



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE PESCA E AQUICULTURA

CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA DE PESCA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM PROBIÓTICO NA MICROBIOTA
INTESTINAL DE ACARÁ-BANDEIRA (*Pterophyllum scalare*)**

MARIA EUNICE SOUZA DA SILVA LIRA

Recife, PE

2025



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE PESCA E AQUICULTURA

CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA DE PESCA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM PROBIÓTICO NA MICROBIOTA
INTESTINAL DE ACARÁ-BANDEIRA (*Pterophyllum scalare*)**

MARIA EUNICE SOUZA DA SILVA LIRA

Trabalho de conclusão de curso apresentado na forma de artigo científico ao Curso de Bacharelado de Engenharia em Pesca/UFRPE como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Pesca

Orientadora: Prof. Dra. Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva

Recife, PE

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecário(a): Suely Manzi – CRB-4 809

L768e Lira, Maria Eunice Souza da Silva.
Efeito da suplementação dietética com probiótico na
microbiota intestinal de acará-bandeira (*Pterophyllum*
scalare) / Maria Eunice Souza da Silva Lira. – Recife, 2025.
26 f.

Orientador(a): Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado
em Engenharia de Pesca, Recife, BR-PE, 2026.

Inclui referências.

1. Microbiologia. 2. Peixes ornamentais. 3. Probióticos.
4. Suplementação alimentar 5. Intestinos. I. Silva, Suzianny
Maria Bezerra Cabral da, orient. II. Título

CDD 639.3

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE PESCA E AQUICULTURA
CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA DE PESCA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM PROBIÓTICO NA MICROBIOTA
INTESTINAL DE ACARÁ-BANDEIRA (*Pterophyllum scalare*)**

Maria Eunice Souza da Silva Lira

Banca Examinadora

Prof. Dra. Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva
(Orientadora)

[Departamento de Pesca e Aquicultura]
[Universidade Federal Rural de Pernambuco]

Prof. Dr. Alfredo Olivera Gálvez
[Departamento de Pesca e Aquicultura]
[Universidade Federal Rural de Pernambuco]

Prof. Dr. Fernando Leandro dos Santos
[Departamento de Pesca e Aquicultura]
[Universidade Federal Rural de Pernambuco]

Trabalho apresentado e aprovado dia 22/12/2025

RECIFE – PE

2025

DEDICATÓRIA

À minha mãe, que superou com coragem todos os medos e desafios da vida para me proporcionar o poder da escolha. Seu amor incondicional que me fortalece e me inspira a cada dia.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, pelo privilégio de poder realizar mais um dos meus sonhos, por me conceder força, sabedoria e serenidade para trilhar meu futuro.

Ao meu amor, Renan, que fisicamente e emocionalmente me deu conforto e apoio em cada etapa deste trabalho. Obrigada por me escutar, incentivar nos momentos de incertezas e por todas as contribuições valiosas a este trabalho. Tudo se torna mais suportável sabendo que tenho você ao meu lado.

À minha mãe, que abdicou de tantos sonhos para que eu pudesse realizar os meus e que nunca deixou de acreditar no meu potencial. Aos meus irmãos Antônia e Pedro, por serem parte essencial da minha jornada, sou e serei sempre uma pessoa muito melhor por vocês e para vocês. Ao meu padrasto, que nesses quatorze anos me acolheu com carinho, apoio e cuidado. Às minhas avós, que com seus carinhos infinitos preencheram minha vida de amor e afeto. A minha prima Nathália por acreditar sempre em mim e ser, por muito tempo, minha maior fonte de tranquilidade e acolhimento.

À Coffee, Lugn e Amaranta, meus fiéis e verdadeiros amigos de quatro patas. Obrigada por cada gesto de carinho, cada lambida e cada olhar cheio de amor incondicional. Vocês me ensinaram, de forma pura e sincera, o verdadeiro significado de amor, lealdade e amizade.

À minha orientadora, pela dedicação, paciência e sabedoria, por ser tão presente e inspiradora na conduta desta minha caminhada. À Gel e Alfredo, que me orientaram de maneira grandiosa durante parte da minha graduação, e a todos os demais professores que me acompanharam nessa jornada.

À Gisely, Jéssika, Barbara e Gil, pelo auxílio, pelas trocas e pelo apoio que, de diferentes formas, contribuíram para a construção deste trabalho.

Por fim, agradeço a todos amigos, familiares e colegas de curso que me auxiliaram de alguma forma ao longo dessa caminhada.

Lista de tabelas

Tabela 1. Valores médios das variáveis de qualidade de água obtidos nos diferentes tratamentos. 16

Tabela 2. Variáveis de desempenho zootécnico de *P. scalare* após 30 dias de oferta das dietas suplementadas com probiótico 17

Tabela 3. Contagem da microbiota intestinal com 0 dias de experimento 19

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	12
MATERIAL E MÉTODOS.....	13
Aquisição das larvas.....	13
Obtenção das cepas.....	14
Dietas experimentais.....	14
Condições experimentais.....	15
Desempenho zootécnico.....	16
Análise Bacteriológica.....	16
Aspectos éticos.....	16
Análise estatística.....	16
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
CONCLUSÃO.....	21
REFERÊNCIAS.....	21

ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo a ser submetido ao Journal Probiotics and Antimicrobial Proteins

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM PROBIÓTICO NA MICROBIOTA INTESTINAL DE ACARÁ-BANDEIRA (*Pterophyllum scalare*)

Maria Eunice Souza da Silva LIRA¹, Gisely Karla de Almeida COSTA², Gelcirene de
Albuquerque COSTA³, Suzianny Maria Bezerra Cabral da SILVA^{4*}.

0000-0001-9876-4313¹, 0000-0001-8207-16431², 0000-0002-4338-8530³,
0000-0002-7571-3465^{4*}

***Corresponding Author**

Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Departamento de Pesca e
Aquicultura.

CEP: 52171-900. Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE.

E-mail address: suzianny.silva@ufrpe.br.

Abstract

The production of freshwater ornamental fish in Brazil has been gradually expanding, and this growth has been accompanied by the emergence of diseases resulting from inadequate management, nutritional problems, and a lack of qualified labor. In this context, the use of dietary supplements that promote health and zootechnical performance becomes a strategic sanitary management measure for disease prevention. Thus, the present study evaluated the effect of diets supplemented with probiotic strains of the genus *Bacillus* on water quality, zootechnical performance, and presumptive *Bacillus* counts in the intestine of angelfish (*Pterophyllum scalare*). For this study, angelfish juveniles (average weight of 0.1 g) were used. These animals were stocked in 12 L experimental units with partial water exchange, in a completely randomized experimental design consisting of three treatments and one control group, each with three replicates. Three experimental diets were tested: TSP (*Bacillus* sp.), TA (*B. amyloliquefaciens*), TASP (association of both strains), and a control group (TRL) prepared with sterile 0.89% saline solution. The probiotic strains of the genus *Bacillus* were cultured to a concentration of 10^8 CFU/mL, added to commercial feed, and stored at 4 °C until feeding. The juveniles were fed three times a day (8 a.m., 12 p.m., and 4 p.m.) at 5% of biomass for 30 days. During the experimental period, water quality variables were monitored, and at the end of the trial, zootechnical parameters were evaluated, and intestinal bacteriological analysis was performed by presumptive *Bacillus* count on MYP selective medium. No statistical differences were observed in water quality parameters (pH, temperature, dissolved oxygen, and nitrite) among treatments. The treatment with *B. amyloliquefaciens* (TA) showed the highest mean length gain compared to the control group, with no significant differences among treatments for the other zootechnical variables evaluated. In turn, the TASP treatment presented higher intestinal colonization by *Bacillus* spp., suggesting a synergistic effect between the strains. It is concluded that supplementation with probiotics of the genus *Bacillus* favored growth and positively modulated the intestinal microbiota of the fish, with the combination of *B. amyloliquefaciens* and *Bacillus* sp. being the most effective.

Keywords: Microbiota, ornamental fish, probiotic.

Resumo

A produção de peixes ornamentais de água doce no Brasil tem se expandido gradativamente e, esse crescimento, vem acompanhado de doenças em decorrência do manejo inadequado, problemas nutricionais e falta de mão-de-obra qualificada. Diante desse cenário, o uso de suplementos alimentares nas dietas que promovam saúde e desempenho zootécnico tornam-se uma medida de manejo sanitário estratégica para prevenção de enfermidades. Assim, o presente estudo avaliou o efeito de dietas suplementadas com cepas probióticas do gênero *Bacillus* sobre a qualidade de água, desempenho zootécnico e contagem presuntiva de *Bacillus* no intestino de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). Para este estudo foram utilizados juvenis de acará-bandeira (peso médio de 0,1 g). Estes animais foram estocados em unidades experimentais de 12 L, em sistema com trocas parciais de água, em um delineamento experimental inteiramente casualizado composto por três tratamentos e um grupo controle, com três repetições cada. Foram testadas três dietas experimentais: TSP (*Bacillus* sp.), TA (*B. amyloliquefaciens*), TASP (associação das duas cepas) e um grupo controle (TRL), preparado com solução salina estéril a 0,89%. As cepas probióticas do gênero *Bacillus* foram cultivadas até a concentração de 10^8 UFC/mL, adicionadas à ração comercial e armazenadas a 4 °C até a oferta aos animais. Os juvenis foram alimentados três vezes ao dia (8, 12 e 16 horas) a 5% da biomassa por 30 dias. Durante o período experimental, foram monitoradas variáveis de qualidade da água e, ao final do experimento, foram avaliadas variáveis zootécnicas e realizada análise bacteriológica intestinal por meio de contagem presuntiva de *Bacillus* em meio seletivo MYP. Não foram determinadas diferenças estatísticas para as variáveis de qualidade de água (pH, temperatura, O.D. e nitrito) entre os tratamentos. O tratamento com *B. amyloliquefaciens* (TA) obteve o maior valor médio de ganho de comprimento quando comparado ao grupo controle, não existindo diferença entre os tratamentos para as demais variáveis de desempenho zootécnico avaliadas. Já o tratamento TASP apresentou maior colonização intestinal por *Bacillus* spp., sugerindo efeito sinérgico entre as cepas. Conclui-se que a suplementação com probióticos do gênero *Bacillus* favoreceu o crescimento e modulou positivamente a microbiota intestinal dos peixes, sendo mais eficiente a junção das cepas de *B. amyloliquefaciens* e *Bacillus* sp.

Palavras-chave: Microbiota, peixe ornamental, probiótico.

INTRODUÇÃO

Peixes ornamentais cultivados como animais de estimação ocupam a terceira posição no mercado no Brasil, totalizando 22,2 milhões de indivíduos (ABINPET, 2023). Entre as espécies de peixes ornamentais de águas tropicais consideradas belas e apreciadas destaca-se o acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*), que é extremamente demandado na aquariofilia (REZENDE & FUJIMOTO, 2021; TAKATSUKA e NAVARRO, 2018).

O *P. scalare* é um ciclídeo endêmico da Bacia Amazônica, encontrado em ambientes de águas rasas e tranquilas, onívoro, com tendência carnívora, alimenta-se de pequenos insetos, crustáceos e peixes jovens (PEREIRA et al., 2016; CHELLAPA et al., 2020). O ciclo de cultivo do acará-bandeira, até atingir o tamanho comercial, é de aproximadamente três meses, englobando a larvicultura e a produção de juvenis. As variedades mais populares de acará-bandeira para produção incluem o marmorato, o véu ouro, o leopardo, o palhaço, o albino e o koi (VIDAL-JR, 2005, PANDOLFI, 2024).

Contudo, os maiores gargalos para o cultivo de *P. scalare* é a proliferação contínua de doenças resultantes de manejo inadequado, problemas nutricionais e falta de mão-de-obra qualificada nas principais etapas da cadeia produtiva da piscicultura ornamental (REZENDE; FUJIMOTO, 2021). Uma estratégia utilizada em outros cultivos é a suplementação com prebióticos, probióticos ou simbióticos, que tem se mostrado uma alternativa eficaz na mitigação de infecções bacterianas e fúngicas na aquicultura. Além de auxiliarem no controle de patógenos, esses compostos melhoram a digestibilidade e a absorção de nutrientes, promovendo a saúde, crescimento e melhoria na sobrevivência dos organismos cultivados (PANDIYAN et al, 2013; HOROWITZ & HOROWITZ, 2000; PANT et al. 2007).

Segundo Merrifield & Ringo (2014) o probiótico é qualquer microrganismo vivo que, quando administrado em quantidades adequadas através de dietas ou água de cultivo, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Dentre os probióticos, o uso do gênero *Bacillus* tem se mostrado influente positivamente no desempenho produtivo dos animais, pelo aumento da sobrevivência, melhoria no sistema imunológico e aumento da resistência a doenças. Essas bactérias possuem capacidade de produzir substâncias antimicrobianas, como biossurfactantes, bacteriocinas e

sideróforos, além de antibióticos peptídicos e lipopeptídeos, que atuam na competição com microrganismos patogênicos (MERRIFIELD et al., 2010; ABRIQUEL et al., 2011; MUKHERJEE et al., 2009; STEIN et al., 2005).

Dentre as espécies do gênero *Bacillus*, a espécie *Bacillus amyloliquefaciens* tem sido utilizada amplamente na aquicultura em animais de corte como probiótico, destacando-se por ser uma bactéria não patogênica gram-positiva, que possui resistência a variações ambientais e alta atividade antagônica de amplo espectro (KAEWKLOM et al., 2013; LONCAR et al., 2014; MAHDHI et al., 2012).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da oferta de dietas suplementadas com cepas probióticas de *Bacillus sp.* e *Bacillus amyloliquefaciens* sobre a contagem presuntiva de *Bacillus* no intestino de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*), sendo também avaliada a qualidade da água e o desempenho zootécnico dos animais durante o período de cultivo.

MATERIAL E MÉTODOS

Aquisição das larvas

As larvas utilizadas neste estudo foram adquiridas a partir da reprodução natural de casais de *P. scalare*, que foram previamente selecionados e mantidos em sistema de recirculação de água (RAS) no Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos (LASAq) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Os reprodutores foram adquiridos em comércio especializado em peixes ornamentais, após a formação dos casais, os pares foram separados para condução da indução da reprodução. Durante esse período foram alimentados até a saciedade aparente, com ração comercial para peixes ornamentais de teor proteico de 45% e frequência alimentar de três vezes ao dia (8, 12 e 16 horas). As variáveis de qualidade de água foram monitoradas duas vezes ao dia, por meio da aferição de temperatura, oxigênio dissolvido e pH, com auxílio de sonda multiparâmetro (YSI MODEL 556 MPS, Yellow Springs, OHIO, EUA). Três vezes por semana, foram realizadas trocas parciais de água (TPA) para retirada de fezes, restos de alimento e outros sólidos retidos no fundo das unidades experimentais. Semanalmente, as

concentrações de compostos nitrogenados foram avaliadas com auxílio de testes colorimétricos comerciais (Alcon, Camboriú/SC), segundo as orientações do fabricante. Além disso, foram inseridos em cada aquário, termostatos para a manutenção da temperatura de 28°C e substratos artificiais de PVC (10 cm²) para a deposição dos ovos.

Após a desova, o substrato artificial contendo os ovos fertilizados, foi transferido do aquário para outra unidade com água em condições semelhantes à das unidades dos reprodutores, onde recebeu um banho de imersão em solução salina (4 g de cloreto de sódio. L⁻¹) por 15 minutos, para remoção de incrustações. Em seguida, os ovos foram transferidos para um aquário com água previamente tratada, porém sob mesma temperatura e pH da água onde estes estavam anteriormente. Esses animais foram mantidos até o início do experimento numa densidade de 0,5 indivíduos/L. Durante esse período, realizou-se o monitoramento semanal (amônia e nitrito) e diário (temperatura, pH e oxigênio dissolvido) de qualidade de água. Foram realizados diariamente sifonamento para retirada de fezes e restos de alimentos e, os animais, foram alimentados com ração comercial 35% de proteína bruta, ofertadas três vezes ao dia.

Obtenção das cepas

As cepas, oriundas do banco de microrganismos do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), foram gentilmente disponibilizadas para a realização deste estudo. Os tratamentos consistiram em: TSP (suplementado com *Bacillus sp.*), TA (suplementado com *Bacillus amyloliquefaciens*), TASP (suplementado com a combinação de *Bacillus sp.* e *B. amyloliquefaciens*) e TRL (controle, sem probióticos).

Dietas experimentais

No presente experimento, foram testadas três dietas experimentais à base de ração comercial com 35% de proteína bruta, suplementadas com cepas previamente selecionadas do gênero *Bacillus*. Para elaboração das dietas experimentais (suplementadas), as bactérias das diferentes cepas já mencionadas foram cultivadas em caldo tripton de soja (TSB) até a concentração de 10⁸ UFC/ml. Esta

concentração foi escolhida por ser a comumente empregada em cepas probióticas comerciais para fins de suplementação dietética.

A determinação da concentração foi realizada através da escala de McFarland (0,5) e, em seguida, as culturas foram centrifugadas, decantadas e ressuspensas para posterior adição à ração estéril (1:1) por 30 minutos. A confirmação da concentração bacteriana de 10^8 UFC/g nas rações foi efetuada através do método de plaqueamento de superfície em Ágar MYP (Ágar Manitol-Gema de Ovo-Polimixina) (SILVA, 2018). Posteriormente, estas rações foram armazenadas a 4°C até sua oferta aos animais. A ração do tratamento controle foi preparada da mesma forma das dietas suplementadas, substituindo a cultura bacteriana por solução salina estéril a 0,89%.

Condições experimentais

Os juvenis (peso médio inicial de 0,1 g) foram distribuídos aleatoriamente em unidades experimentais com volume útil de 12 L, abastecidas com água doce filtrada a 100 µm e previamente tratada com cloro a 30 ppm, na densidade de 0,66 peixes/L (8 animais por unidade). As unidades foram mantidas à temperatura constante de 28 °C e aeração contínua. O experimento seguiu um delineamento composto por três tratamentos, relacionados às dietas experimentais e um grupo controle, com três repetições, totalizando 12 unidades experimentais. O período experimental teve duração de 30 dias, período suficiente para que os juvenis alcançassem tamanho final adequado ao padrão de comercialização da espécie. Durante esse período, os peixes receberam as dietas três vezes ao dia (às 9, 12 e 16 horas), com taxa de arrastamento a 5% da biomassa, com quantidades ajustadas semanalmente.

Para o monitoramento das variáveis de qualidade de água dentro dos limites ideais para espécies neotropicais propostos por Kubitza (2003), foram realizadas mensurações de temperatura, pH e oxigênio dissolvido (O.D.) por meio de multiparâmetro (YSI modelo 55, Yellow Springs, Ohio, EUA), duas vezes ao dia, e coletadas amostras de água, semanalmente, para análise de nitrito e nitrogênio amoniacal por meio de fotômetro (Hanna, EUA). Além disso, trocas parciais de água foram realizadas diariamente, com volume total de dois litros de cada unidade experimental, para retirada de fezes e restos de alimentos.

Desempenho zootécnico

Ao final do experimento, os animais foram despescados e submetidos à anestesia, para realização das aferições de peso (g) e comprimento (cm). Os dados biométricos foram utilizados para determinação da sobrevivência, ganho de altura, comprimento, peso e biomassa, além de, consumo de ração, conversão alimentar aparente ($CAA = \text{quantidade de ração fornecida (kg)} / \text{ganho de peso total dos peixes (kg)}$) e taxa de crescimento específico ($TCE = 100((\ln \text{ peso final médio} - \ln \text{ peso inicial médio}) / \text{tempo})$).

Análise Bacteriológica

Para a análise presuntiva de contagem de *Bacillus* no intestino de acará-bandeira (*P. scalare*), foram coletados inicialmente 10 animais aleatórios antes da distribuição de seus respectivos tratamentos, e após o término do experimento, foram coletados 30% dos organismos por unidade experimental. Os peixes foram previamente anestesiados e eutanasiados utilizando eugenol a 53 mg. L⁻¹ (TARKHANI et al., 2017) Em seguida, os intestinos (100 mg) foram removidos e colocados em tubos contendo solução salina estéril (NaCl a 0,85%). O intestino foi homogeneizado e submetido a diluições seriadas que foram semeadas em triplicata no meio seletivo MYP (Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar) para a detecção de bactérias do gênero *Bacillus*. As placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas. Após o período de incubação, as colônias características foram contadas e registradas como unidades formadoras de colônia (UFC/g) (SILVA, 2018).

Aspectos éticos

As condições experimentais foram conduzidas de acordo com os preceitos éticos e de experimentação autorizados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Brasil (nº 2475080424).

Análise estatística

Os resultados foram submetidos aos testes de homogeneidade (teste de Levene) e normalidade (teste de Shapiro–Wilk). Entretanto, por se tratar de dados não paramétricos, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis e o teste U de Mann-Whitney com a correção de Bonferroni (Comparação Pairwise) (ZAR, 2013). Para todas as

análises foi utilizado o nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software IBM SPSS Statistics versão 25.0.0.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo do experimento, as variáveis de qualidade da água pH, temperatura, O.D., e nitrito mantiveram-se estatisticamente semelhantes entre os tratamentos ($p > 0,05$) (Tabela 1). Os valores médios observados variaram de 6,54 a 8,13 para pH, de 26,3 a 28,9°C para temperatura, de 3,00 a 6,60 mg/L para O.D. e 0,00 mg/L para nitrito (NO_2^-). Já os valores médios de amônia no tratamento TSP (suplementado com *Bacillus sp.*) diferiram estatisticamente dos demais tratamentos. Apesar desta diferença, todas as variáveis de água monitoradas no estudo apresentaram-se dentro da faixa recomendada para *P. scalare* (PEREZ et al., 2003; TAKAHASHI et al., 2010; DIAS et al., 2019).

Tabela 1. Valores médios das variáveis de qualidade de água obtidos durante o experimento.

Variáveis	Tratamentos	Média
pH	TSP	7,24 ± 0,39a
	TA	7,30 ± 0,39a
	TASP	7,27 ± 0,39a
	TRL	7,29 ± 0,35a
Temperatura (°C)	TSP	27,50 ± 0,53a
	TA	27,51 ± 0,54a
	TASP	27,51 ± 0,58a
	TRL	27,55 ± 0,51a
O.D. (mg/L)	TSP	3,77 ± 0,74a
	TA	3,76 ± 0,814a
	TASP	3,66 ± 0,74a
	TRL	3,89 ± 0,83a
Amônia (NH_3 - mg/L)	TSP	0,17 ± 0,29b
	TA	0,08 ± 0,14a
	TASP	0,08 ± 0,14a
	TRL	0,08 ± 0,14a

Nitrito	TSP	0,00 ± 0,00a
(NO₂-mg/L)	TA	0,00 ± 0,00a
	TASP	0,00 ± 0,00a
	TRL	0,00 ± 0,00a

*TSP (suplementado com *Bacillus sp.*); TA (suplementado com *Bacillus amyloliquefaciens*); TASP (suplementado com a combinação de *B. sp.* e *B. amyloliquefaciens*) e TRL (controle, sem probióticos).

As variáveis de desempenho zootécnico altura final, ganho de altura, comprimento final, biomassa final, ganho de biomassa, peso médio final, TCE, ração consumida e CAA não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos ($p>0,05$) (Tabela 2). Por outro lado, o tratamento com *B. amyloliquefaciens* (TA) obteve o maior valor médio de ganho de comprimento quando comparado ao grupo controle.

Tabela 2. Variáveis de desempenho zootécnico de *P. scalare* após 30 dias de oferta das dietas suplementadas com probiótico.

Variáveis	Tratamentos			
	TA	TSP	TASP	TRL
Altura Final (cm)	2,08 ± 0,05 ^a	1,84 ± 0,26 ^a	1,78 ± 0,09 ^a	1,97 ± 0,20 ^a
Ganho de Altura (cm)	0,13 ± 0,40 ^a	0,00 ± 0,15 ^a	0,04 ± 0,11 ^a	0,24 ± 0,08 ^a
Comprimento Final (cm)	3,13 ± 0,06 ^a	2,74 ± 0,30 ^a	2,77 ± 0,09 ^a	2,90 ± 0,27 ^a
Ganho de Comprimento (cm)	0,87 ± 0,34 ^a	0,54 ± 0,02 ^{ab}	0,61 ± 0,04 ^{ab}	0,52 ± 0,02 ^b
Biomassa Final (g)	1,47 ± 0,16 ^a	1,19 ± 0,44 ^a	1,09 ± 0,05 ^a	1,30 ± 0,37 ^a
Ganho de Biomassa (g)	0,71 ± 0,11 ^a	0,58 ± 0,32 ^a	0,51 ± 0,02 ^a	0,64 ± 0,16 ^a
Peso Médio Final (g)	0,22 ± 0,04 ^a	0,19 ± 0,06 ^a	0,17 ± 0,02 ^a	0,20 ± 0,07 ^a
TCE (Taxa de Crescimento Específico)	2,37 ± 0,37 ^a	2,47 ± 0,40 ^a	2,44 ± 0,21 ^a	2,44 ± 0,22 ^a
Ração Consumida (g)	32,75 ± 1,29 ^a	24,71 ± 8,03 ^a	27,17 ± 4,56 ^a	32,98 ± 6,54 ^a
CAA (Conversão Alimentar Aparente)	47,06 ± 7,04 ^a	47,24 ± 13,30 ^a	53,67 ± 9,82 ^a	52,38 ± 4,34 ^a

*TSP (suplementado com *Bacillus sp.*); TA (suplementado com *Bacillus amyloliquefaciens*); TASP (suplementado com a combinação de *B. sp.* e *B. amyloliquefaciens*) e; TRL (controle - sem adição de probiótico).

Estudos utilizando cepas de *B. amyloliquefaciens* evidenciam melhorias no crescimento dos animais, atribuídas à capacidade deste probiótico de estimular enzimas digestivas, potencializar a absorção e a digestibilidade dos nutrientes, além de reforçar a imunidade frente a patógenos (CAO et al., 2011). Estes resultados estão em consonância com os obtidos no presente estudo, em que o tratamento com *B. amyloliquefaciens* (TA) resultou em maior ganho de comprimento, variável zootécnica importante em peixes ornamentais.

Em outro estudo, Ridha e Azad (2012) suplementaram a dieta de *Oreochromis niloticus* com *B. amyloliquefaciens* (10^8 UFC g⁻¹) durante 99 dias e, após os primeiros 30 dias, não foram observadas diferenças estatísticas entre o grupo controle e os tratamentos suplementados. Contudo, depois de 60 dias de suplementação, foi evidenciada melhora significativa no desempenho zootécnico dos animais. O efeito do probiótico sobre a melhor absorção dos nutrientes e na conversão no desempenho do animal parece estar atrelada ao tempo de suplementação, visto que há um processo de adaptação bacteriana para às condições intestinais encontradas nos organismos (APÚN-MOLINA et al., 2009; GOMEZ-GIL et al., 2000; PANIGRAHI et al., 2007; NAYAK, 2010).

No presente estudo, comportamento similar foi observado após 30 dias de oferta das dietas suplementadas com cepas probióticas com *Bacillus*, no qual os valores médios de altura final, ganho de altura, comprimento final, biomassa final, ganho de biomassa, peso médio final, TCE, ração consumida e CAA não diferiram entre os tratamentos e o grupo controle, indicando possivelmente, a necessidade de maior tempo para colonização significativa das cepas avaliadas. Essa hipótese é bastante coerente, visto que o valor médio de *Bacillus* no intestino de *P. scalare*, antes do início do presente estudo foi de $2,04 \times 10^6$ UFG/g, indicando a existência natural do gênero *Bacillus* nos animais.

Embora a microbiota endógena dos organismos aquáticos dependa de fatores genéticos, nutricionais e ambientais, que são modulados ao decorrer de sua vida (WU et al., 2012; SULLAM et al., 2012), a ocorrência natural dos gêneros *Aeromonas*, *Pseudomonas* e *Bacillus* na microbiota de peixes de água doce já foi relatada em vários estudos (NAYAK, 2010; WU et al. 2012; MENG et al. 2018; LI et al. 2013; LIU et al. 2014).

Ainda sobre a contagem presuntiva de *Bacillus* no intestino de *P. scalare*, após a suplementação com os probióticos (30 dias de oferta das dietas experimentais), foi observado um aumento da colonização de bactérias do gênero *Bacillus* no trato intestinal de juvenis de *P. scalare* dos tratamentos TA, TASP e TSP. Esses valores enfatizam a eficiência do uso de *Bacillus sp.* e *B. amyloliquefaciens* no incremento deste gênero na microbiota dos animais, visto que o grupo controle (TRL) (obteve resultado inferior e diferente estatisticamente dos demais, sendo o TASP com maior média de contagem ($5,99 \times 10^7$ UFC/g) (Tabela 3).

Tabela 3. Contagem presuntiva de *Bacillus* no intestino de *P. scalare* durante o experimento.

Amostras	Tempo (dias)	Contagem presuntiva de <i>Bacillus</i> (meio MYP) (UFC/ g)			
		(Média $\pm$ Desvio)			
		TA	TASP	TSP	TRL
Intestino	0	$2,04 \times 10^6 \pm 1,92 \times 10^7$			
	30	$2,90 \times 10^7 \pm 2,83 \times 10^7^{ab}$	$5,99 \times 10^7 \pm 4,69 \times 10^7^b$	$3,48 \times 10^7 \pm 2,10 \times 10^7^{ab}$	$9,09 \times 10^6 \pm 6,98 \times 10^6^a$

*TSP (suplementado com *Bacillus sp.*); TA (suplementado com *Bacillus amyloliquefaciens*); TASP (suplementado com a combinação de *B. sp.* e *B. amyloliquefaciens*) e; TRL (controle - sem adição de probiótico).

Diversos estudos apontam a eficiência na inibição de patógenos com a utilização de multi-cepas, uma vez que cada uma apresenta mecanismos de inibição distintos, que quando combinados, se complementam mutuamente (TIMMERMAN et al., 2004; WANG et al., 2019; BECK et al., 2015). Nesse sentido, Gigi et al. (2014) evidenciaram a melhora na imunidade e na taxa de sobrevivência de alevinos de *Labeo rohita* frente à infecção por *Aeromonas hydrophila*, ao utilizarem a associação de *B. subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Lactobacillus plantarum*.

O uso de probióticos em organismos aquáticos influencia positivamente o hospedeiro por favorecer a absorção de nutrientes, modular a microbiota intestinal, estimular o sistema imunológico e aumentar a resistência contra infecções (DIAS et al., 2019; do COUTO et al., 2022; NOSHAIR et al., 2023). Nesse contexto, Sousa (2020) através do enriquecimento probiótico de náuplios de artêmia, promoveu um

crescimento de bactérias benéficas no intestino de *P. scallare*. Essa modulação intestinal, ocorre devido a disputa por nutrientes e espaço nas vilosidades do trato intestinal, podendo diminuir e/ou excluir bactérias patogênicas para organismos aquáticos ornamentais, devido a produção de peptídeos antibacterianos, peróxidos e ácidos orgânicos (BUTT e VOLKOFF, 2019; GATESOUBE, 1999; BORRELLI et al., 2016; ZHANG et al., 2020).

CONCLUSÃO

A suplementação da dieta de juvenis de *P. scallare* com *B. amyloliquefaciens* gerou uma melhor performance no ganho de comprimento dos animais. Entre os tratamentos avaliados, a inclusão de *Bacillus* sp. e *B. amyloliquefaciens* influenciou positivamente a colonização bacteriana por *Bacillus* no intestino, o que indica o uso deste probiótico como uma medida de manejo promissora para promoção de saúde.

REFERÊNCIAS

ABINPET. *Mercado Pet Brasil 2023*. Disponível em: <http://abinpet.org.br>.

ABRIOUEL, H.; FRANZ, C. M. A. P.; OMAR, N. B.; GALVEZ, A. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 35, p. 201-232, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00285.x>.

APÚN-MOLINA, J. P. et al. Effect of potential probiotic bacteria on growth and survival of tilapia *Oreochromis niloticus* L., cultured in the laboratory under high density and suboptimum temperature. *Aquaculture Research*, v. 40, p. 887-894, 2009.

BECK, B. R.; KIM, D.; JEON, J.; LEE, S. M.; KIM, H. K.; KIM, O. J.; LEE, J. I.; SUH, B. S.; DO, H. K.; LEE, K. H.; HOLZAPFEL, W. H.; HWANG, J. Y.; KWON, M. G.; SONG, S. K. The effects of combined dietary probiotics *Lactococcus lactis* BFE920 and *Lactobacillus plantarum* FGL0001 on innate immunity and disease resistance in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish & Shellfish Immunology*, v. 42, n. 1, p. 177-183, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.10.035>.

BORRELLI, L.; ACETO, S.; AGNISOLA, C.; DE PAOLO, S.; DIPINETO, L.; STILLING, R. M.; FIORETTI, A. Probiotic modulation of the microbiota-gut-brain axis and behaviour in zebrafish. *Scientific Reports*, v. 6, p. 1-9, 2016.

BUTT, R. L.; VOLKOFF, H. Gut microbiota and energy homeostasis in fish. *Frontiers in endocrinology*, v. 10, 2019.

CACHO, MSRF., YAMAMOTO ME. and CHELLAPPA, S., 1999. Comportamento reprodutivo do acar bandeira, *Pterophyllum scalare* (Osteichthyes, Cichlidae). *Rev. Bras. Zool*, vol. 16, no. 1, p. 653-664.

CAO, Haipeng; HE, Shan; WEI, Ruopeng; DIONG, Marek; LU, Liquan. *Bacillus amyloliquefaciens* G1: uma bactria potencialmente antagonista contra *Aeromonas hydrophila* patognica de enguias. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2011, p. 1-7, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1155/2011/824104>.

CHAPMAN, F. A.; FITZ-COY, S.; THUNBERG, J. T. Trade in ornamental fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 28, n. 1, p. 1-10, 1997.

CHELLAPA, S.; YAMAMOTO, M. E.; CACHO, M. S. R. F. Biologia, comportamento e reprodução do peixe ornamental acar-bandeira (*Pterophyllum scalare*). In Baldisserotto, B. (Org.), *Espcies nativas para a piscicultura no Brasil*. 3^a. Ed., pp. 437-446, 2020

COUTO, M. V. S. et al. Dietary supplementation of probiotic *Enterococcus faecium* improve resistance in *Arapaima gigas* against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research*, v. 53, p. 3453-3463, 2022.

DIAS, J. A. R. et al. *Enterococcus faecium* as potential probiotic for ornamental neotropical cichlid fish, *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823). *Aquaculture International*, v. 27, n. 2, p. 463-474, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00339-9>.

GATESOUBE, F. J. O uso de probióticos na aquicultura. *Aquaculture*, v. 180, n. 1-2, p. 147-165, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00123-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00123-2).

GIRI, SS; SUKUMARAN, V.; SEN, SS; JENA, PK. Effects of Dietary Supplementation of Potential Probiotic *Bacillus subtilis* VSG1 Singularly or in Combination with *Lactobacillus plantarum* VSG3 or/and *Pseudomonas aeruginosa* VSG2 on the Growth, Immunity and Disease Resistance of *Labeo rohita*. *Aquac. Nutr.* 2014, 20, 163–171. DOI <https://doi.org/10.1111/anu.12061>.

GOMEZ-GIL, B. et al. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organism. *Aquaculture*, v. 191, p. 259-270, 2000.

GUPTA, V.; GARG, R. Probiotics. *Indian Journal of Medical Microbiology*, v. 27, p. 202-209, 2009. DOI: <https://doi.org/10.4103/0255-0857.53201>.

HOROWITZ, A.; HOROWITZ, S. Efficacy of probiotics in growout systems. *The Advocate*, v. 3, p. 6-12, 2000. Disponível em: <https://www.globalseafood.org/advocate/efficacy-of-probiotics-in-grow-out-systems/>.

KAEWKLOM, S. et al. Control of *Listeria monocytogenes* on sliced bologna sausage using a novel bacteriocin, amysin, produced by *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from Thai shrimp paste (*Kapi*). *Food Control*, v. 32, p. 552-557, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.02.019>.

KUBITZA, F. *Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões*. Jundiaí: F. Kubitza, 2003.

LI, X. M.; YAN, Q. Y.; XIE, S. Q.; et al. A microbiota intestinal contribui para o crescimento da carpa comum transgênica de crescimento rápido (*Cyprinus carpio* L.). *PLoS ONE*, v. 8, n. 5, e64577, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0064577.

LONCAR, N. et al. Congo red degrading laccases from *Bacillus amyloliquefaciens* strains isolated from salt spring in Serbia. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 91, p. 18-23, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.03.001>.

MAHDHI, A. et al. Survival and retention of the probiotic properties of *Bacillus* sp. strains under marine stress starvation conditions and their potential use as a probiotic in *Artemia* culture. *Research in Veterinary Science*, v. 93, p. 1151-1159, 2012.

MENG, X. L.; LI, S.; QIN, C. B.; et al. Respostas da microbiota intestinal e do metabolismo lipídico na carpa comum (*Cyprinus carpio* L.) após exposição ao cobre. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 160, p. 257–264, 2018. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.05.050.

MERRIFIELD, D. L. et al. Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). I. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria. *Aquaculture Nutrition*, v. 16, p. 504-510, 2010.

MERRIFIELD, D.; RINGØ, E. (Ed.). *Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics*. 1. ed. Chichester: Wiley-Blackwell, 2014. 488 p.

MUKHERJEE, S.; DAS, P.; SIVAPATHASEKARAN, C.; SEN, R. Antimicrobial biosurfactants from marine *Bacillus circulans*: extracellular synthesis and purification. *Letters in Applied Microbiology*, v. 48, n. 3, p. 281-288, 2009.

NAYAK, S. K. Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research*, v. 41, p. 1553-1573, 2010.

NOSHAIR, I. et al. Assessment of dietary supplementation of *Lactobacillus rhamnosus* probiotic on growth performance and disease resistance in *Oreochromis niloticus*. *Microorganisms*, v. 11, n. 6, p. 1423, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061423>.

PANDOLFI, Victor César Freitas. Desenvolvimento de marcadores microssatélites e avaliação da diversidade genética do peixe ornamental amazônico *Pterophyllum scalare*. 2024

PANIGRAHI, A. et al. Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon probiotic feeding. *Developmental & Comparative Immunology*, v. 31, p. 372-382, 2007.

PANT, N. et al. Effective prophylaxis against rotavirus diarrhea using a combination of *Lactobacillus rhamnosus* GG and antibodies. *BMC Microbiology*, v. 7, n. 86, p. 1-9, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-7-86>.

PEREIRA, Samuel Louzada et al. Diferentes estratégias alimentares na larvicultura do acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*, Cichlidae). *Acta Amazonica*, v. 46, p. 91-98, 2016.

PÉREZ, E.; DIAZ, F.; ESPINA, S. Thermoregulatory behavior and critical thermal limits of angelfish *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein) (Pisces: Cichlidae). *Journal of Thermal Biology*, v. 28, p. 531-537, 2003.

REZENDE, F. P.; FUJIMOTO, R. Y. *Peixes ornamentais no Brasil: mercado, legislação, sistemas de produção e sanidade*. Brasília, DF: Embrapa, 2021.

RIDHA, M.; AZAD, I. Preliminary evaluation of growth performance and immune response of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* supplemented with two putative probiotic bacteria. *Aquaculture Research*, v. 43, p. 843-852, 2012.

SILVA, Net al. Microbiological Examination Methods of Food and Water: A Laboratory Manual. Microbiological Examination Methods of Food and Water. [s. 1], 2018.

SOUSA, N. et al. Enriched *Artemia* nauplii with commercial probiotic in the larviculture of angelfish *Pterophyllum scalare* Lichtenstein (1823). *Journal of Fisheries Science*, v. 2, p. 17-21, 2020.

STEIN, T. et al. Expression and functional analysis of the subtilin immunity genes *spaIFEG* in the subtilin-sensitive host *Bacillus subtilis* MO1099. *Journal of Bacteriology*, v. 187, p. 822-828, 2005.

SULLAM, K. E.; ESSINGER, S. D.; LOZUPONE, C. A.; O'CONNOR, M. P.; ROSEN, G. L.; KNIGHT, R.; KILHAM, S. S.; RUSSELL, J. A. Fatores ambientais e ecológicos que moldam as comunidades bacterianas intestinais de peixes: uma meta-análise. *Molecular Ecology*, v. 21, n. 13, p. 3363–3378, jul. 2012. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2012.05552.x. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05552.x>.

TAKAHASHI, L. S.; SILVA, T. V.; FERNANDES, J. B. K. Efeito do tipo de alimento no desempenho produtivo de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 36, n. 1, p. 1-8, 2010.

TAKATSUKA, V.; NAVARRO, R. D. Economic and logistical viability of production of freshwater angelfish (*Pterophyllum scalare*). *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, v. 22, n. 1, 2018. DOI : 10.14210/bjast.v22n1.10971.

TARKHANI, R.; IMANI, A.; GHAFARIFARSANI, H. Anaesthetic efficacy of eugenol on various size classes of angelfish (*Pterophyllum scalare* Schultze, 1823). *Aquaculture Research*, v. 48, p. 3996-4005, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/are.13339>.

TIMMERMAN, H. M.; KONING, C. J.; MULDER, L.; ROMBOUTS, F. M.; BEYNEN, A. C. Monostrain, multistain and multi-species probiotics – a comparison of functionality and efficacy. *International Journal of Food Microbiology*, v. 96, p. 219–233, 2004, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.012> .

VIDAL-JR, M. V. Acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). *Revista Panorama da Aquicultura*. Disponível em: <https://panoramadaaquicultura.com.br/acara-bandeira-pterophyllum-scalare/>.

WANG, Y.-C.; HU, S.-Y.; CHIU, C.-S.; LIU, C.-H. Multiple-strain probiotics appear to be more effective in improving the growth performance and health status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, than single probiotic strains. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 84, p. 1050-1058, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.11.017>.

WU, S.; WANG, G.; ANGERT, E. R.; WANG, W.; LI, W.; ZOU, H. Composição, diversidade e origem da comunidade bacteriana no intestino da carpa capim. *PLoS ONE*, v. 7, n. 2, p. e30440, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0030440. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030440>.

ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. 5. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2013.

ZHANG, H. P.; DONG, W. L.; CHEN, L.; WANG, Y. M.; MUHAMMAD, I.; JU, A. Q.; KONG, L. C. Effects of dietary *Lactobacillus plantarum* C20015 on growth, immunity, and disease resistance in koi carp. *Aquaculture International*, v. 28, n. 6, p. 1797-1809, 2020.