxidação lipídica, caracterizando sobrecarga metabólica. Os dados reforçam que níveis baixos a moderados representam a estratégia mais segura e eficiente para a aplicação nutricional da farinha de grilo.

Financiamento: Universidade Federal da Fronteira Sul, Fundação Araucária e CNPq Nº 18/2024 - Bolsa de Produtividade em Pesquisa – PQ (Processo Nº: 302226/2025-7).

REFERÊNCIAS

- ALFARO, A. O. *et al.* The Cricket (*Gryllus assimilis*) as an Alternative Food Versus Commercial Concentrate for Tilapia (*Oreochromis* sp.) in the Nursery Stage. **Journal of Agricultural Science**, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 97, 2019.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 72, p. 248-254, 1976.
- FAO. (2024). **The state of world fisheries and aquaculture 2024 – Blue transformation in action**. Rome: FAO.
- FEDERICI, G.; SHAW, B.; HANDY, R. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. **Aquatic Toxicology**, v. 84, n. 4, p. 415-430, 2007.

- FERNANDES, A. P. *et al.* Exploring side streams upcycling for crickets farming: Insects biology and chemical composition. **Food Bioscience**, [s. l.], v. 68, p. 106431, 2025.
- GASCO, L. *et al.* Insect and fish by-products as sustainable alternatives to conventional animal proteins in animal nutrition. **Italian Journal of Animal Science**, v. 19, n. 1, p. 360-372, 2020.
- GUERREIRO, I. *et al.* Feeding yellow worms to meagre: Effects on whole-body fatty acid profile and hepatic and intestine oxidative status. **Antioxidants**, v. 12, n. 5, p. 1031, 2023.
- HANCZ, C. *et al.* The Role of Insects in Sustainable Animal feed Production for Environmentally Friendly Agriculture: A review. **Animals**, v. 14, n. 7, p. 1009, 2024.
- IHUT, A. *et al.* From gut to fillet: Effects of *Tenebrio molitor* in fish nutrition. **Fishes**, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 468, 2025.
- JÓZEFIK, D. *et al.* Insects – A Natural Nutrient Source for Poultry – A Review. **Annals of Animal Science**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 297–313, 2016.
- KARI, Z. A. *et al.* Effect of fishmeal substitution with *Hermetia illucens* in *Betta splendens*. **Aquaculture Nutrition**, [s. l.], v. 2023, art. 6676953, 2023.
- KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Mechanism for the several activities of the glutathione S-transferases. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 251, n. 20, p. 6183-6188, 1976.
- LIU, Y. *et al.* Digestive enzyme activity and microbiota of snakehead fed cricket meal. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 304, p. 115721, 2023.
- LUSHCHAK, V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**, [s. l.], v. 101, n. 1, p. 13–30, 2011.
- MAGARA, H. J. O. *et al.* Edible crickets (Orthoptera) around the world: distribution, nutritional value, and other benefits—a review. **Frontiers in Nutrition**, [s. l.], v. 7, p. 537915, 2021.
- RANA, K. J.; SIRIWARDENA, S.; HASAN, M. R. **Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production**. Rome: FAO, 2009. (FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, n. 541).
- ROCHA, M. A. *et al.* Determinação da dose ótima de cloridrato de benzocaína na anestesia de tilápias (*Oreochromis niloticus*). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, p. 2403-2410, 2012.
- SANTOS, K. R. P. *et al.* **Manual de técnica histológica de rotina e de colorações**. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2021. Disponível em: <https://www.ufpe.br>. Acesso em: 30 out. 2025.
- SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 192-205, 1968.
- SIES, H. *et al.* Increased biliary glutathione disulfide release in chronically ethanol-treated rats. **FEBS Letters**, [s. l.], v. 103, n. 2, p. 287-290, 1979.
- VAN HUIS, A. *et al.* **Edible insects: future prospects for food and feed security**. Rome: FAO, 2013.
- WENDEL, A. Glutathione peroxidase. In: JAKOBY, W. B. (ed.). **Methods in Enzymology**. New York: Academic Press, 1981. v. 77, p. 325-333.