

IMPACTOS DA BACTÉRIA *BACILLUS SUBTILIS* NA NUTRIÇÃO DE PEIXES

Data de aceite: 01/04/2024

Kayron Batista Araújo

Alécio Matos Pereira

Gustavo Matheus de Lima Silva

Denilson da Costa Bezerra

RESUMO: *Bacillus subtilis* é uma bactéria do grupo das gram-positivas não patogênicas, comumente utilizada na produção de enzimas extracelulares, em escala mundial. Esta bactéria recebeu o status GRAS (generally regarded as safe) pelo FDA Americano, sendo uma das mais estudadas, pois seu genoma apresenta características bem elucidadas. Em especial, o gênero *Bacillus spp.* se destaca por formar endósporo e apresentar uma multiplicidade de mecanismos antagônicos, possibilitando dessa forma, a sua longa manutenção e sobrevivência em nichos ecológicos específicos, com grande versatilidade nos mecanismos de ação para driblar as defesas dos fitopatógenos. A implementação de *B. subtilis* na dieta de animais, exerce um efeito benéfico na microbiota intestinal, aumentando o desempenho, crescimento e melhorando a

proporção de conversão alimentar. Dessa forma, este trabalho tem como principal objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre os principais pontos relacionados ao impacto da bactéria *Bacillus subtilis* na nutrição de peixes. Em específico, dos benefícios para a piscicultura, refletindo no desempenho produtivo dos animais, aumento da sobrevivência, imunidade, aumento da resistência a doenças, melhora da conversão alimentar aparente e taxa de eficiência proteica.

PALAVRAS-CHAVE: criação de peixe, probiótico, suplementação.

IMPACTS OF *BACILLUS SUBTILIS* BACTERIA ON FISH NUTRITION

ABSTRACT: *Bacillus subtilis* is a bacterium from the non-pathogenic gram-positive group, commonly used in the production of extracellular enzymes on a global scale. This bacterium received GRAS (generally regarded as safe) status by the American FDA, being one of the most studied, as its genome presents well-elucidated characteristics. In particular, the genus *Bacillus spp.* It stands out for forming an endospore and presenting a multiplicity of antagonistic mechanisms, thus enabling

its long maintenance and survival in specific ecological niches, with great versatility in its mechanisms of action to circumvent the defenses of phytopathogens. The implementation of *B. subtilis* in the animal diet has a beneficial effect on the intestinal microbiota, increasing performance, growth and improving the feed conversion ratio. Therefore, this work's main objective is to carry out a bibliographic review on the main points related to the impact of the bacteria *Bacillus subtilis* on fish nutrition. Specifically, the benefits for fish farming, reflecting the productive performance of animals, increased survival, immunity, increased resistance to diseases, improved apparent feed conversion and protein efficiency rate.

KEYWORDS: fish farming, probiotic, supplementation.

INTRODUÇÃO

Bacillus subtilis é uma bactéria do grupo das gram-positivas não patogênicas, comumente utilizada na produção de enzimas extracelulares, em escala à nível mundial. As culturas dessa espécie de bactéria se tornaram muito populares mundialmente antes da introdução dos antibióticos, sendo utilizadas como agentes imunoestimulantes para auxiliar em tratamentos do trato gastrointestinal em toda América e Europa a partir de 1946.

Os *bacillus*, são caracterizados por serem um grupo diversificado de bactérias em forma de bastonetes, capaz de produzir esporos robustos, mantendo-se estável no ambiente gástrico, pois não é afetado pelas secreções gástricas (LEE et al., 2013). Em especial, o gênero *Bacillus spp.* se destaca por formar endósporo e apresentar uma multiplicidade de mecanismos antagônicos, possibilitando dessa forma, a sua longa manutenção e sobrevivência em nichos ecológicos específicos, com grande versatilidade nos mecanismos de ação para driblar as defesas dos fitopatógenos (LANNA, et al., 2010).

A bactéria *B. subtilis*, quando submetida a um ambiente escasso em nutrientes, produz uma célula morfológica distinta chamada esporo que possui grande resistência, podendo sobreviver extremos de temperaturas (altas ou baixas), além de outras condições adversas (ALVES, et al., 2018).

A implementação de *B. subtilis* na dieta de animais, exerce um efeito benéfico na microbiota intestinal, aumentando o desempenho do crescimento e melhorando a proporção de conversão alimentar dos mesmos (LEI et al., 2015). Este efeito da *B. subtilis* é devido sua capacidade de produzir amilase, lipase, protease e aminoácidos, o que ajuda a aumentar a eficiência da digestão e absorção de nutrientes.

Deste modo, dentre as bactérias probióticas, se destaca a espécie *Bacillus subtilis*, pois são organismos intimamente ligados, principalmente devido à capacidade de degradar moléculas de grande peso molecular, capazes de tornar os nutrientes mais disponíveis para o animal no trato intestinal (Ferrarezi, 2021).

Com as pesquisas, descobriu-se muitos microrganismos reconhecidos como probióticos potentes para práticas de aquicultura, contudo, o grupo dominante são as bactérias gram-positivas, especialmente os 10 grupos *Bacillus*, *Lactobacillus* e

Bifidobacterium (CRUZ et al., 2012). Diante do exposto, esse trabalho visa realizar uma revisão bibliográfica sobre o impacto da bactéria *Bacillus subtilis* na nutrição de peixes, mostrando os benefícios e os desafios que esta apresenta para a piscicultura.

FISIOLOGIA E METABOLISMO DE *BACILLUS SUBTILIS*

O efeito das bactérias probióticas ocorre possivelmente por meio do mecanismo celular, pela estimulação do sistema imune proporcionado e a homeostase intestinal, e conseqüentemente a melhora da digestão devido a colonização dos microrganismos com afinidade aos nutrientes, aumentando a atividade de enzimas digestivas (Sankar et al., 2016).

Segundo Ramos et al. (2000), *B. subtilis* era considerada um microorganismo estritamente aeróbico, contudo em novos estudos, percebeu-se que esta também cresce em anaerobiose. Para tanto, há utilização de nitrato ou nitrito como aceptores finais de elétrons. Na ausência destas substâncias, esta bactéria utiliza a fermentação em meios de cultivo contendo glucose e piruvato, ou glicerol como fontes de carbono.

Dentro da maquinaria metabólica de *bacillus subtilis* de interesse biotecnológico, pode-se destacar a produção de lipopeptídeos, que são moléculas anfífilas com propriedades biossurfactantes e antimicrobianas. Entre os lipopeptídeos produzidos por *B. subtilis*, encontram-se as surfactinas e as inturinas, ambos formados por uma cadeia carbônica e por um anel lactona formado por sete aminoácidos. Sendo importante ressaltar que esta bactéria é quimioheterotrófica, podendo ser facilmente retirada de amostras de solo.

A glucose é a fonte preferencial de carbono para esta bactéria. Esta é catabolizada pela via glucolítica e por pentose fosfato. O piruvato formado pode ser oxidado em acetil CoA, ou pode ser utilizado para regenerar NAD⁺ em fermentação, dando origem a vários produtos.

Ademais, existem hipóteses sobre o mecanismo de ação desses microorganismos, podendo ocorrer através da competição e exclusão de sítios de adesão no trato intestinal do hospedeiro, estímulo da imunidade específica, diminuição da produção de aminas tóxicas, aumento da disponibilidade de aminoácidos nos locais de absorção, economia de energia e aumento da disponibilidade de vitaminas e enzimas (Telli, 2017).

MECANISMOS DE AÇÃO EM PEIXES

Nos últimos anos, tem-se intensificado o número de pesquisas voltadas ao desenvolvimento de alimentos funcionais e de substâncias químicas que promovam o aumento da eficiência alimentar e da taxa de crescimento dos peixes (Oliveira et al., 2002). Dentre os alimentos funcionais, ou seja, alimentos que fornecem a nutrição básica

e a melhora da saúde de peixes, encontram-se os probióticos, que são suplementos alimentares compostos de micro-organismos vivos que beneficiam a saúde do hospedeiro, pelo equilíbrio da microbiota intestinal. Nesse contexto, muitos produtos são preparados com *Bacillus subtilis*. Ademais, o uso desses produtos causam um efeito benéfico entre os microrganismos e seus hospedeiros.

Deste modo, a definição clássica de probiótico é dada como “organismos e substâncias de origem bacteriana que contribuem para o equilíbrio da flora intestinal, favorecendo seu crescimento e promovendo assim resistência às doenças”. Uma outra definição, diz que os probióticos são microrganismos naturais do intestino, que após dosagem oral estabilizam e colonizam o trato evitando a colonização de microrganismos patogênicos, assegurando, assim, melhor utilização dos alimentos (FERRAREZI, 2021).

Ademais, em relação a produção de probióticos para peixes, a microbiota natural que compõe o trato intestinal dos próprios animais é considerada promissora para seleção de cepas e para o desenvolvimento dos aditivos a partir dos processos de identificação, segurança e comprovação de sua eficácia no desenvolvimento dos peixes (RODRIGUES et al., 2021).

O mecanismo de ação dos probióticos pode ocorrer pela exclusão competitiva, pela competição por locais de adesão no aparelho digestório, por estímulo da imunidade, por maior produção de ácido lático, pela diminuição da produção de aminas tóxicas, pelo aumento da disponibilidade de aminoácidos nos locais de absorção, por economia de energia e por aumento da disponibilidade de vitaminas e enzimas (TACHIBANA et al., 2011).

Em relação aos benefícios do uso de *Bacillus subtilis* na piscicultura, podemos citar; desempenho produtivo dos animais, aumento da sobrevivência, imunidade, aumento da resistência a doenças, melhora da conversão alimentar aparente e taxa de eficiência proteica (RODRIGUES et al., 2021).

EFEITOS NA DIGESTIBILIDADE

Os *Bacillus* são capazes de produzir e secretar toxinas, enzimas bacteriolíticas, subprodutos de vias metabólicas primárias, substâncias antibióticas e bactericidas, podendo ser usadas para a prevenção e controle de infecções, sendo poucas espécies consideradas patogênicas. Sendo estas, bactérias alóctones, ou seja, não são originadas da microbiota gastrointestinal natural dos peixes. Nesse sentido, os probióticos compostos por *Bacillus* possuem uma grande capacidade de produzir esporos, além de se multiplicarem em uma taxa mais acelerada do que a taxa de passagem gastrointestinal, conferindo maior sobrevivência durante o trânsito intestinal.

Estes são classificados como microrganismos transitórios no interior do trato gastrointestinal pois, não apresentam a capacidade de se fixar ao epitélio intestinal, porém auxiliam na multiplicação e colonização de bactérias que produzem ácido lático. Outros

elementos que caracterizam o gênero *Bacillus* é a produção de enzimas hidrolíticas que ajudam a melhorar a utilização dos alimentos, como por exemplo, as proteases, amilases e glicosidases que quebram moléculas complexas dos alimentos e as transforma em nutrientes mais simples (Luegas, et al., 2015). De acordo com Gurung et al. (2013), estes compostos são absorvidos mais rapidamente no trato digestivo do animal aumentando a digestibilidade dos nutrientes ou podem ser utilizados por outras bactérias benéficas para estabelecer uma microbiota intestinal equilibrada.

Segundo Mello (2012) o uso deste probiótico em conjunto com *Bacillus cereus* em Tilápias-do-Nilo, interferiu significativamente no percentual de sobrevivência relativa; induziu o aumento da altura, altura total e largura das vilosidades, assim como na espessura das células epiteliais de revestimento e número de células calciformes da mucosa intestinal.

Os benefícios do uso de *Bacillus* na piscicultura refletem no desempenho produtivo dos animais, aumento da sobrevivência, imunidade, aumento da resistência a doenças, melhora da conversão alimentar aparente e taxa de eficiência proteica (RODRIGUES, et al., 2021), adaptando-se às especificidades químicas, físicas e bióticas do intestino do hospedeiro (Mello, 2013).

CONTROLE DE PATÓGENOS

Gatesoupe (1999) descreveu o efeito antagonista de probióticos sobre os patógenos, o estímulo do sistema imune e o aumento da resistência de várias espécies de peixes contra as doenças. No mesmo sentido, Raida et al. (2003), relataram maior taxa de sobrevivência de peixes expostos a diversos patógenos quando alimentados com dietas suplementadas com *Bacillus subtilis* e *B.licheniformis*. A inclusão dessas bactérias no intestino do hospedeiro é capaz de proporcionar uma competição pela colonização da mucosa intestinal, produzindo substâncias bacteriostáticas e estimulando a produção de bactérias benéficas que ocupam o lugar de bactérias que são prejudiciais ao hospedeiro, reforçando os mecanismos de defesa (SAAD, 2006).

Ademais, segundo Olmos (2014) espécies do gênero *B. subtilis* crescem de forma eficaz com fontes de carbono e nitrogênio de baixo custo, devido às enzimas que secretam. Estas enzimas, são muito eficientes, quebrando uma grande variedade de proteínas, carboidratos e lipídios de origem animal e vegetal, pois atuam na degradação dos detritos orgânicos acumulados das culturas de camarão e peixes, induzindo a biorremediação de lagoas e, conseqüentemente, a prevenção de doenças virais e bacterianas.

Segundo Aly et al. (2008), o potencial probiótico de *Bacillus subtilis* e *LactoBacillus acidophilus* na resposta imune e resistência em Tilápias do Nilo é significativa. Pois, os peixes alimentados com uma mistura de *Bacillus subtilis* e *LactoBacillus* apresentaram um aumento considerável nos níveis de proteção contra patógenos.

Diante disso, sua colonização no intestino é de suma importância, uma vez que esse órgão terá como função de digerir e absorver os alimentos, é fundamental para o equilíbrio osmótico, a regulação endócrina da digestão, o metabolismo e a imunidade (IBRAHEM., 2015).

RESPOSTA IMUNOLÓGICA

O sistema imune dos peixes é regulado por tecidos linfóides associados à mucosa (MALT), que são divididos em tecidos linfóides associados à brânquia (GIALT), tecido linfóide associado ao intestino (GALT) e tecido linfático associado à pele (SALT) (BOLZAN et al., 2022) . Além disso, diversos fatores podem influenciar no sistema imune e por consequência um aumento ou uma diminuição na proteção contra os patógenos. A fim de evitar estes fatores, os antibióticos têm sido utilizados de forma indiscriminada no tratamento de doenças bacterianas, profilaticamente e como promotor de crescimento na criação de peixes.

O uso de probióticos, tem sido amplamente usado na aquicultura, devido às características imunoestimulantes. Os efeitos do uso são a competição por sítios de adesão; produção de compostos antagonistas contra os patógenos; resistência à colonização e competição por nutrientes essenciais (NAKANDAKARE et al., 2018). Pois assim como a mucosa intestinal é uma barreira contra a entrada de agentes patogênicos, podemos encarar a microbiota intestinal como uma camada auxiliar para proteção, onde as bactérias probióticas agem competindo por nutrientes, espaço e produzindo compostos antimicrobianos no meio intestinal (FERRAREZIN, 2021).

O *B. subtilis* possui efeito bactericida e fungicida, aumenta as respostas imunes do hospedeiro e a resistência a doenças (Ramesh & Souissi, 2017). Estudos têm mostrado que muitas doenças intestinais causadas pela microbiota são frequentes na criação de peixes. Diante destes fatos, a utilização dos microrganismos probióticos deve ser encarada como uma medida de saúde preventiva, que estimula o sistema de defesa.

IMPACTO NO CRESCIMENTO E DESEMPENHO

Os benefícios do uso de *Bacillus* na piscicultura refletem no desempenho produtivo dos animais, aumento da sobrevivência, imunidade, aumento da resistência a doenças, melhora da conversão alimentar aparente e taxa de eficiência proteica (MERRIFIELD et al., 2010).

O uso de *B. subtilis* como probiótico em peixes promove a melhora no sistema imune, crescimento e a assimilação de nutrientes a partir da atividade das enzimas digestivas (Azevedo et al., 2016). Desse modo, as bactérias desse gênero quando incorporadas na alimentação dos peixes, são capazes de melhorar a digestibilidade das dietas pela ação dos *Bacillus* que atuam eficientemente na quebra de compostos como carboidratos, lipídios e proteínas em unidades menores, justamente pela produção de enzimas catalíticas específicas (Martens et al., 2002).

Além do mais, as mesmas auxiliam na síntese de algumas vitaminas (K e B12), e possuem uma grande capacidade de produção da enzima fitase, que promove a redução de fatores antinutricionais resultando no melhoramento do aproveitamento do alimento, refletindo diretamente no aumento do crescimento dos peixes. Além disso, são consideradas bactérias biorremediadoras, pois contribuem para a melhora da qualidade da água, promovendo a diminuição dos compostos nitrogenados tóxicos e matéria orgânica no ambiente de cultivo (Devaraja et al., 2013). Em tambaqui *Colossoma macropomum*, o emprego dos probióticos *B. subtilis* e o *S. cerevisiae* influenciou no crescimento e composição centesimal, proporcionando ainda aos peixes uma maior resistência a doenças (Azevedo et al., 2016).

Ademais, o efeito do uso de probiótico *B. subtilis* na viabilidade e desenvolvimento de embriões, no melhor crescimento, sobrevivência e redução da deformidade no lote tem sido demonstrado para várias espécies ornamentais (Ghosh et al., 2007). Em estudo realizado por MELLO et al. (2013) foi observado que o incremento de 4.0g kg⁻¹ de *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* na dieta de juvenis de tilápia, promoveu um maior percentual de sobrevivência relativa no grupo tratado de (89,47%) em relação ao grupo controle (76,61%), ocasionados pelo aumento da altura e largura das vilosidades, o que aumentou a área de absorção.

Portanto, o uso de probióticos na piscicultura pode ser considerado uma estratégia sustentável e promissora para a produção de proteína animal de alta qualidade em termos de sanidade e segurança alimentar (IBRAHEM, 2015).

ADAPTAÇÃO A CONDIÇÕES AMBIENTAIS VARIÁVEIS

Alguns probióticos na aquicultura são importantes, para a manutenção das condições ambientais favoráveis. Pois, quando utilizados como aditivos na água, contribuem para a decomposição de matéria orgânica além de controlar os níveis de fósforo, nitrito e amônia.

Nesse sentido, é importante ressaltar que os microrganismos presentes no trato gastrointestinal dos peixes são demasiadamente dependentes das condições ambientais externas, devido ao fluxo intenso de água através do seu trato digestivo. Assim, diferentes variações em parâmetros físico-químicos como, por exemplo, temperatura e salinidade, pH, dentre outras, podem alterar a composição dessa microbiota interna.

Com vista nisso, pode-se destacar a utilização de *Bacillus subtilis*, pois segundo El-Haroun et al. (2006) essas bactérias podem ser liofilizadas e, portanto, são capazes de sobreviver a altas temperaturas como por exemplo, após o processo de peletização, não sofrem efeito deletério quando armazenados em temperatura ambiente e resistem à baixo pH, podendo chegar intactos ao intestino delgado.

Em estudo realizado por Telli et al. (2014), observou-se que as tilápias-do-nylo alimentadas com inclusão de *B. subtilis*, quando criadas durante 84 dias em elevada

densidade de estocagem, mantiveram os valores de lisozima pareados com os tratamentos em baixa densidade, o que não ocorreu com o tratamento controle mostrando que este probiótico (*B. subtilis*) foi eficaz em manter a estabilidade da lisozima sob uma condição de estresse, não a alterando em condições normais.

CONTRIBUIÇÕES PARA A MELHORIA DA QUALIDADE DA ÁGUA

O gênero *Bacillus* têm sido largamente utilizado como probiótico, pois além da maior facilidade de produção em larga escala, a sua inclusão nas dietas torna-se facilitada pela capacidade de esporulação das bactérias por meio da germinação de esporos (Vieira, 2010).

Os probióticos do gênero *Bacillus* podem agir positivamente sobre os organismos cultivados, aumentando a sobrevivência e o crescimento, estimulando o sistema digestivo e o sistema imunológico, além de contribuir na melhoria da qualidade da água em termos de biorremediação (NAYAK, 2010)

Carvalho et al. (2009) em testes de eficácia adicionando uma combinação de microrganismos probióticos (*Bacillus subtilis*, *B. coagulans* e *Saccharomyces cerevisiae*) na água para transporte de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Verificaram que houve menor concentração de amônia nos tanques onde os peixes foram transportados e conseqüentemente, diminuíram os parâmetros indicadores de estresse sanguíneo nos peixes.

Quanto ao seu efeito no meio aquático, *Bacillus sp.* mostra-se capaz de remover poluentes das águas residuais, de forma eficaz e com baixo custo, eliminando até mesmo metais pesados, nitrogênio, fósforo e compostos sulfurosos (WU et al., 2012).

O *B. subtilis* se encontra em todo ambiente, sobretudo no solo, mostrando forte ação bactericida e fungicida e é um ingrediente comum nas misturas de probióticos recomendadas para o uso em animais aquáticos. Nesse contexto, um dos principais objetivos da sua utilização como probiótico é a melhoria da qualidade da água, pela influência sobre a composição das populações microbianas, com redução no número de patógenos presentes no meio (WANG et al., 1999).

Embora tenha-se o conhecimento de que o modo de administração dos probióticos é mais eficaz pela alimentação, eles também podem ser empregados de uso direto na água de cultivo, fornecendo benefícios não somente aos animais, mas também de forma simultânea ao ambiente (FONSECA et al., 2020).

DESAFIOS NA APLICAÇÃO PRÁTICA DE *BACILLUS SUBTILIS* NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES

No âmbito da nutrição muitos estudos têm sido realizados para conhecer as necessidades nutricionais dos peixes para melhorar seu desempenho. Azevedo et al. (2015), avaliou a viabilidade econômica da adição de probiótico composto por *B. subtilis* em ração de peixe antes do processo de extrusão, demonstrando sua eficiência de atuação e sem afetar significativamente o custo total da alimentação dos peixes, resultando em índices de eficiência econômica em média 14,92% maior em comparação com a dieta sem o uso do probiótico.

No entanto, Sousa e Ferreira (2022) destacam que os microrganismos utilizados como probióticos na aquicultura precisam ser seguros, não apenas para o animal cultivado e o meio em que vivem, mas também para os seres humanos. Além da colonização no trato digestivo e produção dos efeitos benéficos nos hospedeiros, diversas outras características precisam ser analisadas, com por exemplo: não possuir genes de resistência a antibióticos, possuir propriedades antimutagênicas e anticancerígenas, serem capazes de resistir às enzimas do trato digestório e a bile além do processo de inoculação na ração, e ao tempo de armazenamento e transporte, independentemente se for feito o uso de cepas esporuladas ou não esporuladas (MOURINO et al., 2008).

É evidenciar que a confecção destes na própria fazenda depende do mínimo de estrutura e conhecimento para se trabalhar com técnicas de microbiologia, exigindo alta capacitação dos profissionais, dificultando a utilização desta tecnologia nas propriedades, principalmente em pequenos criadouros (MOURINO et al., 2008).

Sobretudo, é inquestionável a necessidade que o profissional possua conhecimento da espécie cultivada, bem como os seus hábitos alimentares, sua fisiologia e ciclo biológico, no intuito de selecionar e implementar o probiótico mais adequado para cada produção, sempre objetivando o aumento da produtividade e da sanidade do cultivo (SOUZA e FERREIRAS, 2022).

Por tanto, embora os probióticos possuam uma série de benefícios, ainda se encontram algumas barreiras que dificultam seu uso, pois existem muitos cuidados que devem ser levados em consideração para uma utilização segura e sem prejuízos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de probiótico composto por *Bacillus subtilis* na nutrição de peixes tem-se mostrado eficiente, pois trouxe melhorias significativas à saúde intestinal, afetando positivamente as enzimas digestivas, capacidade anti-inflamatória e imunológica. Nesse sentido, essa prática se torna uma ferramenta viável para a piscicultura, pois além de não aumentar significativamente o custo total da alimentação dos peixes, traz benefícios tanto para a saúde do animal, quanto para a manutenção e melhoria do meio aquático.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Kessia Caroline Souza et al. **Bacillus subtilis: uma versátil ferramenta biotecnológica.** Scientia Amazonia, v. 7, n. 2, p. 15-23, 2018.
- ALY, S. M.; AHMED, Y. A.; GHAREEB, A. A.; MOHAMED, M. F. **Studies on Bacillus subtilis and LactoBacillus acidophilus, as potential probiotics, on the immune response and resistance of Tilapia nilotica (Oreochromis niloticus) to challenge infections.** Fish and Shellfish Immunology, v.25, p. 128-136, 2008.
- AZEVEDO, R. V., FOSSE FILHO, J. C., CARDOSO, L. D., MATTOS, D. C., VIDAL JÚNIOR, M. V., ANDRADE, D. R. (2015). **Economic evaluation of prebiotics, probiotics and symbiotics in juvenile Nile tilapia.** Revista Ciência Agronômica, 46, (1), 72-79.
- AZEVEDO, R. V., FOSSE FILHO, J. C., PEREIRA, S. L., CARDOSO, L. D., JÚNIOR, M. V. V.; ANDRADE, D. R. (2016). **Suplementação com prebiótico, probiótico e simbiótico para juvenis de tambaqui a duas densidades de estocagem.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, 51(1), 9-16.
- BOLZAN, Raphael Pires et al. **Rações com aditivos enzimáticos para produção de peixes.** TÓPICOS ESPECIAIS EM CIÊNCIA ANIMAL XI, p. 164, 2022.
- CARVALHO, E. S.; GOMES, L. C.; BRANDÃO, F. R.; CRESCÊNCIO, R.; CHAGAS, E. C.; ANSELMO, A. A. S. **Uso do probiótico Efnol®L durante o transporte de tambaqui (Colossoma macropomum).** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 61, n. 6, p. 1322-1327, 2009.
- CRUZ, P. M.; IBANEZ, A. L.; MONROI-HERMOSILLO, O. A.; SAAD, H. C. **Use of probiotics in aquaculture.** International Scholar Research Notes Microbiol, 2012.
- DE SOUZA, Fernanda Lopes; FERREIRA, Milena Wolff. **Inclusão de probióticos na piscicultura para o estímulo à resposta imune inata e enriquecimento fisiológico–Revisão de literatura: Inclusion of probiotics in pisciculture to stimulate the innate immune response and physiological enrichment-Literature review.** Brazilian Journal of Development, v. 8, n. 11, p. 71766-71775, 2022.
- DEVARAJA, T., BANERJEE, S., YUSOFF, F., SHARIFF, M., KHATOONA, H. (2013) **holistic approach for selection of Bacillus spp. as a bioremediator for shrimp postlarvae culture** Turk. J. Biol., 37, 92-100.
- EL-HAROON, E.R.; GODA, A.M.A-S; CHOWDHURY, M.A.K. **Effect of dietary probiótico Biogen® supplementation as a growth prometer on growth performance and feed utilization of Nile tilapia Oreochromis niloticus (L.).** Aquac. Res., v.37, p. 1473-1480, 2006.
- FERRAREZI, José Victor Safadi et al. **Efeitos da suplementação dietária com Bacillus subtilis e Bacillus licheniformis na microbiota e saúde intestinal da tilápia-do-nylo.** 2021.
- FONSECA, J.R.S.; CARVALHO, K.V.; SILVA, A.F.C.; FREITAS, J.M.A.; SIGNOR, A. **effects of bac-trat® probiotic complex on growth, hematological and intestinal parameters of Nile tilapia, reared at low temperatures.** Boletim do Instituto de Pesca, v.46, n. 2, 2020.
- GATESOUBE, F.J., (1999). **The use of probiotics in aquaculture.** Aquaculture. 180, 147–165.
- GHOSH, S., SINHA, A., SAHU, C. (2007). **Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish.** Aquaculture Research, 38(5), 518-526.

Gurung, N.; Ray, S.; Bose, S. and Rai, V. 2013. **A broader view: Microbial enzymes and their relevance in industries, medicine, and beyond.** Bio-Med Res Int, 2013: 329121.

IBRAHEM, M. D. **Evolution of probiotics in aquatic world: potential effects, the current status in Egypt and recent prospectives.** Journal of advanced research, 6(6): 765-791, 2015.

LANNA FILHO, Roberto; FERRO, Henrique Monteiro; PINHO, RSC de. **Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*.** Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas, v. 4, n. 2, p. 12-20, 2010.

LEE, N.-K., KIM, S.-Y., CHOI, S.-Y., & PAIK, H.-D **Probiotic *Bacillus subtilis* KU201 having antifungal and antimicrobial properties isolated from kimchi.** Food Science and Biotechnology, 22: 1–5, 2013.

LEI, X.; PIAO, X.; RU, Y.; ZHANG, H.; PÉRON, A.; ZHANG, H. **Effect of *Bacillus amyloliquefaciens*-based Direct-fed Microbial on Performance, Nutrient Utilization, Intestinal Morphology and Cecal Microflora in Broiler Chickens.** Asian-Australas J Anim Sci, v. 28(2), p. 239-46. 2015. doi: 10.5713/ajas.14.033.

LUEGAS, J. A. P. et al. **Efeito da adição de probióticos na dieta sobre digestibilidade ileal da matéria seca e da proteína de frangos de corte.** Archivos de zootecnia, v. 64, n. 247, p. 1-5, 2015.

MARTENS J.H., BARG H., WARREN M.J., JAHN D. (2002). **Microbial production of vitamin B12.** Appl Microbiol Biotechnol., 58, 275–285.

MELLO, H. (2012). ***Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* na suplementação dietária de juvenis de Tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e seu efeito probiótico.** Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 57p.

MELLO, H. DE; JULIETA R. E. DE M.; NIZA, I. G.; MORAES, F. R. DE; OZÓRIO, R.O.A.; SHIMADA, M.T.; ENGRACIA FILHO, J.R.; CLAUDIANO, G. S. **Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo.** Pesquisa Veterinária Brasileira, 33(6),724-730, 2013.

Mello, Hurzana de. ***Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* na suplementação dietária de juvenis de Tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e seu efeito probiótico** / Hurzana de Mello. – Jaboticabal, 2012.

MERRIFIELD D. L., DIMITROGLOU A., BRADLEY G., BAKER R. T. M., DAVIES S. J. (2010). Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). I. **Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria.** Aquaculture Nutrition, 16, 504-510.

MOURINO, J.L.P. et al. Probióticos na Aquicultura. In: SILVA-SOUZA et al. (eds). **Patologia e sanidade de organismos aquáticos.** Maringá-PR, p. 404, 2008.

NAYAK, S. K. **Probiotics and immunity: a fish perspective.** Fish and Shellfish Immunology, v. 29, n. 1, p. 2-14, 2010.

Oliveira, M.N.; Sivieri, K.; Alegro J.H.A. & Saad, S.M.I. (2002). **Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 38(1):1-21.

OLMOS, Jorge et al. ***Bacillus subtilis* a potential probiotic bacterium to formulate functional feeds for aquaculture.** J MicrobBiochem Technol, v. 6, n. 7, p. 361-365, 2014.

- RAIDA, M.K., LARSEN, J.L., NIELSEN, M.E., BUCHMANN, K. (2003). **Enhanced resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* (BioPlus2B).** Journal of Fish Diseases 26, 495–498.
- RAMESH, D., & SOUISSI, S. (2017). **Effects of potential probiotic *Bacillus subtilis* KADR1 and its subcellular components on immune responses and disease resistance in *Labeo rohita*.** Aquaculture Research, 49(1), 367–377.
- RAMOS, H.C.; HOFFMANN, T.; MARINO, M.; NEDJARI, H.; PRESECAN-SIEDEL, E.; DREESEN, O.; GLASER, P.; JAHN, D. **Fermentative metabolism of *Bacillus subtilis*: physiology and regulation of gene expression.** Journal of Bacteriology, 182(182), 3072–3080, 2000.
- RODRIGUES, Mariana Lins et al. **Suplementação de probiótico (*Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*) em dietas para *Rhamdia quelen* e seus efeitos no desenvolvimento reprodutivo e zootécnico.** 2021.
- SAAD, S. M. I. **Probióticos e prebióticos: o estado da arte.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas; vol. 42, n. 1, jan./mar. 2006.
- SANKAR, H., PHILIP, B., PHILIP, R., & SINGH, I. S. B. (2016). **Effect of probiotics on digestive enzyme activities and growth of cichlids, *Etroplus suratensis* (Pearl spot) and *Oreochromis mossambicus* (Tilapia).** Aquaculture Nutrition, 23(4), 852–864.
- TACHIBANA, Leonardo et al. **Probiótico na alimentação da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), durante a inversão sexual: desempenho zootécnico e recuperação da bactéria probiótica intestinal.** Bioikos–Título não-corrente, v. 25, n. 1, 2011.
- TELLI, G. S.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; DIAS, D.C.; SUSSEL, F.R.; ISHIKAWA, C.M.; TACHIBANA, L. 2014. **Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and nonspecific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities.** Fish & Shellfish Immunology, 39(2): 305-311.
- TELLI, Guilherme Silveira. ***Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* na alimentação de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*: desempenho zootécnico, sanidade e modulação da microbiota intestinal.** (2017).
- VIEIRA, F.N. (2010). **Seleção e utilização de bactérias probióticas na piscicultura marinha.** Tese de Doutorado no Centro de Ciência Agrária da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- WANG, X-H.; LI, J.; JI, W-S.; XU, H-S. Application of probiotic in aquicultura, 1999.
- WANG, X-H.; LI, J.; JI, W-S.; XU, H-S. **Application of probiotic in aquicultura,** 1999.
- WU, Y.; LI, T.; YANG, L. **Mechanisms of removing pollutants from aqueous solutions by microorganisms and their aggregates: a review.** Bioresource Technology, v. 107, p. 10-18, 2012.
- ZHOU. X.; TIAN. Z.; WANG. Y.; LI, W. (2009). **Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response.** Fish Physiology Biochemistry, 1742:1573-1586.