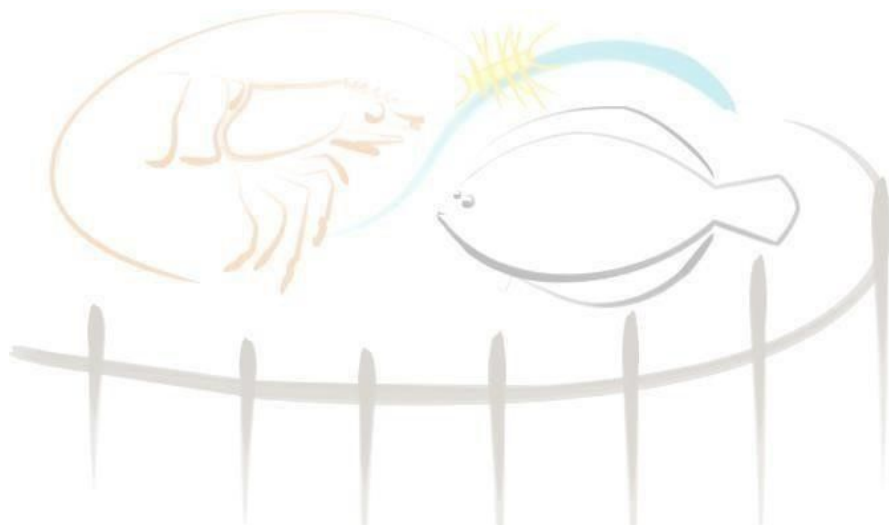


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE-FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA (IO)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



Uso da farinha do inseto *Tenebrio molitor* na alimentação de camarões (*Penaeus vannamei*) como alternativa de quimioprevenção a exposição aos microplásticos.

Diogo Pereira Chamorro

Rio Grande, RS

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE-FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA (IO)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Uso da farinha do inseto *Tenebrio molitor* na alimentação de camarões (*Penaeus vannamei*) como alternativa de quimioprevenção a exposição aos microplásticos.

Diogo Pereira Chamorro

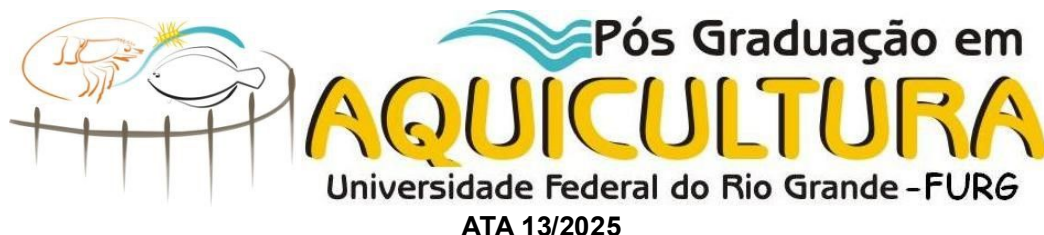
Orientadora: Profª. Dra. Juliane Ventura Lima

Coorientador: Prof. Dr. Wilson Wasielesky Junior

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Aquicultura no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande.

Rio Grande, RS

Julho, 2025



ATA DE DEFESA DA 254ª DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AQUICULTURA

No dia vinte e um de julho de dois mil e vinte e cinco, às quatorze horas, reuniu-se a Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado em Aquicultura, de **DIOGO PEREIRA CHAMORRO**, orientado pela Profa. Dra. Juliane Ventura Lima, composta pelos seguintes membros: Profa. Dra. Juliane Ventura Lima (Orientadora – ICB/FURG), Prof. Dr. Marcelo Borges Tesser (IO/FURG) e Prof. Dr. Kleber Miranda Filho (UFMG). Título da Dissertação: “**USO DA FARINHA DO INSETO *Tenebrio molitor* NA ALIMENTAÇÃO DE CAMARÕES (*Penaeus vannamei*) COMO ALTERNATIVA DE QUIMIOPREVENÇÃO A EXPOSIÇÃO AOS MICROPLÁSTICOS**”. Dando início à defesa, a orientadora do mestrando Profa. Dra. Juliane Ventura Lima, que na qualidade de presidente, passou a palavra para o candidato apresentar a Dissertação. Após ampla discussão entre os membros da Banca e o candidato, a Banca se reuniu sob a presidência da Orientadora. Durante esse encontro ficou estabelecido que as sugestões dos membros da Banca Examinadora devem ser incorporadas na versão final da Dissertação, ficando a cargo da orientadora o cumprimento desta decisão. O candidato **DIOGO PEREIRA CHAMORRO** foi considerado **APROVADO**, devendo a versão definitiva da Dissertação ser entregue a Secretaria do PPGAq, no prazo estabelecido nas Normas Complementares do Programa. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, será assinada pela Banca Examinadora, pelo candidato e pelo Coordenador do PPGAq.

Documento assinado digitalmente
gov.br JULIANE VENTURA LIMA
Data: 21/07/2025 19:18:09-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

PROFa. DRA. JULIANE VENTURA LIMA (ORIENTADORA – ICB/FURG)

Documento assinado digitalmente
gov.br MARCELO BORGES TESSER
Data: 21/07/2025 16:42:04-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

PROF. DR. MARCELO BORGES TESSER (IO/FURG)

Documento assinado digitalmente
gov.br KLEBER CAMPOS MIRANDA FILHO
Data: 21/07/2025 18:22:10-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

PROF. DR. KLEBER MIRANDA FILHO (UFMG)

Documento assinado digitalmente
gov.br DIOGO PEREIRA CHAMORRO
Data: 21/07/2025 19:33:26-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

DIOGO PEREIRA CHAMORRO

Documento assinado digitalmente
gov.br WILSON FRANCISCO BRITTO WASIELESKY JUNI
Data: 21/07/2025 17:25:47-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

PROF. DR. WILSON WASIELESKY (Coordenador em exercício PPGAq)

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	VI
AGRADECIMENTOS	VII
LISTA DE TABELAS	VIII
LISTA DE FIGURAS	IX
RESUMO	X
ABSTRACT	XII
1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	17
2.1 Geral	17
2.2 Específicos	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Obtenção e manutenção dos animais	17
3.2 Síntese e caracterização da farinha de <i>Tenebrio molitor</i>	18
3.3 Formulação e preparo das dietas utilizadas	18
3.4 Análise da composição centesimal das dietas	19
3.5 Desenho experimental	19
3.6 Monitoramento da qualidade da água	20
3.7 Desempenho zootécnico	21
3.8 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	21
3.8.1 Homogeneização das amostras	21
3.8.2 Catalase (CAT)	22
3.8.4 Glutathione reduzida (GSH)	22
3.8.5 Superóxido dismutase (SOD)	22
3.8.6 Glutathione peroxidase (GPx)	22

3.8.7 Níveis de lipídios peroxidados (TBARS).....	23
3.8.8 Análise de acumulação dos microplásticos.....	23
3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	24
4 RESULTADOS.....	24
4.1 Qualidade de água	24
4.2 Desempenho zootécnico	24
4.3 Análises bioquímicas	25
4.3.1 Atividade Catalase (CAT).....	26
4.3.2 Glutathiona reduzida (GSH)	27
4.3.3 Atividade da superóxido dismutase (SOD).....	28
4.3.4 Glutathiona peroxidase (GPx)	29
4.3.5 Níveis de lipídios oxidados (TBARS).....	30
4.3.6 Análise de acumulação dos microplásticos	31
5. DISCUSSÃO.....	32
6 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS.....	40

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho à minha família, à minha
companheira e a todos aqueles que se envolveram nesta jornada.*

AGRADECIMENTOS

Chegar até aqui foi uma jornada desafiadora, repleta de aprendizados, superações e conquistas. A cada pessoa que, de alguma forma, esteve presente nesse caminho, deixo minha sincera gratidão.

À minha orientadora, Prof^{fa}. Dr^a. Juliane Ventura Lima, pela confiança, pela orientação, pela dedicação, paciência e pela disposição em compartilhar seu conhecimento e experiência, também dividir comigo dúvidas e prazos apertados. Agradeço por ter me acompanhado (apesar das minhas perguntas incessantes) fundamentais para minha formação acadêmica e pessoal. Ao meu coorientador Prof. Dr. Wilson Wasielesky Junior, pelos ensinamentos, pela paciência, aquelas reuniões com puxão de orelha e pela confiança depositada em mim desde o primeiro dia que cheguei na Estação. Sou profundamente grato por ter tido a oportunidade de aprender com você, não apenas sobre ciência, mas também sobre ética, compromisso e dedicação ao trabalho.

Aos professores, técnicos e colegas do Projeto Camarão e do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura sou grato pelos ensinamentos e oportunidades. Ao João Pedro, obrigado pela amizade e incansáveis trocas de água. Ao time do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) a Pós doc. Larissa e a Doutoranda Gabriela por ter mantido a paciência mesmo quando o caos acadêmico tentou reinar, e por me lembrar que a ciência é feita de persistência, ajustes... e, às vezes, de café e recomeços, agradeço suas contribuições e pelo ambiente colaborativo que agregou à minha trajetória.

Aos membros da banca avaliadora, pelas leituras atentas, questionamentos, sugestões que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho.

Agradeço também às instituições que tornaram este projeto possível, em especial à FURG e à Estação Marinha de Aquicultura, pelo suporte estrutural e acadêmico. À CAPES, pelo apoio financeiro essencial para a realização deste estudo.

À minha família, que é meu alicerce, agradeço por todo amor, incentivo, compreensão e apoio incondicional. À minha companheira Fernanda Bandeira, que transformou a distância em uma das maiores provas do nosso amor. Cada conquista minha também é sua.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição centesimal (%) farinha de <i>Tenebrio molitor</i>	18
Tabela 2. Formulação da dieta basal.	19
Tabela 3. Composição centesimal das dietas.	19
Tabela 4. Parâmetros de qualidade da água (média $\pm$ desvio padrão) do <i>P. vannamei</i> nos tratamentos CTL, CTL15, CTL30, MP, MP15, MP30 durante 21 dias de experimento.	24
Tabela 5. Desempenho zootécnico (média $\pm$ desvio padrão) do <i>P. vannamei</i> nos tratamentos CTL, CTL15, CTL30, MP, MP15, MP30 durante 21 dias de experimento.	25

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Atividade Catalase (média $\pm$ erro padrão) em brânquias (a), hepatopâncreas (b), músculo (c) de juvenis de *P. vannamei* alimentados com dieta contendo diferentes níveis de *T. molitor* durante 21 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).....26
- Figura 2.** Concentração GSH (média $\pm$ erro padrão) em brânquias (a), hepatopâncreas (b), músculo (c) de juvenis de *P. vannamei* alimentados com dieta contendo diferentes níveis de *T. molitor* durante 21 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).....27
- Figura 3.** Atividade SOD (média $\pm$ erro padrão) em brânquias (a), hepatopâncreas (b), músculo (c) de juvenis de *P. vannamei* alimentados com dieta contendo diferentes níveis de *T. molitor* durante 21 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).....28
- Figura 4.** Atividade GPx (média $\pm$ erro padrão) em brânquias (a), hepatopâncreas (b), músculo (c) de juvenis de *P. vannamei* alimentados com dieta contendo diferentes níveis de *T. molitor* durante 21 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).29
- Figura 5.** Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (média $\pm$ erro padrão) em brânquias (a), hepatopâncreas (b), músculo (c) de juvenis de *P. vannamei* alimentados com dieta contendo diferentes níveis de *T. molitor* durante 21 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).....**Error! Bookmark not defined.**
- Figura 6.** Acumulação dos microplásticos nos tecidos (brânquias, hepatopâncreas e músculo) de juvenis de *P. vannamei* alimentados com dieta contendo diferentes níveis de *T. molitor* durante 21 dias. As setas indicam a posição acumulada nos diferentes tecidos.

RESUMO

No ambiente, os materiais plásticos podem sofrer ações ambientais podendo gerar partículas menores de 5 mm denominadas de microplásticos (MP). Organismos marinhos ingerem de forma accidental ou incorporado na alimentação devido ao seu pequeno tamanho. Estes podem acumular-se nos tecidos, induzindo diversos efeitos incluindo estresse oxidativo. Para minimizar o desequilíbrio redox induzido pelos MP, a adição de antioxidantes na dieta pode ser uma estratégia quimioprotetora. Uma alternativa é a utilização da farinha de insetos como a farinha de *Tenebrio. molitor* que pode melhorar a capacidade antioxidante em certas concentrações, porém não é relatado com exposição aos MP. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o uso da farinha do *T. molitor* na alimentação de camarões (*Penaeus vannamei*) como alternativa quimioprotetora a exposição aos MP. Foram formuladas 6 rações, farinha de peixe (CTL), substituição por 15% e 30% de *T. molitor* (CTL15 e CTL30, respectivamente), farinha de peixe mais (40 µg de MP-poliestireno, esférico, 1.1 µm), substituição por 15 % e 30% de *T. molitor* mais (40 µg de MP) (MP15 e MP30, respectivamente). Os animais receberam as rações durante 21 dias de experimento, ao final, os camarões foram eutanasiados para a coleta de brânquias, hepatopâncreas e músculo para posteriores análises. Os resultados demonstram que o CTL30 foi melhor para o crescimento. No hepatopâncreas a atividade da CAT foi maior nos animais expostos aos MP em ambos os níveis de inclusão de *T. molitor* (15 e 30 %) comparado com os respectivos grupos controle. Neste mesmo tecido, os níveis de GSH aumentaram no grupo controle que recebeu 15 % de inclusão, e este aumento também foi evidenciado no grupo que recebeu MP (MP15). Considerando a atividade da SOD, nas brânquias houve uma diminuição no CTL30 comprando com o CTL, enquanto em hepatopâncreas o grupo MP30 mostrou reduzida atividade da enzima comparada com o CTL30. No hepatopâncreas, a atividade da GPx no grupo CTL30 foi maior que no grupos CTL0. Em brânquias a presença da farinha reduziu os níveis de lipídeos peroxidados nos grupos CTL15 e CTL30 em comparação aos CTL0, enquanto o grupo MP30 mostrou reduzir danos lipídicos comparado com seu grupo controle (CTL30). No hepatopâncreas, o grupo CTL15 mostrou maiores níveis de danos lipídicos comparado aos grupos CTL0 e CTL30, enquanto no grupo MP15 houve redução nos níveis de danos lipídicos comparado com o respectivo grupo CTL15. Nos três tecidos

analisados, foi identificado a presença dos MP. Baseado nos resultados obtidos, pode-se observar que a substituição parcial da farinha de peixe por farinha do *T. molitor* melhora a capacidade antioxidante nos grupos controle, considerando principalmente os níveis de GSH. O uso do *T. molitor* demonstrou potencial para ativação do sistema antioxidante, sendo uma estratégia promissora de quimioprevenção na aquicultura.

Palavras-chave: crustáceo, antioxidantes, plásticos, farinha de insetos, estresse oxidativo.

ABSTRACT

In the environment, plastic materials can be subject to environmental influences, generating particles smaller than 5 mm, known as microplastics (MP). Marine organisms ingest them accidentally or through incorporation into their diet due to their small size. These can accumulate in tissues, inducing various effects, including oxidative stress. To minimize the redox imbalance induced by MP, adding antioxidants to the diet can be a chemoprotective strategy. One alternative is the use of insect meal, such as *Tenebrio molitor* meal, which can improve antioxidant capacity at certain concentrations, but has not been reported with exposure to MP. Therefore, the objective of this study was to evaluate the use of *T. molitor* meal in shrimp (*Penaeus vannamei*) feed as a chemoprotective alternative to MP exposure. Six diets were formulated: fishmeal (CTL), replaced by 15% and 30% of *T. molitor* (CTL15 and CTL30, respectively), fishmeal plus (40 µg of MP-polystyrene, spherical, 1.1 µm), replaced by 15% and 30% of *T. molitor* plus (40 µg of MP) (MP15 and MP30, respectively). The animals received the diets for 21 days of the experiment. At the end, the shrimp were euthanized for collection of gills, hepatopancreas and muscle for later analysis. The results demonstrate that CTL30 was better for growth. In the hepatopancreas, CAT activity was higher in animals exposed to MP at both levels of *T. molitor* inclusion (15 and 30%) compared to the respective control groups. In this same tissue, GSH levels increased in the control group that received 15% inclusion, and this increase was also evident in the group that received MP (MP15). Regarding SOD activity, in the gills, there was a decrease in CTL30 compared with CTL, while in the hepatopancreas, the MP30 group showed reduced enzyme activity compared with CTL30. In the hepatopancreas, GPx activity in the CTL30 group was higher than in the CTL0 group. In the gills, the presence of flour reduced the levels of peroxidized lipids in the CTL15 and CTL30 groups compared with CTL0, while the MP30 group showed reduced lipid damage compared with its control group (CTL30). In the hepatopancreas, the CTL15 group showed higher levels of lipid damage compared with the CTL0 and CTL30 groups, while in the MP15 group, there was a reduction in lipid damage levels compared with the respective CTL15 group. The presence of MPs was identified in the three tissues analyzed. Based on the results obtained, it can be observed that partial replacement of fishmeal with *T. molitor* meal improves antioxidant capacity in the control

groups, particularly considering GSH levels. The use of *T. molitor* demonstrated potential for activating the antioxidant system, representing a promising chemoprevention strategy in aquaculture.

Keywords: crustacean, antioxidants, plastics, insect meal, oxidative stress.

1 1 INTRODUÇÃO

2 A aquicultura configura-se como uma das atividades do setor de produção animal que
3 tem apresentado maior crescimento nas últimas décadas, assumindo papel relevante no
4 fortalecimento da segurança alimentar em nível global (FAO, 2024). Mesmo diante da
5 pandemia do COVID-19, a aquicultura seguiu em expansão contínua nos anos de 2020,
6 2021. Segundo a FAO a produção total em 2022, foi de 223,2 milhões de toneladas em
7 organismos aquáticos. Através dessa produção em nível de espécies destaca-se o camarão
8 branco do Pacífico (*Penaeus Vannamei*) com 6,8 milhões de toneladas, foi a espécie de
9 peneídeos mais produzida em 2022, representando cerca 53,3% da produção total de
10 crustáceos, obtendo um aumento gradual ao passar dos anos em termos de produções
11 aquícolas (FAO, 2024). Os países do Leste e Sudeste Asiático (83,4% da produção) e da
12 América Latina (16,3%) são responsáveis pela maior parte da produção de camarão
13 (FAO, 2024).

14 O *P. vannamei* é amplamente reconhecido, em função de sua elevada tolerância a
15 altas temperaturas, capacidade de adaptação a baixos níveis de salinidade, rápido
16 crescimento, resistência a doenças e elevada taxa de sobrevivência (Li *et al.*, 2022). Para
17 minimizar riscos produtores aderem por sistemas fechados ou superintensivos com maior
18 biossegurança (Moss *et al.*, 2012). Embora a aquicultura seja um setor com crescimento
19 significativo não está livre de desafios como contaminação de resíduos que permanecem
20 na coluna d'água e sedimentos da aquicultura que podem ser liberados no ambiente e,
21 portanto, representam riscos ambientais (Lai *et al.*, 2018), comprometendo o desempenho
22 zootécnico e a saúde dos camarões, resultando em aumento das taxas de mortalidade e,
23 consequentemente, expressivas perdas econômicas. Parte desse desafio inclui a
24 contaminação por plásticos, dentro da aquicultura diversos fragmentos já foram
25 detectados em sistemas de cultivo (Iheanacho *et al.*, 2023).

26 No ambiente, os materiais plásticos podem sofrer ações ambientais como radiação
27 solar, vento e ação das ondas (Prokic *et al.*, 2021), plásticos descartados no ambiente são
28 categorizados conforme sua dimensão. Plásticos de grande porte, ao serem expostos a
29 agentes ambientais tornam-se frágeis e se fragmentam progressivamente em partículas
30 menores. Classificam-se como megaplásticos os materiais com mais de (100 mm),
31 macroplásticos de (25 a 100 mm) e mesoplásticos com dimensões entre 5 e 25 mm, e os
32 microplásticos (MP) que através dessas alterações podem gerar partículas menores de

33 (5mm) (D’Costa, 2022, AMAP, 2021). As principais formas de MP encontrados em
34 ambientes aquáticos são cloreto de polivinila (PVC), o polipropileno (PP), o polietileno
35 (PE), o poliestireno (PS) e o tereftalato de polietileno (PET) (Pires *et al.*, 2022; Kim *et*
36 *al.*, 2021). Na aquicultura, os plásticos podem ser provenientes de diversas fontes como
37 de materiais usados nos sistemas bem como a própria água usada nos tanques. Durante o
38 cultivo os organismos ficam constantemente expostos, sendo que diversos materiais
39 utilizados na infraestrutura, como revestimentos dos tanques, termostatos, bandejas de
40 alimentação e aeradores, são compostos por plástico (Lusher; Hollman; Mendoza, 2017).

41 Diversos organismos marinhos, como bivalves, zooplâncton, peixes e crustáceos,
42 ingerem microplásticos (MP) de forma accidental ao confundi-los com alimento, seja a
43 partir dos sedimentos ou da coluna d’água ou até mesmo aderido na alimentação. Devido
44 ao seu pequeno tamanho, os MP podem ser ingeridos pelos organismos e causar uma série
45 de efeitos fisiológicos adversos que afetam a alimentação e o comportamento, além de
46 inibir o crescimento, desenvolvimento, causar toxicidade à reprodução, afetar diretamente
47 seu sistema imunológico e induzir danos genéticos (Seta *et al.*, 2023).

48 O acúmulo de MP a longo prazo no intestino de peixes pode resultar em inflamação
49 intestinal e estresse oxidativo, levando ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos
50 devido à disbiose da microbiota intestinal (Kang *et al.*, 2021). Além disso, a
51 bioacumulação de microplásticos no fígado de peixes tem sido associada à inflamação
52 hepática e ao estresse oxidativo elevado e alterações histopatológicas em grupos expostos
53 aos MP (Hamed *et al.*, 2021, Feng *et al.*, 2021, Seta *et al.*, 2023). A exposição tende a se
54 acumular predominantemente nas brânquias e no trato intestinal dos peixes, sendo
55 posteriormente transportados para outros tecidos essenciais por meio do sistema
56 circulatório (Kim; Yu; Choi, 2021). O acúmulo de MP também impacta
57 significativamente outros organismos aquáticos, como bivalves e crustáceos (D’costa,
58 2022; Mkuye *et al.*, 2022). De fato, Ferreira *et al.* (2025) avaliaram que a exposição aos
59 MP afeta a ostra (*Crassostrea gasar*) em diferentes tecidos como brânquias e glândulas
60 digestivas. Em *P. vannamei* após a exposição ao polietileno são ocasionados danos
61 oxidativos, e acumulação em tecidos e redução da taxa de sobrevivência (Hsieh *et al.*,
62 2021), inibição do crescimento, e redução do desempenho natatório do animal (Zeng *et*
63 *al.*, 2023). Dentre os mecanismos de toxicidade atribuídos aos MP, destaca-se o estresse
64 oxidativo que pode ser caracterizado por alterações no estado redox das células resultando

65 em danos oxidativos em macromoléculas e alterações no sistema de defesa antioxidante
66 (Jones, 2006).

67 A exposição a compostos tóxicos provoca desequilíbrios na homeostase redox,
68 resultando em uma rápida elevação dos níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO) e
69 consequente mobilização de energia para a produção de enzimas e moléculas
70 antioxidantes (Kim *et al.*, 2020). Condições estressantes em sistemas de cultivo, como
71 flutuações nos níveis de oxigênio, temperatura, amônia e salinidade, podem promover o
72 aumento na produção de espécies (Ferreiro *et al.*, 2025, Souza *et al.*, 2014; Zhang *et al.*,
73 2009), incluindo o radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e
74 radical hidroxila ($HO^{\bullet}$). Para contrabalançar esses compostos reativos, os organismos
75 dispõem de um sistema de defesa antioxidante altamente eficiente, composto por enzimas
76 como superóxido dismutase (SOD) que converte radicais superóxido em peróxido de
77 hidrogênio, catalase (CAT) é uma enzima que degrada peróxido de hidrogênio em água e
78 oxigênio (Kim *et al.*, 2019), glutathione S-transferase (GST) participa do processo de
79 detoxificação de xenobióticos e hidroperóxidos, atuando em conjugação com a glutathione
80 reduzida (GSH) e glutathione peroxidase (GPx) exercendo o papel de reduzir os níveis de
81 H_2O_2 . De forma conjunta, os sistemas enzimáticos e não enzimáticos atuam na prevenção,
82 neutralização e reparo dos danos oxidativos causados às macromoléculas, como lipídios,
83 proteínas e DNA (Halliwell & Gutteridge, 2007).

84 De acordo com Ding *et al.* (2018a), a atividade da enzima superóxido dismutase
85 (SOD) apresenta elevação em tilápias (*Oreochromis niloticus*) quando expostos a MP de
86 poliestireno (PS) como resposta do sistema antioxidante ao aumento na geração de
87 espécies reativas de oxigênio (ERO), caracterizando um quadro de estresse oxidativo.
88 Wang *et al.* (2019) demonstraram que a exposição a microplásticos de poliestireno
89 resultou na inibição da atividade da enzima catalase (CAT) em larvas de Medaka (*Oryzias
90 melastigma*), indicando que o estresse oxidativo gerado promove um desequilíbrio no
91 sistema antioxidante. Ferreiro *et al.*, (2025) relataram o aumento das atividades de SOD
92 e GST em ostras (*Crassostrea gasar*), demonstrando estresse oxidativo quando
93 combinados com a exposição ao microplástico e temperatura elevada. Em crustáceos
94 Zeng *et al.*, (2023) observaram que MP induzem estresse oxidativo e peroxidação lipídica
95 em camarões (*P. vannamei*). Entretanto, recrutar respostas antioxidantes representam um
96 alto custo energético ao organismo que a longo prazo pode comprometer outras funções

97 fisiológicas como crescimento e reprodução, podendo afetar o desempenho do cultivo.
98 Desta forma, para economizar energia endógena, a inclusão alimentar com antioxidantes
99 possa contribuir os animais a recuperar seu estado fisiológico, desenvolver seu sistema
100 de defesa e minimizar os danos causados por condições de estresse (Zheng *et al.*, 2021).

101 Uma forma viável de administrar antioxidantes para animais de cultivo é através da
102 alimentação. A adição de antioxidantes na dieta pode contribuir como estratégia
103 quimioprotetora frente ao estresse oxidativo, visto que essas substâncias são capazes de
104 interromper ou retardar as reações de oxidação (Martins *et al.*, 2018). De fato, diversos
105 compostos estão sendo testados nas rações como alternativa para melhorar o desempenho
106 e resistência dos animais frente a situações estressoras (Brol *et al.*, 2021). Um
107 antioxidante ideal deve contemplar uma série efeitos benéficos aos organismos como:
108 quelar metais que possam aumentar os níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO),
109 capacidade de atuar em meios hidrofóbicos e hidrofílicos, ter boa absorção através da
110 dieta e capacidade de modular genes envolvidos nas respostas antioxidantes (Niki, 2014).
111 Na aquicultura, o uso de antioxidantes pode atuar como substituto parcial de
112 determinados componentes da ração, contribuindo para a melhoria da qualidade
113 nutricional e a redução dos custos produtivos.

114 Segundo a (FAO, 2018) devido a combinação de tendências atuais, restrições
115 impostas por políticas agrícolas, regulamentações e a limitação dos estoques pesqueiros
116 naturais tem impulsionado, nos últimos anos, um crescimento significativo no preço de
117 matérias-primas destinada à alimentação na aquicultura, particularmente da farinha de
118 peixe e o óleo de peixe. Esses fatores têm incentivado a comunidade científica a investigar
119 alternativas proteicas e não convencionais que apresentem valor nutricional equivalente
120 a farinha de peixe, como algas, subprodutos de animais terrestres, proteínas unicelulares
121 e insetos. Boyd (2015) descreve que somente fontes alternativas de proteínas poderão
122 sustentar o rápido crescimento da aquicultura. A adoção desses ingredientes representa
123 uma estratégia viável para aprimorar o desempenho zootécnico, a conversão alimentar e
124 suprir adequadamente as exigências proteicas das espécies cultivadas.

125 Paralelamente, o aumento dos custos e as crescentes preocupações relacionadas à
126 sustentabilidade dos principais insumos tradicionais, como soja e farinha de peixe, têm
127 estimulado o interesse na utilização de insetos como uma fonte proteica promissora para
128 a nutrição animal (Sharifinia *et al.*, 2023a). Nos últimos anos, pesquisas têm demonstrado

129 que os insetos apresentam alto valor nutricional para a alimentação animal (Meneguz *et*
130 *al.*, 2018). Diversos aspectos dão suporte para impulsionar o uso de insetos como uma
131 fonte sustentável de proteína animal, sendo fonte de aminoácidos, proteínas, lipídios,
132 minerais, vitaminas e energia. De fato, o valor nutricional dos insetos é de altíssima
133 qualidade podendo ter variações entre 50,4 e 60,7% de proteína e lipídeos entre 18,9 e
134 36,1 % (Alfiko *et al.*, 2021). Obviamente, a composição nutricional dos insetos varia
135 dependendo da espécie, estágio de vida, condições de criação e dieta, tendo em vista que
136 o teor de proteína é semelhante ao da farinha de peixe (Freccia *et al.*, 2020). Além disso,
137 a farinha de insetos é rica em compostos bioativos, como quitina, ácidos graxos e
138 peptídeos com atividade antimicrobiana, que exercem efeitos probióticos e antioxidantes,
139 contribuindo para fortalecimento do sistema imunológico dos animais (Veldkamp *et al.*,
140 2022).

141 Muitos estudos centrados em testes de alimentação são realizados com o objetivo de
142 determinar como a substituição da farinha de peixe pela farinha de insetos em rações
143 aquáticas beneficia a aquicultura. Hidalgo *et al.*, (2022) relataram que a farinha da mosca
144 soldado negro (*Hermetia illucens*) promove alta capacidade antioxidante no trato
145 digestivo da Tenca (*Tinca tinca*). Aini *et al.*, (2018) descrevem uma diminuição da
146 peroxidação lipídica em respostas de crescimento e taxa de conversão alimentar em tilápia
147 (*Oreochromis niloticus*) com substituições parciais de farinha de peixe por farinha da
148 mosca soldado negro. Já a farinha da mosca doméstica (*Musca domestica*) atua sem
149 prejudicar o crescimento ou a capacidade de utilização de nutrientes ou causar estresse
150 oxidativo (Ogunji *et al.*, 2007). Em camarões não é diferente, Cao *et al.* (2012)
151 observaram em *P. vannamei*, a substituição de 40 % da farinha de peixe pela farinha de
152 mosca doméstica mantinha a composição muscular e o funcionamento das enzimas
153 digestivas sem alterações. Cummins *et al.*, (2017) citam que a farinha da mosca soldado
154 negro pode substituir até 25%, sem prejudicar o crescimento do camarão. Diversas
155 espécies de insetos são consideradas para a produção de farinha proteica para a
156 substituição, dentre elas está sendo produzida em larga-escala para uso na ração animal é
157 o *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae).

158 A criação dessa espécie não exige equipamentos sofisticados podendo ser realizada
159 em pequeno espaço (Costa Neto, 2011). Os insetos apresentam metamorfose completa,
160 dividido em 4 fases: embrião (ovos), larva, pupa e fase adulta. O ciclo de vida dessa

161 espécie dura aproximadamente de quatro a cinco meses, podendo se estender até doze
162 meses, dependendo das condições ambientais. Cada fêmea de besouro oviposita de 250 a
163 1.000 ovos, sendo que as larvas eclodem entre 10 e 15 dias. A fase larval dura em média
164 dois meses, atingindo seu tamanho máximo entre 18 e 24 mm, para posteriormente virar
165 pupa (Gkinali *et al.*, 2022). A composição nutricional do *T. molitor* varia entre 41 e 68 %
166 de proteína, enquanto o teor lipídico varia entre 14 e 38 % (Rumbos *et al.*, 2020).

167 Na aquicultura, a farinha de larvas do *T. molitor* já foi avaliada em estudos com *P.*
168 *vannamei* podendo substituir em 100 % a farinha de peixe na formulação da ração
169 ofertada (Motte *et al.*, 2019), os autores relatam que um dos benefícios mais importantes
170 deste composto é a melhoria da imunidade e resistência a doenças, o que pode resultar no
171 aumento da sobrevivência dos camarões. Zheng *et al.* (2023) avaliaram os efeitos de
172 níveis graduais de inclusão de farinha do *T. molitor* no desempenho do crescimento,
173 capacidade antioxidante, imunidade e microbiota intestinal, os resultados demonstram
174 que a substituição de 30 % da farinha de peixe por farinha de insetos aumenta o
175 desempenho do crescimento e a diversidade bacteriana intestinal, essa substituição
176 melhora a imunidade dos camarões, sendo fonte de proteína sustentável podendo reduzir
177 significativamente os custos de produção e os impactos ambientais na indústria da
178 aquicultura. Sharifinia *et al.* (2023b) descrevem que a partir de aumentos graduais de
179 substituição da farinha de *T. molitor* obtém o aumento da atividade de enzimas
180 antioxidantes como GPx e CAT, sugerindo que essa substituição auxilia na capacidade
181 antioxidante no hepatopâncreas do *P. vannamei*. Em outro estudo, Sharifinia *et al.* (2023a)
182 demonstraram que a substituição de farinha de peixe pela farinha do *T. molitor* obtém um
183 efeito significativo nas atividades da superóxido dismutase.

184 Alguns estudos demonstram que a substituição de farinha de peixe por farinha de
185 insetos utilizando o *T. molitor* pode melhorar sim a capacidade antioxidante em certas
186 concentrações de substituição, porém não é relatado com exposição aos microplásticos.
187 Compreender de forma mais aprofundada como os animais respondem a essa condição é
188 de grande relevância para a aquicultura. Diante disso o objetivo deste estudo foi avaliar o
189 uso da farinha do *Tenebrio molitor* na alimentação de camarões (*P. vannamei*) como
190 alternativa de quimioprevenção a exposição aos microplásticos, impactando o sistema
191 antioxidante e a acumulação de MP em diferentes tecidos dessa espécie de grande
192 relevância comercial.

193 2 OBJETIVOS

194 2.1 Geral

195 Avaliar se a substituição da farinha de peixe por farinha de *T. molitor* (15 e 30 %)
196 pode melhorar o desempenho zootécnico, respostas antioxidantes e oferecer proteção
197 contra a exposição aos MP em diferentes tecidos do camarão *P. vannamei*.

198

199 2.2 Específicos

200 A. Avaliar se diferentes concentrações da farinha de *T. molitor* na ração de *P.*
201 *vannamei* pode melhorar o desempenho zootécnico dos camarões.

202 B. Avaliar a ração a substituição da farinha de peixe por farinha de *T. molitor* pode
203 reduzir a acumulação/presença de MP nos diferentes tecidos do *P. vannamei*.

204 C. Avaliar se a substituição da farinha de peixe por farinha de *T. molitor* pode
205 melhorar as respostas antioxidantes dos camarões frente a exposição aos MP.

206 D. Avaliar a utilização da farinha de *T. molitor* pode reduzir ou evitar danos oxidativos
207 induzidos pela exposição aos MP em diferentes tecidos do camarão.

208 3 MATERIAL E MÉTODOS

209

210 3.1 Obtenção e manutenção dos animais

211 O experimento envolvendo a substituição alimentar e a exposição foi realizado no
212 Laboratório de Carcinocultura da Estação Marinha de Aquicultura (EMA), vinculado ao
213 Instituto de Oceanografia da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), situado na
214 Praia do Cassino, no estado Rio Grande do Sul, Brasil. Os náuplios de *P. vannamei*
215 utilizados no presente estudo foram adquiridos do laboratório comercial Aquatec Ltda,
216 situado no estado do Rio Grande do Norte, Brasil, mantidos no setor de larvicultura do
217 Laboratório de Carcinocultura da EMA até atingirem o estágio de pós-larva (PL) e
218 posteriormente transferidos à estufa para realização do berçário. Após esse período os
219 organismos com o peso médio de 2,3 g foram estocados em suas respectivas unidades
220 experimentais situadas na sala experimental.

221 3.2 Síntese e caracterização da farinha de *Tenebrio molitor*

222 Os insetos já secos foram obtidos através de um fornecedor comercial. Após o
223 recebimento foram armazenados em freezer (-18°C), posteriormente foram macerados em
224 moinho industrial para obter a farinha do *Tenebrio molitor*. A composição proximal da
225 farinha foi realizada de acordo com metodologia da AOAC (1999). O teor de proteína
226 bruta foi determinado pela mensuração de nitrogênio das amostras (N x 6,25), pelo
227 método de micro-Kjeldahl. Os lipídios foram determinados pelo método de Bligh e Dyer
228 (1959). Para o teor de cinzas, as amostras foram levadas a um forno mufla a 600 °C por
229 4 h.

230 **Tabela 1.** Composição centesimal (%) farinha de *Tenebrio molitor*.

Proteína bruta	51,86
Lipídios	31,10
Matéria seca	95,15
Cinzas	3,36
Umidade	4,84
Fibra bruta	6,79

231

232 3.3 Formulação e preparo das dietas utilizadas

233 Para a confecção das rações, os alimentos foram previamente analisados de acordo
234 com a AOAC (2000). Após, foram formuladas seis rações contendo diferentes níveis de
235 substituição da farinha de peixe por farinha de *Tenebrio molitor*, bem como a inclusão de
236 microplásticos (esferas de poliestireno com 1,1 µm). Os tratamentos: **T1**- dieta controle
237 com farinha de peixe, **T2**- dieta com a substituição da farinha de peixe por 15 % de farinha
238 de *T. molitor*, **T3**- dieta com a substituição da farinha de peixe por 30 % de farinha de *T.*
239 *molitor*, **T4**- dieta controle com farinha de peixe e 40 µg de MP/ kg ração, **T5**- dieta com
240 a substituição da farinha de peixe por 15 % de farinha de *T. molitor* e 40 µg de MP/ kg
241 ração, **T6**- dieta com a substituição da farinha de peixe por 30 % de farinha de *T. molitor*
242 e 40 µg de MP/ kg ração. Os ingredientes foram misturados da menor para a maior
243 proporção. Os pellets foram produzidos por meio de um moedor com rosca sem fim e
244 secos em estufas (60 °C) com circulação de ar. As porcentagens da farinha de *T. molitor*
245 selecionadas para o presente estudo foram baseadas no trabalho de Sharifinia *et al.*
246 (2023b). A concentração de MP administrada via dieta foi baseada no estudo de Seta *et*

247 *al.* (2023). A fabricação da ração bem como as análises foram conduzidas no LANOA –
248 FURG.

249 **Tabela 2.** Formulação da dieta basal.

Ingredientes	(%)
Farinha de peixe	35
Caseína	9,50
Gelatina	2,0
Farelo de soja	15,0
Farelo de arroz	20,0
Amido de milho	12,0
Celulose	2,5
Mistura Mineral e Vitaminas ¹	2,0
Fosfato de cálcio- Ca ₃ (PO ₄) ₂	2,0

250 ¹Premix M. Cassab, SP, Brasil: Vit. A (500000 UI kg⁻¹), Vit. D₃ (250000 UI kg⁻¹), Vit. E (5000 mg kg⁻¹), Vit. K₃ (500
251 mg kg⁻¹), Vit. B₁ (1000 mg kg⁻¹), Vit. B₂ (1000 mg kg⁻¹), Vit. B₆ (1000 mg kg⁻¹) Vit. B₁₂ (2000 mcg kg⁻¹), niacin
252 (2500 mg kg⁻¹), pantoato de cálcio (4000 mg kg⁻¹), ácido fólico (500 mg kg⁻¹), biotina (10 mg kg⁻¹), Vit. C (10000
253 mg kg⁻¹). Colina (100000mg kg⁻¹), inositol (1000 mg kg⁻¹). Elementos traços: selênio (30 mg kg⁻¹), ferro (5000 mg
254 kg⁻¹), cobre (5000 mg kg⁻¹), manganês (5000 mg kg⁻¹), zinco 804 (9000 mg kg⁻¹), cobalto (50 mg kg⁻¹), iodo (200
255 mg kg⁻¹).

256

257 3.4 Análise da composição centesimal das dietas

258 A composição centesimal dos diferentes tratamentos foi realizada de acordo com
259 metodologia da AOAC (1999). O teor de proteína bruta foi determinado pela mensuração
260 de nitrogênio das amostras (N x 6,25), pelo método de micro-Kjeldahl. Os lipídios foram
261 determinados pelo método de Bligh e Dyer (1959). Para o teor de cinzas, as amostras
262 foram levadas a um forno mufla a 600 °C por 4 h.

263 **Tabela 3.** Composição centesimal das dietas.

Composição Centesimal	Tratamentos (%)					
	CTL	CTL15	CTL30	MP	MP15	MP30
Proteína bruta	41,71	41,22	40,71	41,41	41,36	40,86
Lipídios	9,63	10,5	11,38	9,56	10,32	11,5
Matéria seca	90,85	90,8	90,74	90,37	89,84	91,36
Cinzas	11,26	10,21	9,14	11,14	10,02	9,27
Umidade	9,15	9,2	9,26	9,63	10,16	8,64
Fibra	4,31	4,66	5,02	4,19	6,65	5,01

264 3.5 Desenho experimental

265 Após os animais atingirem 2,3 g ± 0,19 de peso médio foram selecionados e
266 transferidos para tanques indoor do experimento onde permaneceram por 24 horas em

267 uma caixa com água clara com salinidade em 28 ppmil para aclimação, logo após foi
268 iniciado o experimento. Foram empregados 6 tratamentos constituídos por **T1 CTL-**
269 dieta controle com farinha de peixe, **T2 CTL15-** dieta com a substituição da farinha de
270 peixe por 15 % de farinha de *T. molitor*, **T3 CTL30** - dieta com a substituição da farinha
271 de peixe por 30 % de farinha de *T. molitor*, **T4 MP-** dieta controle com farinha de peixe
272 e 40 µg de MP/ kg ração, **T5 MP15-** dieta com a substituição da farinha de peixe por 15
273 % de farinha de *T. molitor* e 40 µg de MP/ kg ração, **T6 MP30-** dieta com a substituição
274 da farinha de peixe por 30 % de farinha de *T. molitor* e 40 µg de MP/ kg ração. Os
275 tratamentos tiveram 3 réplicas cada. Foram utilizadas 18 caixas com volume útil de 150 L.
276 Os tratamentos foram distribuídos aleatoriamente e em cada unidade experimental. Logo
277 após animais foram distribuídos em cada unidade experimental, foi estocado 40 camarões
278 por caixa, resultando em uma densidade de 260 camarões/m³. O fornecimento de ração
279 foi três vezes ao dia (08 h e 30 min, 12 h e 30 min e 17 h e 30min) em bandejas, sendo
280 que cada tanque possuía uma bandeja de alimentação para acompanhamento do consumo,
281 iniciando com uma taxa de alimentação de 8% da biomassa e ajustada de acordo com
282 metodologia proposta por Jory *et al.*, (2001). Os animais foram tratados com as dietas
283 mencionadas pelo período de 21 dias. Após o período de experimento, os animais foram
284 eutanasiados por congelamento e os diferentes tecidos foram coletados (hepatopâncreas,
285 músculo e brânquias) armazenados em ultra-frezer (-80°C) até o momento das análises.

286

287 3.6 Monitoramento da qualidade da água

288 Durante o período experimental, parâmetros de qualidade da água como oxigênio
289 dissolvido (mg L⁻¹), temperatura (°C) foram monitorados duas vezes ao dia (08:00h e
290 17:00h), pH e salinidade foram monitoradas diariamente, sendo mensurados através de
291 um oxímetro digital multiparâmetros (YSI®-550A), pHmetro digital (Mettler Toledo,
292 FEP20, Brasil) e refratômetro, respectivamente. Análises de amônia total (N-AT) (NH₃)
293 e nitrito (N-NO₂-) foram realizadas realizadas diariamente e alcalinidade duas vezes por
294 semana, utilizando metodologias descritas pela UNESCO (1983) e por APHA (1998),
295 respectivamente. O experimento foi desenvolvido em água clara, sendo realizado a
296 sifonagem para retiradas de fezes no fundo das caixas e trocas parciais de água (renovação
297 média de 30% dia) o principal manejo adotado para a manutenção da qualidade de água.

298 3.7 Desempenho zootécnico

299 Ao longo do experimento, o crescimento dos camarões foi monitorado por meio de
300 biometrias semanais de 15 indivíduos por tanque com o auxílio de uma balança analítica
301 (Marte Científica, AD 2000, Brasil), biometria realizada para ajuste da quantidade de
302 ração ofertada, ao final do experimento o desempenho zootécnico foi avaliado:

303 Peso inicial (g);

304 Peso final (g);

305 Sobrevivência (%) = (nº final de camarões / nº inicial de camarões) X 100;

306 Cresc. semanal (g semana⁻¹) = (Ganho de peso / nº de semanas);

307 Biomassa final (g) = (peso final x nº final de camarões);

308 Produtividade (kg m⁻³) = (biomassa final / volume útil do tanque);

309 Conversão alimentar = (ração ofertada / biomassa final).

310 3.8 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

311

312 3.8.1 Homogeneização das amostras

313 As amostras de hepatopâncreas, brânquias e músculo foram homogeneizadas na
314 proporção de 1:4 (m/v), utilizando um tampão contendo 0,5 M de sacarose, 20 mM de
315 Tris-Base, 1 mM de EDTA, 1 mM de ditioneitol (DTT), 0,15 M de KCl e 0,05 mM de
316 fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF), com o pH ajustado para 7,6. Posteriormente, foram
317 centrifugados a 10.000 × g durante 20 minutos a 4 °C, e os sobrenadantes obtidos foram
318 destinados às análises de atividades enzimáticas antioxidantes e à quantificação de
319 lipídios oxidados. O hepatopâncreas foi homogeneizado em um Ultra Sonicador (Qsonica
320 Q125 Sonicator®) por 30 segundos com 40x amplitude, brânquias e músculo em um
321 homogeneizador mecânico por 30 segundos. Para a determinação da glutatona reduzida
322 (GSH), os tecidos foram processados com tampão semelhante, porém sem a adição de
323 DTT. A concentração de proteínas totais nos sobrenadantes foi medida com o auxílio de
324 um kit comercial (Bioclin, Brasil), seguindo o método do Biureto, com a leitura realizada
325 a 550 nm em uma leitora de microplacas (modelo BioTek Elx 800).

326 3.8.2 Catalase (CAT)

327 A atividade da enzima catalase (CAT) foi determinada segundo o protocolo descrito
328 por Beutler (1975), que se baseia na decomposição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a
329 50 mM, monitorada por meio da redução na absorbância a 240 nm, utilizando um
330 espectrofotômetro (BioMate 3, Thermo Scientific).

331

332 3.8.4 Glutathiona reduzida (GSH)

333 A quantificação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) seguiu o protocolo descrito
334 por Sedlak e Lindsay (1968). As amostras foram previamente ajustadas para uma
335 concentração de 2 mg mL^{-1} utilizando tampão de homogeneização sem DTT.
336 Posteriormente, foram adicionados 240 μL da amostra, 28 μL de ácido tricloroacético
337 (TCA) a 50% (p/v) e submetidas à centrifugação a 20.000 x g, por 10 minutos, a 4 °C,
338 com o objetivo de precipitar as proteínas. Do sobrenadante, foram pipetados 100 μL , os
339 quais foram transferidos para microplacas transparentes, adicionando-se 200 μL de Tris-
340 Base 0,4 M (pH 8,9) e 10 μL de DTNB (5,5'-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzoico) diluído em
341 metanol. As reações foram incubadas à temperatura ambiente por 15 minutos, e, em
342 seguida, as leituras foram realizadas a 405 nm utilizando um leitor de microplacas (ELx
343 800, BioTek).

344

345 3.8.5 Superóxido dismutase (SOD)

346 A determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi realizada de
347 acordo com a metodologia descrita por McCord e Fridovich (1969). Nesse ensaio, o
348 radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) é gerado por meio do sistema enzimático da xantina
349 oxidase, e a capacidade da SOD de inibir a redução do *citocromo C* é monitorada através
350 da absorbância medida a 550 nm em espectrofotômetro (BioMate 3, Thermo Scientific).

351

352 3.8.6 Glutathiona peroxidase (GPx)

353 A atividade da enzima glutathiona peroxidase (GPx) foi determinada conforme o
354 protocolo descrito por Arun e Subramanian (1998). As reações foram conduzidas em meio
355 contendo glutathiona reduzida (GSH) a 2 mM, glutathiona redutase (GR) a 1 U/mL,
356 NADPH a 0,12 mM e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 2 mM, todos diluídos em tampão

357 fosfato 100 mM (pH 7,5). A atividade enzimática foi monitorada por meio da diminuição
358 da absorbância a 340 nm, que reflete o consumo de NADPH, utilizando um leitor de
359 microplacas (ELx 800, BioTek).

360 3.8.7 Níveis de lipídios peroxidados (TBARS)

361 A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada por meio do método de TBARS
362 (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), conforme descrito por Oakes e Van de
363 Kraak (2003). Esse método baseia-se na reação do malondialdeído (MDA), produtos da
364 peroxidação de lipídios, com o ácido tiobarbitúrico (TBA) em condições de alta
365 temperatura e meio ácido, resultando na formação de um complexo cromogênico. A
366 quantificação foi realizada por fluorimetria, utilizando comprimento de onda de excitação
367 em 515 nm e emissão em 550 nm (Victor 2, Perkin Elmer). Como padrão foi utilizado o
368 tetrametoxipropano (TMP).

369

370 3.8.8 Análise de acumulação dos microplásticos

371 A identificação da acumulação de microplásticos (MP) foi analisado em
372 hepatopâncreas, brânquias, músculo de acordo com o protocolo descrito por Teng *et al.*
373 (2021), com adaptações. Os tecidos foram previamente pesados e submetidos à digestão
374 com solução de hidróxido de potássio (KOH) a 10%, por um período de 48 horas. As
375 soluções obtidas foram filtradas utilizando membrana filtrante estéril em nitrato de
376 celulose como diâmetro de 47 mm com poro de 0,45 µm (Unifil®). Os filtros foram então
377 secos à temperatura ambiente, acondicionados em placas de Petri de vidro cobertas, e
378 posteriormente utilizados para análise. Para a detecção dos MP, as membranas foram
379 coradas com Vermelho Nilo, permitindo a sua visualização por meio de microscopia de
380 fluorescência (Olympus BX41, equipada com câmera Olympus DP72), com aumento de
381 20×. As análises dos diferentes tecidos foram realizadas por meio da varredura da
382 fluorescência, utilizando comprimento de onda de excitação em 510 nm e emissão em
383 550 nm.

384

385

386

3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

388

389 Para verificar a homogeneidade das variâncias dos diferentes tratamentos e a
390 normalidade da distribuição dos dados, foram aplicados os testes de Shapiro-Wilks e
391 Levene, respectivamente (Zar, 1984). Após comprovados os pressupostos, os dados foram
392 submetidos à análise de variância ANOVA de duas vias (*tratamento x substituição*). Para
393 verificar as diferenças significativas entre os tratamentos foi utilizado o teste de Newman-
394 Keuls. O nível de significância definido em 0,05 em todos os casos.

395 4 RESULTADOS

396

397 4.1 Qualidade de água

398 Os parâmetros de qualidade de água durante 21 dias de experimento estão
399 representados na Tabela 4. Oxigênio dissolvido (mg L^{-1}), temperatura ($^{\circ}\text{C}$), pH, amônia
400 total (mg L^{-1}) nitrito (mg L^{-1}) e alcalinidade (mg L^{-1}) não apresentaram diferenças
401 significativas em todos os tratamentos ($p>0,05$).

402 **Tabela 4.** Parâmetros de qualidade da água (média $\pm$ desvio padrão) do nos tratamentos
403 CTL, CTL15, CTL30, MP, MP15, MP30 durante 21 dias de experimento.

Parâmetros	Tratamentos					
	CTL	CTL15	CTL30	MP	MP15	MP30
OD (mg L^{-1})	5,64 $\pm$ 0,02 ^a	5,58 $\pm$ 0,02 ^a	5,59 $\pm$ 0,02 ^a	5,62 $\pm$ 0,06 ^a	5,55 $\pm$ 0,02 ^a	5,58 $\pm$ 0,04 ^a
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	28,86 $\pm$ 0,12 ^a	28,43 $\pm$ 0,28 ^a	29,00 $\pm$ 0,25 ^a	28,76 $\pm$ 0,20 ^a	28,93 $\pm$ 0,18 ^a	28,70 $\pm$ 0,05 ^a
pH	7,64 $\pm$ 0,03 ^a	7,65 $\pm$ 0,05 ^a	7,66 $\pm$ 0,06 ^a	7,68 $\pm$ 0,06 ^a	7,69 $\pm$ 0,07 ^a	7,71 $\pm$ 0,06 ^a
NAT (mg L^{-1})	0,78 $\pm$ 0,0 ^a	0,81 $\pm$ 0,02 ^a	0,73 $\pm$ 0,01 ^a	0,85 $\pm$ 0,03 ^a	0,78 $\pm$ 0,01 ^a	0,75 $\pm$ 0,07 ^a
Nitrito (mg L^{-1})	0,31 $\pm$ 0,05 ^a	0,25 $\pm$ 0,03 ^a	0,34 $\pm$ 0,08 ^a	0,33 $\pm$ 0,11 ^a	0,25 $\pm$ 0,03 ^a	0,21 $\pm$ 0,04 ^a
Alc (mg L^{-1})	194,33 $\pm$ 5,81 ^a	193,66 $\pm$ 3,17 ^a	198,66 $\pm$ 3,75 ^a	197,00 $\pm$ 3,60 ^a	197,66 $\pm$ 3,71 ^a	194,66 $\pm$ 0,88 ^a

404

405 4.2 Desempenho zootécnico

406 Nos resultados referentes ao desempenho zootécnico (Tabela 5) foram identificadas
407 diferenças significativas no peso final dos camarões ($p<0,05$) nos tratamentos CTL15 e
408 MP15. Tratamentos CTL e MP se mantiveram iguais ($p>0,05$). O CTL30 e MP30
409 obtiveram o maior peso entre todos os tratamentos. Os valores de peso inicial,

410 sobrevivência, crescimento semanal, biomassa final, produtividade e conversão alimentar
411 não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$).

412 **Tabela 5.** Desempenho zootécnico (média $\pm$ desvio padrão) do *P. vannamei* nos
413 tratamentos CTL, CTL15, CTL30, MP, MP15, MP30 durante 21 dias de experimento.

	Tratamentos					
	CTL	CTL15	CTL30	MP	MP15	MP30
Peso inicial (g)	2,3g $\pm$ 0,19 ^a	2,3g $\pm$ 0,19 ^a	2,3g $\pm$ 0,19 ^a	2,3g $\pm$ 0,19 ^a	2,3g $\pm$ 0,19 ^a	2,3g $\pm$ 0,19 ^a
Peso final (g)	8,27 $\pm$ 0,28 ^{ab}	8,95 $\pm$ 0,27 ^{bcd}	9,34 $\pm$ 0,29 ^{cd}	8,60 $\pm$ 0,20 ^{abc}	7,84 $\pm$ 0,29 ^a	9,84 $\pm$ 0,29 ^d
Sobrevivência (%)	80,0 $\pm$ 1,44 ^a	75,8 $\pm$ 4,63 ^a	78,3 $\pm$ 0,83 ^a	80,0 $\pm$ 1,44 ^a	82,5 $\pm$ 3,81 ^a	81,6 $\pm$ 3,00 ^a
Cresc. Semanal	1,97 $\pm$ 0,16 ^a	2,20 $\pm$ 0,15 ^a	2,28 $\pm$ 0,25 ^a	2,08 $\pm$ 0,03 ^a	1,91 $\pm$ 0,25 ^a	2,37 $\pm$ 0,29 ^a
Biomassa final	0,26 $\pm$ 0,01 ^a	0,27 $\pm$ 00 ^a	0,28 $\pm$ 0,02 ^a	0,27 $\pm$ 00 ^a	0,26 $\pm$ 0,01 ^a	0,30 $\pm$ 0,01 ^a
Produtividade (Kg m ³)	1,76 $\pm$ 0,13 ^a	1,80 $\pm$ 0,04 ^a	1,92 $\pm$ 0,16 ^a	1,83 $\pm$ 0,03 ^a	1,76 $\pm$ 0,12 ^a	2,05 $\pm$ 0,12 ^a
CA	2,11 $\pm$ 0,13 ^a	2,10 $\pm$ 0,06 ^a	1,90 $\pm$ 0,12 ^a	1,99 $\pm$ 0,02 ^a	2,08 $\pm$ 0,10 ^a	1,80 $\pm$ 0,14 ^a

414

415 4.3 Análises bioquímicas

416 Neste estudo foram feitas 2 comparações: comparando os grupos controle (0, 15 e 30
417 % de substituição da farinha de peixe por farinha de *T. molitor*) para verificar se as
418 substituições podem ter efeito benéfico no *P. vannamei*. Os grupos que foram expostos
419 aos MP (40 μ g/ kg de ração com 0, 15 e 30 % de substituição) comparado com seus
420 respectivos grupos controles (0, 15 e 30 %).

421

422

423

424

425

4.3.1 Atividade Catalase (CAT)

Em Brânquias, a atividade da CAT foi aumentada em exposição ao MP15 comparado ao CTL15, ($p < 0,05$). No Hepatopâncreas, o tratamento MP30 foi significativamente ($p < 0,05$) maior que seu respectivo grupo controle CTL30. Nos demais grupos não houve diferenças significativas ($p > 0,05$). (Figura 1).

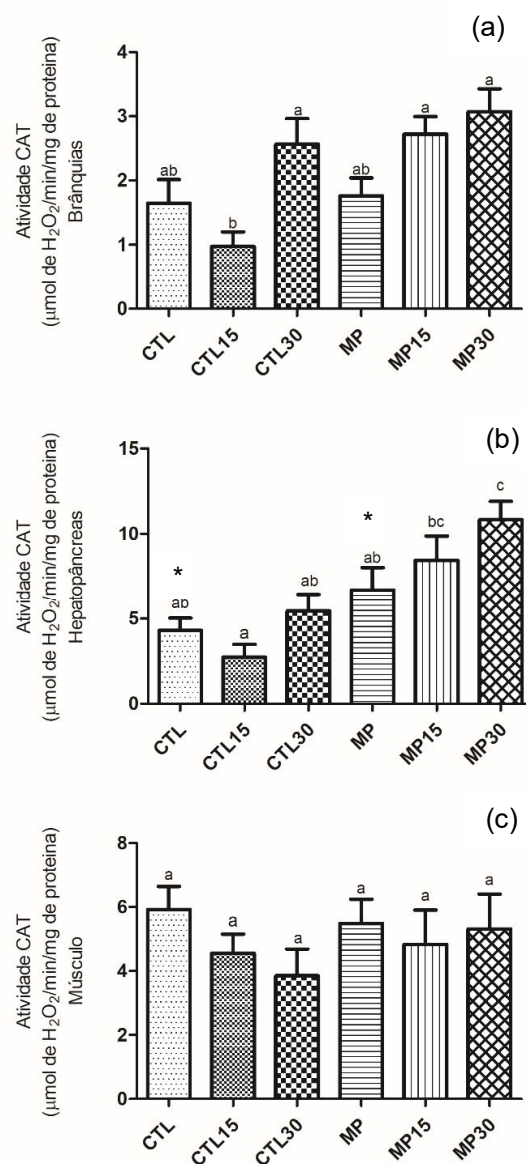
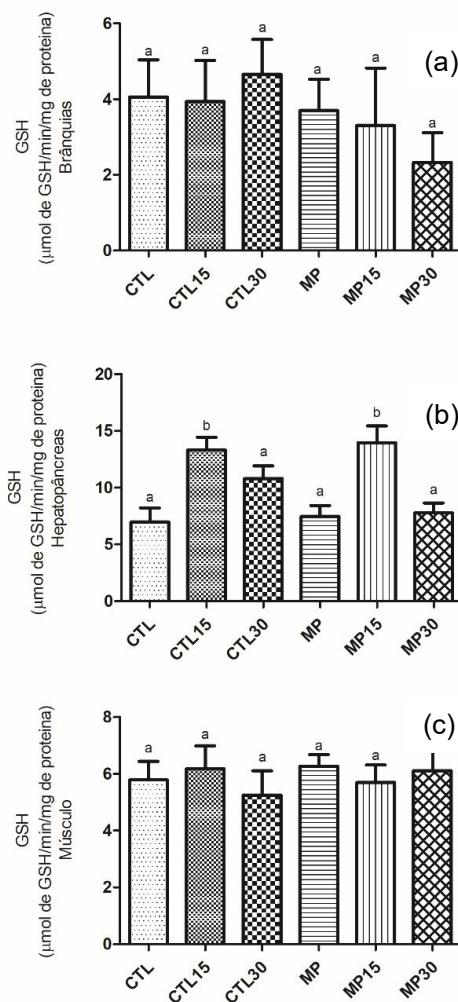


Figura 1. Atividade Catalase (média $\pm$ erro padrão) em brânquias (a), hepatopâncreas (b), músculo (c) de juvenis de *P. vannamei* alimentados com dieta contendo diferentes níveis de *T. molitor* durante 21 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$). O asterisco indica que foi feita um contraste ortogonal entre os grupos indicados.

432 4.3.2 Glutathiona reduzida (GSH)

433 Em brânquias e músculo não apresentaram diferenças significativas em nenhum dos
 434 tratamentos ($p>0,05$). No hepatopâncreas, no tratamento CTL15 houve um aumento
 435 ($p<0,05$) dos níveis de GSH comparado com os grupos CTL0 e CTL30 e este aumento se
 436 manteve no grupo exposto ao MP15, mas não diferiu do respectivo grupo controle
 437 (CTL15) (Figura 2).



453 **Figura 2.** Concentração GSH (média $\pm$ erro padrão) em brânquias (a),
 454 hepatopâncreas (b), músculo (c) de juvenis de *P. vannamei* alimentados com dieta
 455 contendo diferentes níveis de *T. molitor* durante 21 dias. Letras diferentes indicam
 456 diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).

457 4.3.3 Atividade da superóxido dismutase (SOD)

458 Nas brânquias, o grupo CTL30 mostrou diminuição ($p < 0,05$) na atividade da SOD
 459 comparado com o grupo controle que não recebeu farinha de tenébrio (CTL0). Porém,
 460 nenhum tratamento com MP alterou a atividade da enzima comparados aos respectivos

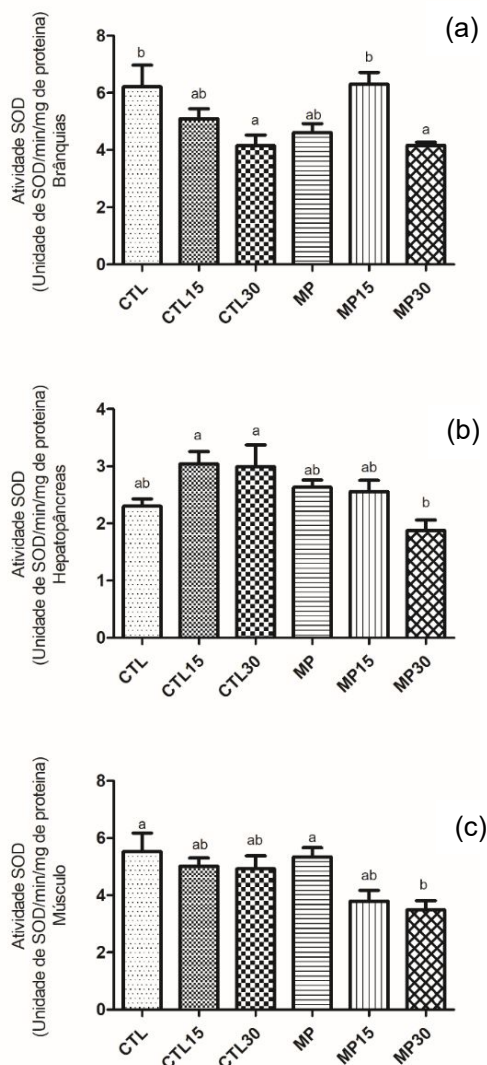


Figura 3. Atividade SOD (média $\pm$ erro padrão) em brânquias (a), hepatopâncreas (b), músculo (c) de juvenis de *P. vannamei* alimentados com dieta contendo diferentes níveis de *T. molitor* durante 21 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).

461 grupos controles. Em hepatopâncreas, o grupo MP30 mostrou reduzir significativamente
 462 ($p < 0,05$) a atividade da SOD comparado com o grupo CTL30. Enquanto nenhum
 463 tratamento mostrou alterar a atividade da enzima no músculo de *P. vannamei* (**Figura 3**).

464 4.3.4 Glutathiona peroxidase (GPx)

465 Brânquias e músculo não apresentaram diferenças significativas em nenhum dos
 466 tratamentos ($p>0,05$). No Hepatopâncreas, houve um aumento ($p<0,05$) da atividade da
 467 GPx no grupo CTL30 comparado ao grupo CTL0. Um aumento significativo ($p<0,05$)
 468 também foi observado no grupo MP30 comparado com o grupo CTL30. (**Figura 4**).

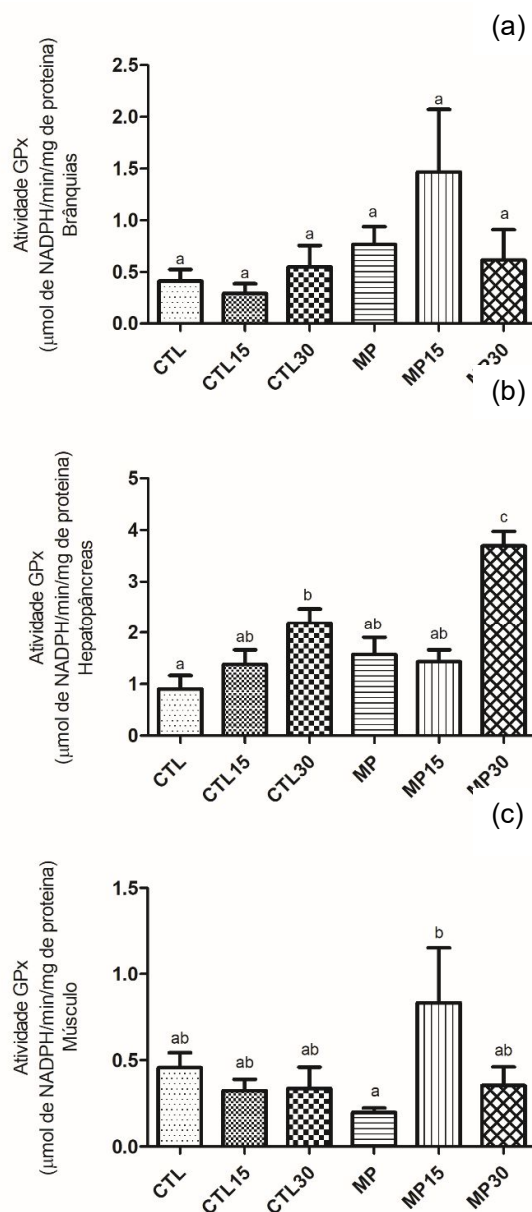


Figura 4. Atividade GPx (média ± erro padrão) em brânquias (a), hepatopâncreas (b), músculo (c) de juvenis de *P. vannamei* alimentados com dieta contendo diferentes níveis de *T. molitor* durante 21 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).

470 4.3.5 Níveis de lipídios oxidados (TBARS)

471 Nas brânquias, os grupos que receberam farinha de *T. molitor* (15 e 30 %) mostraram
 472 reduzir danos lipídicos ($p < 0,05$) comparado com o grupo que não recebeu a farinha de *T.*
 473 *molitor*. No grupo MP30 mostrou reduzir ($p < 0,05$) os níveis de lipídios oxidados
 474 comparando com o grupo controle (CTL30).

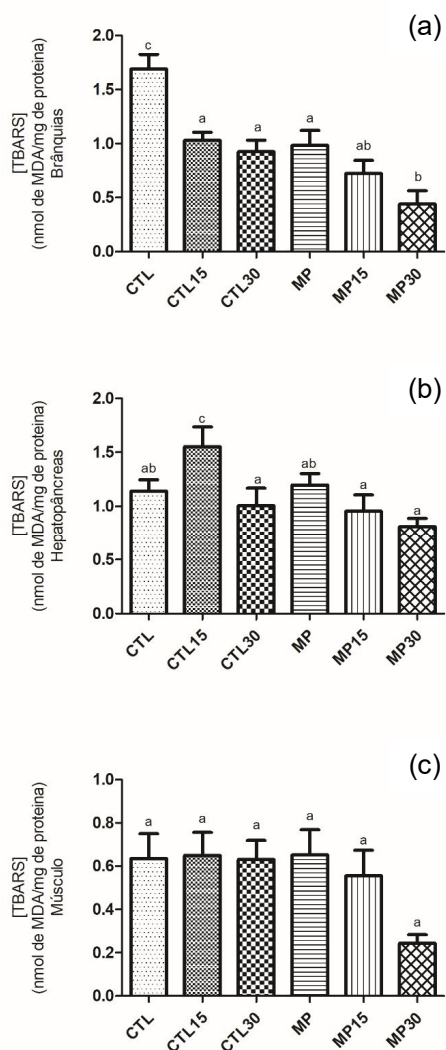


Figura 5. Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (média $\pm$ erro padrão) em brânquias (a), hepatopâncreas (b), músculo (c) de juvenis de *P. vannamei* alimentados com dieta contendo diferentes níveis de *T. molitor* durante 21 dias. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$).

475

476 No Hepatopâncreas, o grupo CTL15 mostrou maiores níveis ($p < 0,05$) de lipídios
 477 oxidados que o grupo que não recebeu farinha de *T. molitor* (CTL0). Entretanto, o grupo

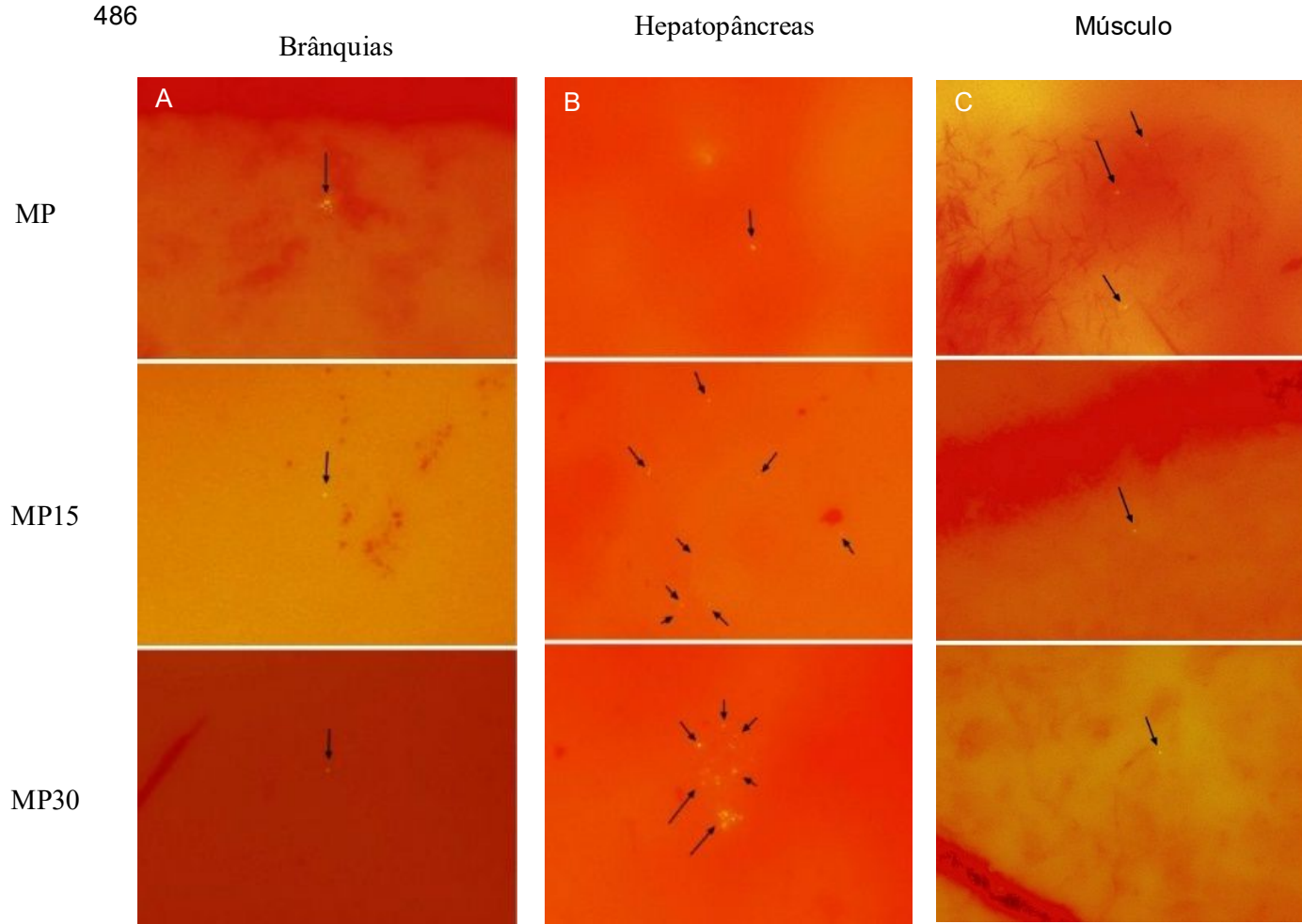
478 MP15 mostrou reduzir estes níveis ($p < 0,05$) se igualando aos demais tratamentos. No
479 músculo, nenhum tratamento mostrou induzir danos lipídicos ($p > 0,05$) (**Figura 5**).

480

481 4.3.6 Análise de acumulação dos microplásticos

482 A presença de microplásticos (esferas de poliestireno com $1,1 \mu\text{m}$) foi detectada por
483 meio de microscopia de fluorescência, revelando a sua acumulação em diferentes tecidos
484 do *P. vannamei*. Observou-se que a inclusão de *T. molitor* na dieta não foi eficaz em
485 impedir a bioacumulação desse contaminante (Figura 6).

486



487

Figura 6. Acumulação dos microplásticos nos tecidos (brânquias, hepatopâncreas e músculo) de juvenis de *P. vannamei* alimentados com dieta contendo diferentes níveis de *T. molitor* durante 21 dias. Setas indicam a posição acumulada nos diferentes tecidos.

488 5. DISCUSSÃO

489

490 A qualidade da água é um fator essencial para o desempenho zootécnico de
491 organismos cultivados. No presente estudo, ao longo dos 21 dias de experimento, os
492 parâmetros físico-químicos da água (oxigênio dissolvido, temperatura, pH, amônia total,
493 nitrito e alcalinidade) permaneceram estáveis e não apresentaram diferenças
494 significativas entre os tratamentos. Todos os valores registrados mantiveram-se dentro
495 dos limites recomendados para a espécie (Ray et al., 2017).

496 O interesse pelo uso da farinha de insetos como alternativa alimentar viável na
497 aquicultura tem crescido consideravelmente nos últimos anos. Os insetos apresentam-se
498 como uma fonte promissora de energia, sendo ricos em macro e micronutrientes em
499 proporções adequadas, o que os torna altamente apropriados para a formulação de dietas
500 destinadas a organismos aquáticos cultivados (FAO, 2013). O bicho-da-farinha (*Tenebrio*
501 *molitor*) é um inseto caracterizado por seu rápido crescimento e alta taxa reprodutiva,
502 alimentando-se predominantemente de cereais e vegetais. Além disso, o perfil de
503 aminoácidos atende às exigências nutricionais de espécies aquáticas cultivadas
504 permitindo a manipulação por meio da dieta e tornando-se uma alternativa promissora
505 para a aquicultura (Ghosh et al., 2017). Este estudo apresenta evidências consistentes de
506 que a farinha do *Tenebrio molitor* possui potencial para atuar em substituição à farinha de
507 peixe nas dietas de *P. vannamei*. Em relação aos parâmetros de desempenho zootécnico
508 (sobrevivência, crescimento semanal, biomassa final, produtividade e conversão
509 alimentar) não apresentaram diferenças significativas. O crescimento não foi um fator
510 limitante para o organismo envolvendo o *T. molitor*, obtendo resultado satisfatório com a
511 substituição de 30%. Sharifinia et al. (2023a) mostraram que a substituição parcial com
512 30% de *T. molitor* potencializa o crescimento do *P. vannamei*. Um resultado semelhante
513 também foi observado por Motte et al. (2019) a partir de uma substituição a partir de 25%
514 obtiveram expressivo ganho de peso do camarão.

515 Diante da exposição aos microplásticos, crustáceos podem ingerir essas partículas,
516 que chegam até o trato gastrointestinal, atravessam barreiras biológicas e são distribuídas
517 para diversos tecidos (D'Costa, 2022), sendo detectadas em estruturas como brânquias,
518 músculo e hepatopâncreas, causando efeitos fisiológicos nesses órgãos. Devido às suas
519 dimensões reduzidas, os MP podem infiltrar-se em organismos de pequeno porte,

520 associar-se a sedimentos e aderir a partículas alimentares, facilitando sua ingestão pelos
521 organismos. Dessa forma, a exposição dietética representa uma condição frequente em
522 ambientes aquáticos. Quando os animais são expostos a fatores estressantes como os MP,
523 o desequilíbrio no estado redox celular compromete a homeostase e exige que os
524 organismos ativem diversos mecanismos de defesa com o objetivo de minimizar ou
525 prevenir danos. Enzimas como a SOD e CAT compõem a linha de defesa antioxidante
526 primária contra as espécies reativas de oxigênio (ERO) geradas no metabolismo celular.
527 A SOD atua catalisando a conversão do radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em peróxido de
528 hidrogênio (H_2O_2), o qual é subsequentemente convertido em oxigênio molecular (O_2) e
529 água (H_2O) pelas enzimas CAT e GPx (Ighodaro e Akinloye, 2018). Nas brânquias, não
530 houve diferença na atividade da enzima em resposta a substituição com farinha de *T.*
531 *molitor* comparada com o grupo que não foi alimentado com a farinha de inseto.
532 Entretanto, quando submetido a exposição aos MP, o grupo MP15 aumentou a atividade
533 da enzima comparado com o grupo CTL15. Embora tenha se observado este aumento, se
534 comparamos aos demais grupos, pode se observar que houve na verdade um
535 restabelecimento da atividade da CAT. Semelhante resultado foi encontrado no estudo de
536 Seta e colaboradores (2023) que observaram que a exposição aos MP através da dieta do
537 *P. vannamei* não alterou a atividade da CAT em brânquias do camarão. Enquanto em
538 hepatopâncreas houve um aumento significativo da atividade da enzima em todos os
539 tratamentos com MP comparado com os respectivos grupos controles. Esse resultado
540 também foi observado em hepatopâncreas de *P. vannamei* exposto somente aos MP via
541 dieta (Seta et. al, 2023). Wang et al. (2021) avaliaram os efeitos da substituição da farinha
542 de peixe por farinha de larvas de *Hermetia illucens* em dietas para *P. vannamei*, e
543 observaram uma relação direta entre os níveis da substituição e atividade da CAT. Neste
544 estudo os resultados mostram que a exposição aos MP, independente da farinha utilizada
545 na ração, houve alteração no equilíbrio redox uma vez que a atividade da CAT foi
546 aumentada indicando a produção de H_2O_2 . Porém, estes resultados não foram observados
547 no músculo.

548 A glutathiona reduzida (GSH), é um tripeptídeo essencial, desempenhando um papel
549 fundamental na detoxificação celular e no controle do estresse oxidativo. Além disso, está
550 envolvida em diversos processos fisiológicos que contribuem para a manutenção da
551 homeostase celular. Por isso, a preservação dos níveis de GSH é de grande relevância,

552 uma vez que esse composto é um importante biomarcador da capacidade antioxidante dos
553 tecidos (Liu et al., 2020). No presente estudo a GSH não induziu em tecidos como
554 brânquias e músculo. A substituição de 15 % (CTL15) mostrou aumentar os níveis de
555 GSH comparado ao grupo CTL0, indicando uma melhora da capacidade antioxidante,
556 uma vez que a GSH é considerada uma primeira linha de defesa das células.
557 Interessantemente, este aumento foi mantido no grupo MP15. Considerando estes
558 resultados, podemos inferir que o alto conteúdo de GSH no grupo exposto ao MP está
559 associado à indução da síntese do tripeptídeo pela substituição da farinha de *T. molitor* e
560 não a exposição aos MP em hepatopâncreas do *P. vannamei*.

561 O aumento nos níveis de GSH observados nos grupos incluído *T. molitor* pode estar
562 relacionado à presença de compostos bioativos encontrados na farinha de inseto, tais
563 como peptídeos com atividade antioxidante, ácidos graxos insaturados e polifenóis. Esses
564 componentes têm potencial para modular positivamente o sistema redox celular,
565 promovendo a síntese de glutathione diante da presença de espécies reativas de oxigênio
566 (Nogales-Mérida et al., 2019). Zheng et al. (2023) relataram que a quitina do *T. molitor*
567 na dieta desempenha maior status antioxidante no camarão, aumentando a GSH, sendo
568 uma das razões para melhorar a capacidade antioxidante e imunológica do camarão.

569 Considerando a atividade da SOD, a substituição de 30 % (CTL30) mostrou menor
570 atividade da enzima comparado ao grupo CTL0. Enquanto em hepatopâncreas, nos
571 grupos que receberam a substituição, nenhuma alteração na atividade da enzima foi
572 observada. Entretanto, neste tecido, o grupo MP30 mostrou reduzir a atividade da SOD
573 comparado ao respectivo grupo controle. Ortiz et al. (2024) observaram que a exposição
574 aos MP (via água) induziu aumento na atividade da SOD, indicando aumentos na
575 produção de radical ânion superóxido e que mesmo com a suplementação de 1 mg de
576 quitosana como antioxidante, não foi possível reverter o aumento. Enquanto a exposição
577 aos MP mostrou diminuir a atividade da SOD na ostra (*C. gigas*) (Liu et al., 2025). A
578 discrepância entre os resultados observados pode ser atribuída a uma série de fatores,
579 como a variabilidade nas condições experimentais entre os estudos como a dose e o tempo
580 de exposição, as vias de exposição, além das diferenças entre espécies e tecidos
581 analisados. Esses elementos podem influenciar diretamente a atividade de enzimas
582 antioxidantes, como a SOD afetando o equilíbrio redox dos organismos expostos.

583 A GPx é outra enzima utilizada para reduzir os níveis de H₂O₂ utilizando como co-
584 substrato o tripeptídeo GSH (glutathiona reduzida) (Barbosa et al., 2010). No presente
585 estudo no hepatopâncreas, foi observado um aumento da atividade da GPx no grupo
586 CTL30 comparado com o CTL0 e esse aumento também foi observado no grupo que foi
587 exposto ao MP (MP30) enquanto nenhum outro tratamento mostrou modular a atividade
588 da enzima. No fígado da carpa (*C. idellus*) a substituição da farinha de peixe por farinha
589 de *T. molitor* na proporção de 25 % foi observado um aumento na expressão do gene da
590 GPx concomitantemente com o aumento na atividade enquanto a inclusão de 100 %
591 mostrou efeito contrário (Yang et al., 2025). No presente estudo, a inclusão de 30 %
592 mostrou aumentar a atividade da enzima e a presença de MP mostrou um aumento ainda
593 maior. Então, duas possíveis explicações para estas respostas são levantadas: (1) que no
594 grupo controle que recebeu a inclusão de 30 % houve o estímulo da melhora das respostas
595 antioxidante (no caso a GPx), provavelmente através de um elemento de resposta
596 antioxidante e (2) a exposição aos MP induziu a maior produção de H₂O₂ mesmo quando
597 o organismo já apresentava um nível mais elevado de GPx (CTL30). Outros estudos
598 mostram que a farinha de *T. molitor* induz a expressão do fator Nrf2 e Keap 1 que resulta
599 em maior expressão de enzimas antioxidantes como SOD, GPx, GST e CAT (Qu et al.,
600 2025; Yang et al., 2025)

601 As enzimas antioxidantes exercem um papel essencial na manutenção da homeostase
602 redox, sendo determinantes para uma resposta imunológica eficaz e o funcionamento
603 adequado do organismo. Alterações em sua atividade são frequentemente utilizadas como
604 biomarcadores sensíveis do estado fisiológico, refletindo adaptações frente a estímulos
605 exógenos, como intervenções dietéticas (Jeong et al., 2021). Um aumento na ERO induz
606 um desequilíbrio redox que por sua vez afeta diferentes componentes e moléculas dentro
607 das células, como a oxidação de lipídios e proteínas (Lushchak et al., 2016). Os níveis de
608 TBARS refletem o grau de oxidação lipídica e indiretamente a gravidade do dano celular
609 (Sharma et al., 2012). No presente estudo o músculo não apresentou dano lipídico em
610 nenhum tratamento. Entretanto, Hsieh et al. (2021) relataram um aumento da peroxidação
611 lipídica do *P. vannamei* quando injetado diferentes concentrações de MP diretamente no
612 músculo do animal, onde altas concentrações não ativaram seu sistema antioxidante.
613 Neste estudo, nas brânquias a substituição pela farinha de *T. molitor* demonstrou sua
614 eficácia, reduzindo os níveis de lipídeos oxidados no tratamento MP30. Resultados

615 semelhantes foram observados em *P. monodon* quando suplementados com quitosana na
616 dieta (Niu et al., 2013). Isso pode estar relacionado à presença de compostos antioxidantes
617 naturais, como peptídeos bioativos, ácidos graxos insaturados, que atuam neutralizando
618 radicais livres (Nogales-Mérida et al., 2019). Por sua vez as brânquias são altamente
619 expostas ao meio aquático, funcionando como interface com o ambiente externo, o que
620 as torna alvos preferenciais para acúmulo de ERO e microplásticos, portanto aumentar a
621 proteção deste tecido pode reduzir danos que afetaria o funcionamento fisiológico do
622 animal como trocas gasosas e osmorregulação (Balbi et al., 2021). Em hepatopâncreas, a
623 farinha do *T.molitor* na substituição de 15 % foi observado maiores danos lipídicos
624 comparado com o controle que não recebeu substituição (CTL0). Neste mesmo
625 tratamento, também foi possível observar um aumento dos níveis de GSH. Uma possível
626 explicação para os resultados obtidos é que para induzir uma melhora nas respostas
627 antioxidantes é necessária uma situação pró-oxidativa para causar a oxidação da proteína
628 Keap-1 para que libere o fator Nrf2 e este migre para o núcleo induzindo a expressão de
629 genes antioxidantes. Entretanto, na coexposição aos MP (MP30) mostrou normalizar os
630 níveis de TBARS que pode estar associada a outras respostas antioxidantes recrutadas
631 para lidar com a situação pró-oxidativa induzida pela exposição aos MP.

632 Os danos lipídicos podem afetar diversas funções fisiológicas, considerando que, na
633 maioria dos crustáceos, o hepatopâncreas representa o principal órgão de armazenamento
634 e metabolismo de carboidratos e lipídios. Esses nutrientes são fundamentais para suprir
635 as exigências energéticas de processos vitais, reforçando a importância de estratégias
636 nutricionais funcionais para mitigar os efeitos tóxicos de contaminantes ambientais como
637 os microplásticos, especialmente em tecidos com funções metabólicas e imunológicas
638 centrais, muda e a reprodução, além de contribuir para a adaptação do organismo frente
639 a condições adversas.

640 Os microplásticos são identificados em diversos órgãos de crustáceos, incluindo
641 brânquias, trato gastrointestinal, musculatura e hepatopâncreas, podendo comprometer a
642 funcionalidade desses tecidos e provocar alterações fisiológicas relevantes. Apesar dos
643 microplásticos ter uma escala micrométrica, são mais tóxicos do que os plásticos maiores.
644 Pois é mais fácil entrar através de barreiras biológicas pelo seu pequeno tamanho, sendo
645 transportado para diferentes tecidos do animal. Podendo afetar o consumidor final,
646 entrando na cadeia alimentar afetando a saúde humana (Lehner et al., 2019).

647 No presente estudo, MP foram detectados em todos os tecidos analisados após a
648 digestão, evidenciando que, quando incorporados na formulação das rações
649 experimentais, os MP foram efetivamente ingeridos e absorvidos pelos camarões. A
650 inclusão do polímero foi padronizada em todos os tratamentos, com uma concentração de
651 40 µg de MP por quilograma de ração. Após a análise microscópica de todos os campos
652 da lâmina, observou-se que, nas brânquias, houve acúmulo de fragmentos de
653 microplásticos, embora em menor quantidade quando comparado a outros tecidos. As
654 brânquias dos camarões, por estarem em contato direto e constante com a coluna d'água,
655 atuam como barreiras físicas e fisiológicas na interação com contaminantes, como os
656 microplásticos. A produção de muco, o batimento de apêndices branquiais e a ventilação
657 contínua possibilitam uma eliminação parcial de MP, reduzindo o acúmulo permanente
658 nesse tecido (Canesi et al., 2012). Alguns estudos indicam também pelo tempo de
659 exposição do animal. Hariharan et al. (2022) investigaram os efeitos dos microplásticos
660 (MP) de polietileno sobre a ingestão, o crescimento e as respostas enzimáticas em *P.*
661 *vannamei*. Os autores observaram que a ingestão das partículas está relacionada ao tempo
662 de exposição do que à sua concentração, e confirmaram que partículas de menor diâmetro
663 tendem a se acumular em maior grau do que as maiores. Dessa forma, o tamanho das
664 partículas foi apontado como um fator determinante para a ingestão e bioacumulação de
665 MP do que sua densidade.

666 No hepatopâncreas observamos um acúmulo mais exacerbado em todos os campos.
667 Em caranguejo (*Eriocheir sinensi*) também foi encontrado MP em hepatopâncreas, após
668 7 dias de exposição ao polímero (Yu et al., 2018). Chen et al. (2020) relataram a retenção
669 de esferas de poliestireno de tamanho nanométrico no hepatopâncreas e intestinos do
670 lagostim australiano (*Cherax quadricarinatus*) exposta por 21 dias. A exposição a
671 microplásticos via alimentação evidencia a transferência trófica desses contaminantes ao
672 longo da cadeia alimentar. Esses materiais podem provocar lesões no trato gastrointestinal
673 ou obstruções, resultando em uma falsa sensação de saciedade, o que pode comprometer
674 o estado fisiológico do organismo e levar ao enfraquecimento geral (Hirt e Body-Malapel,
675 2020). Hsieh e colaboradores (2021) injetaram MP diretamente no músculo do *P.*
676 *vannamei*, foi observado que os MP se dispersam pelo sistema circulatório, alcançando e
677 se acumulando no hepatopâncreas. Dependendo da via de exposição, esses contaminantes
678 possam se acumular progressivamente em diversos tecidos do organismo. Estudos

679 indicam que o acúmulo de MP no hepatopâncreas está associado a alterações
680 morfológicas, aumento das enzimas antioxidantes e danos oxidativos, o que pode
681 comprometer funções metabólicas essenciais, como a síntese de enzimas digestivas e a
682 regulação do crescimento (D'Costa, 2022). Alterações funcionais nesse órgão podem
683 comprometer seriamente sua capacidade de desintoxicação, dificultando a eliminação de
684 microplásticos e outros contaminantes, além de impactar negativamente a saúde geral do
685 organismo.

686 Apesar disso o músculo também foi afetado, diante de todos os processos para o
687 animal tentar expulsar o MP, a farinha de *T. molitor* não foi capaz de reverter essa
688 acumulação. Hsieh et al., (2021) relataram que a inclusão diretamente no músculo do *P.*
689 *vannamei* durante 7 dias reduz a taxa de sobrevivência em 40%. O músculo, ao contrário
690 do hepatopâncreas ou das brânquias, possui funções voltadas para a locomoção e o
691 armazenamento de energia, tendo menor capacidade de metabolização e excreção de
692 substâncias xenobióticas. Uma vez absorvidos, os microplásticos podem se deslocar pelo
693 trato gastrointestinal, sendo posteriormente depositados no tecido muscular. A estrutura
694 do músculo, com capilarização relativamente reduzida em comparação com órgãos
695 metabolicamente ativos, dificulta a remoção desses contaminantes por vias excretoras,
696 promovendo sua retenção a longo prazo (Barboza et al., 2018). Outro ponto relevante é
697 que os microplásticos atuam como vetores eficientes de microrganismos, podendo
698 transportar patógenos por longas distâncias e favorecer sua disseminação. Além disso,
699 essas partículas apresentam alta capacidade de adsorver diversos poluentes, como metais
700 pesados, potencializando a exposição dos organismos aquáticos a múltiplos
701 contaminantes. Dessa forma, a presença de MP no tecido muscular é a principal porção
702 comestível comercializada em espécies cultivadas. Diversos estudos já apontam a
703 transferência de microplásticos ao longo da cadeia trófica, demonstrando que esses
704 contaminantes podem atingir o consumidor final por meio do consumo de produtos
705 aquícolas. Esse acúmulo é particularmente relevante do ponto de vista da saúde pública,
706 consequentemente, a ingestão é considerada uma das principais vias de exposição humana
707 aos microplásticos, elevando os riscos potenciais à segurança alimentar (Barboza et al.,
708 2018).

709

710 6 CONCLUSÃO

711

712 A exposição a microplásticos tem sido associada a uma variedade de efeitos tóxicos
713 em organismos aquáticos, sendo grande parte desses impactos vinculada à indução ao
714 estresse oxidativo. No presente estudo a farinha de *T. molitor* se mostrou eficiente em
715 diversos aspectos. Em parâmetros de desempenho zootécnico a substituição foi eficiente
716 em termos de crescimento no tratamento CTL30. O *T. molitor* representa como uma das
717 alternativas promissoras para a substituição da farinha de peixe em dietas aquícolas. Sob
718 a perspectiva econômica, sua produção pode ser implementada em pequena escala, o que
719 contribui significativamente para a redução dos custos operacionais. Em sistemas
720 otimizados, o custo da farinha obtida torna-se competitivo em relação à farinha de peixe,
721 apresentando ainda as vantagens de menor impacto ambiental e maior viabilidade de
722 escalonamento em modelos produtivos sustentáveis.

723 De modo geral, os diferentes tecidos analisados apresentaram respostas biológicas
724 distintas frente à exposição aos microplásticos. Dentre eles, o hepatopâncreas destacou-
725 se como o órgão mais sensível, demonstrando ativação significativa do sistema de defesa
726 antioxidante, evidenciada por alterações nos níveis de glutathione reduzida (GSH),
727 atividade da glutathione peroxidase (GPx) e peroxidação lipídica (TBARS). Os resultados
728 obtidos evidenciam que a exposição aos microplásticos promovem alterações
729 significativas no equilíbrio redox nos diferentes tecidos *Penaeus vannamei*, o que pode,
730 a longo prazo, comprometer funções fisiológicas essenciais, como o crescimento e a
731 reprodução, em razão da elevada demanda energética envolvida na resposta ao estresse
732 oxidativo. A inclusão da farinha de *T. molitor* nas dietas, nos níveis de substituição de
733 15% e 30%, demonstrou eficácia na modulação dos bioindicadores antioxidantes,
734 sugerindo seu potencial como estratégia nutricional. A mesma se mostrou eficiente frente
735 a exposição aos MP apenas na GSH e danos lipídicos, porém não se mostrou eficiente aos
736 outros bioindicadores frente a exposição e acumulação durante 21 dias de experimento.

737 A compreensão aprofundada dos mecanismos envolvidos nos efeitos dos
738 microplásticos sobre os organismos aquáticos, em especial *Penaeus vannamei*, permite a
739 adoção de medidas eficazes para reverter danos oxidativos. Além disso, contribui para o
740 desenvolvimento de estratégias nutricionais inovadoras, como o uso de fontes alternativas
741 de proteína, visando a redução dos danos oxidativos, o fortalecimento do sistema

742 imunológico e o aumento da resistência às doenças. Tais avanços são essenciais para
743 assegurar a sobrevivência dos animais cultivados, preservar o equilíbrio dos ecossistemas
744 aquáticos e garantir a segurança alimentar e a saúde humana.

745 REFERÊNCIAS

746

- 747 AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FISHERIES
748 DEPARTMENT. 2018. The state of world fisheries and aquaculture. Rome: FAO,
749 2018. <https://doi.org/10.18356/8d6ea4b6-en>
- 750 AINI, N, RA NUGROHO & N HARIANI. 2018. Growth and survival evaluation of
751 *Oreochromis Sp* fed *Hermetia illucens* larva and *Manihot esculenta* leaves meal.
752 Biosaintifika: J. Biol. Educ., 10: 565-573.
753 <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v10i3.15278>
- 754 ALFIKO, Y, D XIE, RT ASTUTI, J WONG & L WANG. 2021. Insects as a feed
755 ingredient for fish culture: Status and trends. Aquac Fish., 7: 166-178
756 <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.10.004>
- 757 AMAP. 2021. AMAP Litter and Microplastics Monitoring Guidelines. Version 1.0. Arctic
758 Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Tromsø, Norway, 257p.
- 759 APHA (American Public Health Association). 1998. Standard methods for the
760 examination of water and wastewater. Washington, DC. 1193p.
- 761 AOAC INTERNATIONAL. 1999. Official methods of analysis. 16ed. Washington:
762 Association of Official Analytical Chemists. 114p.
- 763 ARUN, S & P SUBRAMANIAN. 1998. Antioxidant enzymes in freshwater prawn
764 *Macrobrachium malcolmsonii* during embryonic and larval development.
765 Biochem. Physiol. - B Biochem. Mol. Biol., 121: 273-277.
766 [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(98\)10100-1](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(98)10100-1)
- 767 BALBI, T, MAUGUSTE, C CIACCI & L CANESI. 2021. Immunological Responses of
768 Marine Bivalves to Contaminant Exposure: Contribution of the-Omics Approach.
769 Front. Immunol., 12: 61872. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.618726>
- 770 BARBOSA, KBF. NMB COSTA, RCG ALFENAS, SO DE PAULA, VPR MINIM & J
771 BRESSAN. 2010. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores
772 modulatórios. Rev. Nutr., 23: 629-643. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>
- 774 BARBOZA, LGA, LR VIEIRA, V BRANCO, N FIGUEIREDO & F CARVALHO.
775 2017. Microplastics cause neurotoxicity, oxidative damage and energy-related
776 changes and interact with the bioaccumulation of mercury in the European
777 seabass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). Aquat. Toxicol., 195: 49-57.
778 <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.12.008>
- 779 BEUTLER, E. 1975. A manual of biochemical methods. New York: Grune & Stratton.
780 160p.

781 BLIGH, EG & WJ DYER. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification.
782 Can. J. Biochem. Physiol., 37: 911-917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>

783 BOYD, C. E. Overview of aquaculture feeds: Global impacts of ingredient use. *In*:
784 DAVIS, DA. (ed.). Feed and Feeding Practices in Aquaculture. Woodhead
785 Publishing, Cambridge, Chap., 1: 3-25. [https://doi.org/10.1016/B978-0-08-](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100506-4.00001-5)
786 [100506-4.00001-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100506-4.00001-5)

787 BROL, J., SM PINHO, T SGNAULIN, KR PEREIRA, MC THOMAS, GL MELLO, A
788 MIRANDA-BAEZA & MGC EMERENCIANO. 2017. Dietary chitosan
789 supplementation in *Litopenaeus vannamei* reared in a biofloc system: Effect on
790 antioxidant status facing saline stress. Aquaculture, 544: 737034..
791 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737034>

792 CANESI, L., C CIACCI, R FABBRI, A MARCOMINI, G POJANA & G GALLO. 2012.
793 Bivalve molluscs as a unique target group for nanoparticle toxicity. Mar. Environ.
794 Res., 76: 16-21. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2011.06.005>

795 CAO, J, J YAN, G WANG, Y HUANG, R ZHANG, T ZHOU, ... & Z SUN. 2012. Effects
796 of replacement of fish meal with housefly maggot meal on digestive enzymes,
797 transaminases activities and hepatopancreas histological structure of *Litopenaeus*
798 *vannamei*. South China Fisheries Science, 8(5): 72-79. DOI: 10.3969/j.issn.2095-
799 0780.2012.05.011

800 CHEN, Q., XQ CHEN, LX TIAN, YJ LIU & J NIU. 2020. Effects of exposure to
801 waterborne polystyrene microspheres on lipid metabolism in the hepatopancreas
802 of juvenile redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. Aquat. Toxicol., 224:
803 105497. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105497>

804 COSTA NETO, E. M. 2011. Antropoentomofagia: insetos na alimentação humana. Feira
805 de Santana: UEFS. 256p. DOI: <https://doi.org/10.7476/9786589524977>

806 CUMMINS JR, V. C., S RAWLES, K THOMPSON, A VELASQUEZ, Y KOBAYASHI,
807 J HAGER & C WEBSTER. 2017. Evaluation of black soldier fly (*Hermetia*
808 *illucens*) larvae meal as partial or total replacement of marine fish meal in practical
809 diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture. 473: 337-
810 344. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.02.022>

811 D'COSTA, A. H. 2022. Microplastics in decapod crustaceans: Accumulation, toxicity and
812 impacts, a review. Sci. Total Environ., 832: 154963.
813 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154963>

814 DING, J., T MA, M CUI, R SHAO, R GUAN & P WAHNG. 2018a. Gas phase
815 dehydration of glycerol to acrolein over Cs₂. 5H₀. 5PW12O₄₀/Zr-MCM-41
816 catalysts prepared by supercritical impregnation. Mol., Catal. 461: 1-9.
817 <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2018.09.021>

818 DING, J., S ZHANG, RM RAZANAJATOVO, H ZOU & W ZHU. 2018b. Accumulation,
819 tissue distribution, and biochemical effects of polystyrene microplastics in the
820 freshwater fish red tilapia (*Oreochromis niloticus*). Environ. Pollut., 238: 1-9.
821 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.03.001>

822 FAO. 2013. The State of Food Insecurity in the World 2013: The Multiple Dimensions of
823 Food Security. 56p. ISBN 978-92-5-107916-4

824 FAO, IFAD, UNICEF, WFP, WHO. 2022. The State of Food Security and Nutrition in the
825 World 2022: Repurposing food and agricultural policies to make healthy diets
826 more affordable. 260 p. ISBN 978-92-5-136499-4.

827 FENG, S, Y ZENG, Z CAI, J WU, LL CHAN, J ZHU & J ZHOU. 2021. Polystyrene
828 microplastics alter the intestinal microbiota function and the hepatic metabolism
829 status in marine medaka (*Oryzias melastigma*). Sci. Total Environ., 759: 143558.
830 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143558>

831 FERREIRO, J., MS IDIARTE, J OLIVEIRA, S CRUZ, GS CORREA, L MULLER & J
832 VENTURA-LIMA. 2025. Oxidative and metabolic responses in *Crassostrea*
833 *gasar* under combined stressors of elevated temperature and microplastic
834 exposure. Comp. Biochem. Physiol. C., 294: 110204, 2.
835 <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2025.110204>

836 FLEGEL, T.W. 2012. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens
837 in Asia. J. Invertebr. Pathol., 110: 166-173.
838 <https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.03.004>

839 FRECCIA, A, JSB TUBIN, AN ROMBENSO & MGC EMERENCIANO. 2020. Insects
840 in aquaculture nutrition: an emerging eco-friendly approach or commercial
841 reality? In Emerging technologies, environment and research for sustainable
842 aquaculture. IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.90489

843 GHOSH, S, SM LEE, C JUNG & VB MEYER-ROCHOW. 2017. Nutritional
844 composition of five commercial edible insects in South Korea. J of Asia-Pac.,
845 Entomol. 20: 686-694, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.04.003>

846 GKINALI, AA, A MATSAKIDOU, E VASILEIOU & A PARASKEVOPOULOU. 2022.
847 Potentiality of *Tenebrio molitor* larva-based ingredients for the food industry: A
848 review. Trends Food Sci. Technol., 119: 495-507.
849 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.024>

850 HABIG, WHPJ. 1974. The First the First. J Biol. Chem. 240: 11.

851 HALLIWELL, B & JM GUTTERIDGE. 2015. Free radicals in biology and medicine.
852 Oxford: Oxford University Press, 2015.
853 <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>

854 HAMED, M, HAM SOLIMAN, AEA BADREY & AGM OSMAN. 2021. Microplastics
855 induced histopathological lesions in some tissues of tilapia (*Oreochromis*
856 *niloticus*) early juveniles. Tissue Cell. 71: 101512.
857 <https://doi.org/10.1016/j.tice.2021.101512>

858 HARIHARAN, G, R PURVAJA, I ANANDAVELU, RS ROBIN & R RAMESH. 2022.
859 Ingestion and toxic impacts of weathered polyethylene (wPE) microplastics and
860 stress defensive responses in whiteleg shrimp (*Penaeus*
861 *vannamei*). Chemosphere. 300: 134487.
862 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134487>

863 HIDALGO, MCA, AE MORALES, HJ PULA, C TOMÁS-ALMENAR, MJ SÁNCHEZ-
864 MUROS, F MELENCHÓN, D FABRIKOV & G CARDENETE, G. 2022.
865 Oxidative metabolism of gut and innate immune status in skin and blood of tench
866 (*Tinca tinca*) fed with different insect meals (*Hermetia illucens* and *Tenebrio*
867 *molitor*). Aquaculture. 558: 738384.
868 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738384>

869 HIRT, N & M BODY-MALAPEL. 2020. Immunotoxicity and intestinal effects of nano-
870 and microplastics: a review of the literature. Part. Fibre Toxicol., 17: 1-22, 2020.
871 DOI: 10.1186/s12989-020-00387-7

872 HSIEH, SL., YC WU, RQ XU, YT CHEN, CW CHEN, RR SINGHANIA & CD DONG.
873 2021. Effect of polyethylene microplastics on oxidative stress and histopathology
874 damage in *Litopenaeus vannamei*. Environ. Pollut., 288: 117800.
875 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117800>

876 IGHODARO, OM & OA AKINLOYE. 2018. First line defence antioxidants-superoxide
877 dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their
878 fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alex. J. Med., 54: 287-
879 293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>

880 IHEANACHO, S, M OGBUM, J EKPEYOUNG, E TABI, A IHEANACHO, MS
881 BHUYAN & J OGUNJI. 2023. COVID-19 waste as source of microplastics in the
882 environment: implication for aquatic species, human, and remediation measures-
883 a review. Pollution. 9: 591-614. DOI: 10.22059/POLL.2022.347858.1601

884 INTERGOVERNMENTAL OCEANOGRAPHIC COMMISSION; UNITED NATIONS
885 ENVIRONMENT PROGRAMME. 1983. Chemical methods for use in marine
886 environmental monitoring. Paris: UNESCO, 1983. 53 p. (IOC. Manuals and
887 Guides). Disponível em: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000055950>
888 Acesso em: 2 abr. 2025.

889 JEONG, S. M., S KHOSRAVI, KY YOON, KW KIM, BJ LEE, SW HUR & SM LEE.
890 2021. Mealworm, *Tenebrio molitor*, as a feed ingredient for juvenile olive
891 flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquac., Rep. 20: 100747.
892 <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100747>

893 JONES, DP. 2006. Extracellular redox state: refining the definition of oxidative stress in
894 aging. Rejuvenation Res., 9(2): 169-181. DOI: 10.1089/rej.2006.9.169

895 JORY, D, T. CABRERA, D. DUGGER, D. FEGAN, C. BERGER, J. ORRANTIA, A.
896 WAINBERG, H. PEREZ, J. CASTAOEDA, R. MCINTOSH, M. M. MOYA, C.
897 JACKSON, W. VARGAS & L. EVANS. A global review of shrimp feed
898 management: status and perspectives. In: Aquaculture, The Annual International
899 Conference and Exhibition of the World Aquaculture Society, Book of
900 Abstracts.318p.

901 KANG, HM, E BYEON, H JEONG, MS KIM, Q CHEN & JS LEE. 2021. Different
902 effects of nano-and microplastics on oxidative status and gut microbiota in the
903 marine medaka *Oryzias melastigma*. J. Hazard. Mater., 405: 124207.
904 <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124207>

905 KARLSEN, Ø, HAMLUND, A BERG & RE OLSEN. 2017. The effect of dietary chitin
 906 on growth and nutrient digestibility in farmed Atlantic cod, Atlantic salmon and
 907 Atlantic halibut. *Aquac. Res.*, 48 (1): 123-133. <https://doi.org/10.1111/are.12867>

908 KIM, JH, YJ KANG, K IL KIM, S K KIM & JH KIM. 2019. Toxic effects of nitrogenous
 909 compounds (ammonia, nitrite, and nitrate) on acute toxicity and antioxidant
 910 responses of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Environ. Toxicol.*
 911 *Pharmacol.*, 67: 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.02.001>

912 KIM, JH, S K KIM & YB HUR. 2020. Toxic effects of waterborne nitrite exposure on
 913 antioxidant responses, acetylcholinesterase inhibition, and immune responses in
 914 olive flounders, *Paralichthys olivaceus*, reared in bio-floc and seawater. *Fish &*
 915 *Shellfish Immunol.*, 97: 581-586. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.059>

916 KIM, J. H.; YB YU & JH CHOI. 2021. Toxic effects on bioaccumulation, hematological
 917 parameters, oxidative stress, immune responses and neurotoxicity in fish exposed
 918 to microplastics: a review. *J. Hazard. Mater.*, 413: 125423. DOI:
 919 <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125423>

920 KUMAR, BTN, HS MURTHY, P PATIL, P DODDAMANI & R PATIL. 2015. Enhanced
 921 immune response and resistance to white tail disease in chitin-diet fed freshwater
 922 prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquac., Rep.* 2: 34-38.
 923 <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2015.06.001>

924 LAI, WWP, J LIN, YH WANG & YIL GUO. 2018. *Occurrence* of emerging contaminants
 925 in aquaculture waters: cross-contamination between aquaculture systems and
 926 surrounding waters. *Water Air Soil Pollut.*, 229: 1-12.
 927 <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3901-3>

928 LEHNER, R, C WEDER, A PETRI-FINK & B ROTHEN-RUTISHAUSER. 2019.
 929 Emergence of nanoplastic in the environment and possible impact on human
 930 health. *Environ. Sci. Technol.*, 53: 1748-1765.
 931 <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05512>

932 LI, X, Y WANG, H LI, X JIANG, L JI, T LIU & Y SUN. 2021. Chemical and quality
 933 evaluation of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: Influence of strains on
 934 flesh nutrition. *Food Sci. Nutrit.*, 9: 5352-5360. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2457>

935 LIU, JD, WB LIU , CY ZHANG , CY XU , XC ZHENG , DD ZHANG & C CHI · 2020.
 936 Dietary glutathione supplementation enhances antioxidant activity and protects
 937 against lipopolysaccharide-induced acute hepatopancreatic injury and cell
 938 apoptosis in Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *Fish Shellfish Immunol.*, 97:
 939 440–454. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.049>

940 LIU, Y, S WU, L CHEN, X TENG, H SHI, C XUE & Z LI. 2025. Metabolic profiles and
 941 protein expression responses of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) to polystyrene
 942 microplastic stress. *Food Chem.*, 462: 140961.
 943 DOI: 10.1016/j.foodchem.2024.140961

944 LUSHCHAK, VI. 2016. Contaminant-induced oxidative stress in fish: a mechanistic
 945 approach. *Fish Physiol. Biochem.*, 42: 711-747. DOI: 10.1007/s10695-015-0171-
 946 5

947 LUSHER, AL, M MCHUGH & RC THOMPON. 2013. Occurrence of microplastics in
 948 the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel.
 949 Mar. Pollut. Bull., 67: 94-99. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.11.028>

950 LUSHER, A, P HOLLMAN & J MENDOZA-HILL. 2017. Microplastics in fisheries and
 951 aquaculture: status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic
 952 organisms and food safety. Roma: FAO, 2017. (FAO Fish. Aquacult. Tech. Pap.
 953 615). <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/ca3549en>

954 MKUYE, R, S GONG, L ZHAO, F MASANJA, C NDANDALA, E, BUBELWA ... & Y
 955 DENG. 2022. Effects of microplastics on physiological performance of marine
 956 bivalves, potential impacts, and enlightening the future based on a comparative
 957 study. Sci. Total Environ., 838: 155933.
 958 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155933>

959 MARTINS, ÁCS, J. ARTIGAS FLORES, C. PORTO, LA ROMANO, W WASIELESKY
 960 JUNIOR, SS CALDAS, EG PRIMEL, I KÜLKAMP-GUERREIRO & JM
 961 MONSERRAT. 2018. Antioxidant effects of nanoencapsulated lipoic acid in
 962 tissues and on the immune condition in haemolymph of Pacific white shrimp
 963 *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Aquac. Nutr., 24: 1255-1262.
 964 <https://doi.org/10.1111/anu.12663>

965 MCCORD, JM & I FRIDOVICH. 1969. Superoxide dismutase: an enzymic function for
 966 erythrocyte (hemocytin). J. Biol. Chem., 244: 6049-6055.
 967 [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)63504-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)63504-5)

968 MCNAMARA, JC & SC FARIA. 2012. Evolution of osmoregulatory patterns and gill
 969 ion transport mechanisms in the decapod Crustacea: a review. J. Comp. Physiol.,
 970 B. 182: 997-1014. DOI: 10.1007/s00360-012-0665-8

971 MENEGUZ, M, A SCHIAVONE, F GAI, A DAMA, C LUSSIANA, M RENNA & L
 972 GASCO. 2018. Effect of rearing substrate on growth performance, waste
 973 reduction efficiency and chemical composition of black soldier fly (*Hermetia*
 974 *illucens*) larvae. J. Sci. Food Agric., 98: 5776-5784. DOI: 10.1002/jsfa.9127

975 MOSS, SM, DUSTIN R MOSS, STEVE M ARCE, DONALD V LIGHTNER &
 976 JEFFREY M LOTZ. 2012. The role of selective breeding and biosecurity in the
 977 prevention of disease in penaeid shrimp aquaculture. J. Invertebr. Pathol., 110:
 978 247-250. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.01.013>

979 MOTTE, C, A RIOS, T LEFEBVRE, H DO, M HENRY & O JINTASATAPORN. 2019.
 980 Replacing fish meal with defatted insect meal (Yellow Mealworm *Tenebrio*
 981 *molitor*) improves the growth and immunity of pacific white shrimp (*Litopenaeus*
 982 *vannamei*). Animals, 9:258. <https://doi.org/10.3390/ani9050258>

983 NIKI, E. 2014. Antioxidants: basic principles, emerging concepts, and problems. Biomed.
 984 J., 37, 106-111. DOI: 10.4103/2319-4170.128727

985 NIU, J, HZ LIN, SG JIANG & X CHEN. 2021. Comparison of effect of chitin, chitosan,
 986 chitosan oligosaccharide and N-acetyl-d-glucosamine on growth performance,
 987 antioxidant defenses and oxidative stress status of *Penaeumonodon*. Aquaculture,
 988 372: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.10.021>

- 989 NOGALES-MÉRIDA, S, P GOBBI, D JÓZEFIK, J MAZURKIEWICZ, K DUDEK, M
990 RAWSKI, B KIEROŃCZYK & A JÓZEFIK. 2019. Insect meals in fish
991 nutrition. 2019. Rev. Aquac., 11: 1080-1103. <https://doi.org/10.1111/raq.12281>
- 992 OAKES, KD & GJ VAN DER KRAAK. 2003. Utility of the TBARS assay in detecting
993 oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to
994 pulp mill effluent. Aquat. Toxicol., 63: 447-463, 2003.
995 [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(02\)00204-7](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(02)00204-7)
- 996 OGUNJI, JO, J NIMPTSCH, C WIEGAND & C SCHULZ. 2007. Evaluation of the
997 influence of housefly maggot meal (maggot) diets on catalase, glutathione S-
998 transferase and glycogen concentration in the liver of *Oreochromis niloticus*
999 fingerling. Comp. Biochem. Physiol., A. 4: 942-94.
1000 <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.02.028>
- 1001 ORTIZ, C., MÜLLER, L., BORGES, L., DE ALMEIDA PINTO, L. A., CADAVAL JR,
1002 T. R. S. A., TESSER, M. B., ... & Ventura-Lima, J. (2024). The use of chitosan as
1003 an antioxidant in the feed of cultivated *P. vannamei* shrimp against oxidative stress
1004 induced by exposure to microplastics. *Marine Environmental Research*, 202,
1005 106747. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2024.106747>
- 1006 PIRES, A, A CUCCARO, M SOLE & R FREITAS. 2022. Micro (nano) plastics and
1007 plastic additives effects in marine annelids: A literature review. Environ. Res.,
1008 214: 113642. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113642>
- 1009 PROKIĆ, BR GAVRILOVIĆ, TB RADOVANOVIĆ, JP. GAVRIĆ, TG. PETROVIĆ, S
1010 G DESPOTOVIĆ & C FAGGIO. 2021. Studying microplastics: Lessons from
1011 evaluated literature on animal model organisms and experimental approaches. J.
1012 Hazard. Mater., 414: 125476, 2021.
1013 <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125476>
- 1014 QU, P, J YUAN, Y WU, S TIAN, Z WU, P CHEN, ... & W ZHANG. 2025. Yellow
1015 mealworm (*Tenebrio molitor*) meal replacing dietary fishmeal alters the intestinal
1016 microbiota, anti-oxidation and immunity of large yellow croaker (*Larimichthys*
1017 *crocea*). Fish & Shellfish Immunol., 161: 110272.
1018 <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2025.110272>
- 1019 RAY, A. J, TH DRURY, & A CECIL. 2017. Comparing clear-water RAS and biofloc
1020 systems: Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production, water quality, and biofloc
1021 nutritional contributions estimated using stable isotopes. Aquac. Eng., 77: 9-14.
1022 <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.02.002>
- 1023 RUMBOS, CI, C ADAMAKI, M GOURGUTA & I KARAPANAGIOTIDIS. 2021.
1024 Strain matters: strain effect on the larval growth and performance of the yellow
1025 mealworm, *Tenebrio molitor* L. J. Insects Food Feed., 7:1195-1206. DOI:
1026 <https://doi.org/10.3920/JIFF2021.0035>
- 1027 SEDLAK, J & RH LINDSAY. 1968. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein
1028 sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Anal. Biochem., 25: 192-205.
- 1029 SETA, AS, L MÜLLER, R TAVELLA, F M R DA SILVA JÚNIOR, V PEDROSA, L
1030 A ROMANO, W WASIELESKY, ME JOSENDE & J VENTURA-LIMA. 2023.

1031 Oxidative effects of consuming microplastics in different tissues of white shrimp
 1032 *Litopenaeus vannamei*. Mar. Pollut. Bull., 193: 115137.
 1033 <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115137>

1034 SHARIFINIA, M, Z A BAHMANBEIGLOO, M KESHAVARZIFARD, M H
 1035 KHANJANI, M DALIRI, E KOOCHAKNEJAD & M S JASOUR. 2023a.
 1036 Fishmeal replacement by mealworm (*Tenebrio molitor*) in diet of farmed Pacific
 1037 white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): effects on growth performance, serum
 1038 biochemistry, and immune response. Aquatic Living Resour., 36: 19.
 1039 <https://doi.org/10.1051/alr/2023013>

1040 SHARIFINIA, M, ZA BAHMANBEIGLOO, M KESHAVARZIFARD, M H
 1041 KHANJANI, M DALIRI, E KOOCHAKNEJAD & M S JASOUR. 2023b. The
 1042 effects of replacing fishmeal by mealworm (*Tenebrio molitor*) on digestive
 1043 enzymes activity and hepatopancreatic biochemical indices of *Litopenaeus*
 1044 *vannamei*. Ann. Anim. Sci., 23: 519-528. <https://doi.org/10.2478/aoas-2022-0099>

1045 SHARMA, SRK, G RATHORE, D K VERMA, N SADHU & K K PHILIPOSE. 2012.
 1046 *Vibrio alginolyticus* infection in Asian seabass (*Lates calcarifer*, Bloch) reared in
 1047 open sea floating cages in India. Aquac. Res., 44: 86-92.
 1048 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03013.x>

1049 SOLOMANDO, A, X CAPÓ, C ALOMAR, E ÁLVAREZ, M COMPA, J M
 1050 VALENCIA, S PINYA, S DEUDERO & A SUREDA. 2020. Long-term exposure
 1051 to microplastics induces oxidative stress and a pro-inflammatory response in the
 1052 gut of *Sparus aurata* Linnaeus, 1758. Environ. Pollut., 266: 115295.
 1053 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115295>

1054 SOUZA, DM, AC MARTINS, L JENSEN, W WASIELESKY JR, JM MONSERRTA &
 1055 LO GARCIA. 2014. Effect of temperature on antioxidant enzymatic activity in
 1056 the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in a BFT (Biofloc technology)
 1057 system. Mar. Fresh. Behav. Physiol., 47: 1-10.
 1058 <https://doi.org/10.1080/10236244.2013.857476>

1059 TENG, J, J ZHAO, X ZHU, E SHAN, C ZHANG, W ZHANG & Q WANG. 2021.
 1060 Toxic effects of exposure to microplastics with environmentally relevant shapes
 1061 and concentrations: Accumulation, energy metabolism and tissue damage in
 1062 oyster *Crassostrea gigas*. Environ. Pollut., 269: 116169.
 1063 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116169>

1064 VELDKAMP, T, N MEIJER, F ALLEWELDT, D DERUYTTER, L VAN
 1065 CAMPENHOUT, L GASCO, ... & HJ VAN DER FELS-KLERX. 2022.
 1066 Overcoming technical and market barriers to enable sustainable large-scale
 1067 production and consumption of insect proteins in Europe: A susinchain
 1068 perspective. Insects, 13: 281. <https://doi.org/10.3390/insects13030281>

1069 VOGT, G. Functional cytology of the hepatopancreas of decapod crustaceans. 2019. J.
 1070 Morphol., 280: 1405-1444. <https://doi.org/10.1002/jmor.21040>

1071 WAN, Z, C WANG, J ZHOU, M SHEN, X WANG, Z FU & Y JIN. 2019. Effects of
 1072 polystyrene microplastics on the composition of the microbiome and metabolism

1073 in larval zebrafish. Chemosphere, 217: 646-658.
1074 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.070>

1075 WANG, G, K PENG, J HU, W MO, Z WEI & Y HUANG. 2021. Evaluation of defatted
1076 *Hermetia illucens* larvae meal for *Litopenaeus vannamei*: effects on growth
1077 performance, nutrition retention, antioxidant and immune response, digestive
1078 enzyme activity and hepatic morphology. Aquac. Nutr., 27: 986-997.
1079 <https://doi.org/10.1111/anu.13240>

1080 WANG, J, Y LI, L LU, M ZHENG, X ZHANG, H TIAN, W WANG & S RU. 2019.
1081 Polystyrene microplastics cause tissue damages, sex-specific reproductive
1082 disruption and transgenerational effects in marine medaka (*Oryzias melastigma*).
1083 Environ. Pollut., 254: 113024. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113024>

1084 YANG, L, M CAI, L ZHONG, Y YIN, Y XIE, S XIE, ... & J ZHANG. 2025. Yellow
1085 mealworm (*Tenebrio molitor*) meal in diets of grass carp (*Ctenopharyngodon*
1086 *idellus*): Effects on growth performance, antioxidant capacity, immunity,
1087 intestinal morphology, and intestinal microbiota. Anim. Nutr., 21: 70-83.
1088 <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2025.01.001>

1089 YU, P, Z LIU, D WU, M CHEN, W LV & Y ZHAO. 2018. Accumulation of polystyrene
1090 microplastics in juvenile *Eriocheir sinensis* and oxidative stress effects in the liver.
1091 Aquat. Toxicol., 200: 28-36, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.04.015>

1092 ZAR, J.H. 1984. Biostatistical Analysis. 2ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall Inc. 778p.

1093 ZENG, Y, B DENG, Z KANG, P ARAUJO, SA MJØS, R LIU, J LIN, T YANG &
1094 Y QU. 2023. Tissue accumulation of polystyrene microplastics causes oxidative
1095 stress, hepatopancreatic injury and metabolome alterations in *Litopenaeus*
1096 *vannamei*. Ecotoxicol. Environ. Saf., 256: 114871.
1097 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114871>

1098 ZHANG P, X ZHANG, J LI & T GAO. 2009. Effect of salinity on survival, growth,
1099 oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile whiteleg shrimp,
1100 *Litopenaeus vannamei*. Aquac. Res., 40: 1419-1427.
1101 <https://doi.org/10.1111/j.1365-1589.2109.2009.02240>

1102 ZHENG, Y, C HOU, J CHEN, H WANG, H YUAN, N HU, L SHI & S ZHANG. 2023.
1103 Integrating microbiome and transcriptome analyses to understand the effect of
1104 replacing fishmeal with *Tenebrio molitor* meal in Pacific white shrimp
1105 (*Litopenaeus vannamei*) diets. Aquaculture, 575: 739818.
1106 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739818>

1107